Algunos aspectos de la eficiencia reproductiva correlacionados con el semental equino

Fernando Andrade S.*
Igor Frederico C.**
Jair Pérez O.***
Liliana Chacón J.****
Sergio Arias Serrato****

RESUMEN

La eficiencia reproductiva del criadero es dependiente de la fertilidad de los sementales. Normalmente, se tiende a atribuir a la hembra la responsabilidad de los bajos resultados en la eficiencia reproductiva. Sin embargo, la evaluación del macho algunas veces no se realiza frente a las bajas tasas de concepción. Se debe atribuir mayor valor a las variables relacionadas con el garañón, ya que pueden contribuir en el aumento en las tasas de fertilidad del criadero, en las que se destaca la calidad espermática. Actualmente, además de los análisis clásicos, se emplean exámenes más minuciosos como la identificación de factores de crecimiento locales (IGF-I) en circulación sanguínea, la razón colesterol: fosfolípidos, la integridad de la membrana plasmática del espermatozoide y las moléculas receptoras de la zona pelúcida del oocito. Con esto se busca mayor poder predictivo de la fertilidad del garañón.

Palabras clave: eficiencia reproductiva, fertilidad del garañón, génesis infertilidad.

SOME ASPECTS OF REPRODUCTIVE EFFICIENCY RELATED TO STALLIONS

ABSTRACT

The breeding place's reproductive efficiency depends on the fertility of the stallions. Usually the female is attributed the responsibility for low reproductive efficiency results. However, sometimes the male is not evaluated after low conception rates. More value should be given to the variables related to the stallion, as they may help increase the fertility rates of the breeding place, where sperm quality is particularly important. Currently, in addition to the classic analysis, more thorough tests are used, such as the identification of local growth factors (IGF-I) in the blood flow due to cholesterol: phospholipids, the sperm plasma membrane's integrity and the receiving molecules of the oocyte's pellucid zone. The purpose of this paper is to achieve a stronger predictive power of the stallion's fertility.

Keywords: reproductive efficiency, stallion's fertility, infertility genesis.

Recibido: 23 de junio del 2011 $\,\mid\,\,$ Aprobado: 30 de julio del 2011

^{*} MSc, PhD, Universidade Estadual de Maranhão, Bolsista PNPD, São Luis, Brasil. Correo electrónico: femedvet@yahoo.com.br.

^{**} DVsC, MSc, Cornell University, Theriogenology, Ithaca, USA. Correo electrónico: canissoif@yahoo.com.br.

^{***} MSc, PhD, Universidad de La Salle, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Bogotá, Colombia. Correo electrónico: jaiperez@unisalle.edu.co.

^{****} MSc, PhD, Universidad de La Salle, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Bogotá, Colombia. Correo electrónico: lchacon@unisalle.edu.co.

^{*****} Esp. MSc, PhD, Universidad de La Salle, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Bogotá, Colombia. Correo electrónico: searias@unisalle.edu.co.

INTRODUCCIÓN

El garañón representa, en la cría ecuestre, el animal de mayor valor económico y de mayor responsabilidad en el mejoramiento genético del criadero por el hecho de ser el único exigido para la cobertura de un gran número de yeguas. De esta forma, la eficiencia reproductiva del criadero depende de la fertilidad del garañón, con independencia de la forma de utilización del semen, sea por la implementación de monta natural o por la inseminación artificial con semen fresco, refrigerado o congelado (Palhares, 1997; Van Buiten, Westers y Colenbrander, 2003).

La especie equina posee los índices más bajos de fertilidad en comparación con las demás especies domésticas (Ginther, Garcia y Bergfelt, 1985), existiendo una tendencia a atribuir la responsabilidad a la hembra equina (Souza, 2007). De acuerdo con Amann (2006), la evaluación de la fertilidad en equinos ha sido realizada de forma incorrecta, principalmente en la manera en la cual los datos son colectados y analizados. Así, una evaluación con más criterio se constituye cuando el macho es excluido de los datos, disminuyendo la fuente de variación de los índices (Fernandes y Pimentel, 2002; Murchie, 2005).

Los métodos clásicos de evaluación de semen se basan en la concentración espermática, la motilidad progresiva, el estado del acrosoma, el porcentaje de células viables y la morfología espermática (Kenney et ál., 1983; Amann, 2006). Aun así, estos métodos han sido insuficientes para la predicción exacta de la fertilidad, ya que solamente muestras de baja calidad pueden ser detectadas (Gadea, 2005). El objetivo de esta revisión de literatura es describir los principales aspectos que pueden auxiliar en la predicción de la fertilidad del garañón.

REVISIÓN DE LITERATURA

Considerando las diferencias de manejo a las cuales los animales están sometidos, en el estudio de la relación entre la fertilidad y la calidad seminal en el equino; los índices más elevados de concepción y, en consecuencia, el mejor índice de eficiencia reproductiva, se pueden esperar mayores porcentajes de espermatozoides normales en el eyaculado (Fernandes y Pimentel, 2002).

A pesar de no encontrarse estudios que reporten parámetros de calidad seminal que sean realmente confiables y correlacionados con una certera predicción de fertilidad (Kenney et ál., 1983), se ha descrito una correlación positiva entre el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales y la tasa de concepción (Parkinson, 2004).

Entre las variables relacionadas con el garañón que pueden influenciar la tasa de fertilidad del criadero la calidad espermática es sobresaliente, ya que el espermatozoide sufre diferentes procesos en el tracto genital femenino (reacción acrosómica, capacitación e hiperactivación espermática) que determinan la fecundación y la manutención del espermatozoide en el aparato genital de la hembra (Troedsson, Liu y Crabo, 1998).

En general, garañones con menos de tres o más de catorce años presentan baja calidad seminal como consecuencia de la variación fisiológica en el funcionamiento de los túbulos seminíferos (Chenier, Estrada, Koenig et ál., 2007). Los testículos del garañón se desarrollan hasta aproximadamente los seis años de edad, fase que coincide con la estabilización de la producción espermática. Así, los garañones jóvenes presentan menor producción de espermatozoides totales en comparación con los adultos. Sin embargo, los garañones gerontes son más propensos a producir mayores porcentajes de espermatozoides con anormalidades morfológicas, en comparación con los

animales adultos jóvenes, influenciando la tasa de gestación por ciclo, la cual se ha demostrado que es aproximadamente un 8% menor en los jóvenes que en los animales con edades entre los tres y catorce años (Van Buiten, Westers y Colenbrander, 2003). La disminución en la calidad del semen de garañones adultos viejos puede indicar la existencia de una edad crítica en la que algunos producen elevado número de espermatozoides anormales a consecuencia de alteraciones en el ciclo del epitelio seminífero, cuya duración normal es de 56 a 62 días (Dowsett y Knott, 1996). Se espera una disminución en la fertilidad de grañones con edad superior a los diez años, pues a los catorce años algunos animales podrían alcanzar la senilidad reproductiva y por esta causa deberían ser sometidos a monitoreo de la calidad seminal, la cantidad de saltos, las frecuencias y los intervalos de recolectas. Se debe resaltar que existen reproductores que en la faja etaria descrita presentan producción normal de espermatozoides (Dowsett y Knott, 1996).

El envejecimiento paterno, semejante a lo que ocurre con el envejecimiento de la hembra (ovocito de baja calidad), puede acarrear un número mayor de aberraciones cromosómicas y desórdenes genéticos en las células espermáticas (Hermann et ál., 2000). Aunque no exista correlación en las aberraciones numéricas, la frecuencia de estructuras cromosómicas anormales en los espermatozoides aumenta con la edad. En seres humanos, ese valor pasa del 2,8% (20-24 años) al 13,6% en hombres por encima de los 45 años (Murray y Meacham, 1993).

El aumento en la frecuencia de anormalidades cromosómicas estructurales relacionadas con la edad puede ser secundario con respecto a la continua división celular, toda vez que la espermatogénesis es un proceso sin interrupciones, que se inicia durante la pubertad y que se mantiene hasta la senescencia reproductiva en elevado número de réplicas y divisiones del ADN durante este periodo. En humanos adultos ocurren veintitrés divisiones celulares durante al espermatogénesis a lo largo del año; de esta forma, la espermatogonia de un hombre de veintiocho años habrá tenido aproximadamente 380 mitosis y réplicas, con lo que el riesgo de errores de transcripción del ADN aumenta con el avance de los años (Plas et ál., 2000).

Los efectos del envejecimiento sobre la fertilidad en reproductores más viejos no son todavía bien estudiados, pero incluyen la reducción en la producción espermática asociada a la degeneración progresiva testicular con potencial compromiso de la líbido y la capacidad de monta (McDonnell, 2005).

Los resultados de investigaciones recientes sugieren que la causa de falla reproductiva en estos animales se inicia precozmente en el testículo, difundiéndose en dos áreas del cerebro involucradas en la regulación de la reproducción, eje neuroendocrino (hipotálamo, hipófisis y gónada); a nivel hipotalámico, en la región productora de GnRH; y en la adenohipófisis, en la región productora de gonadotrofinas (Roser, 2000).

La espermatogénesis es dependiente de la anormalidad funcional del eje hipotálamo-hipofisiario-testicular, que envuelve mecanismos endocrinos clásicos y modulación paracrina y autocrina (Chenier, Estrada y Koenig, 2007).

Recientemente se ha postulado que el testículo del reproductor es modulado por los sistemas autocrino, paracrino y endocrino. Sin embargo, son necesarios más estudios para determinar el envolvimiento de los factores locales que permiten la interacción célula a célula, corroborando esa hipótesis (Roser, 2001).

En otras especies, los estudios indican que la función reproductiva normal depende de los factores de crecimiento locales, como el IGF-I (factor de crecimiento semejante a la insulina tipo I), además de las gonadotropinas, esteroides, vasopresina, oxitocina, interleuquina I, entre otros. Se considera que los valores

de IGF-I varían con la fertilidad en algunas especies, inclusive la humana, siendo posible utilizarlo como marcador de declinación de la fertilidad. No existen estudios que demuestren esta relación en el garañón, siendo en esta especie más correlacionada con el inicio de la pubertad (Hess y Rose, 2001), pero ha sido demostrada la producción de IGF-I en el testículo de reproductores proveniente de las células de Leydig y Sertoli (Roser, 2001).

La predicción de fertilidad en garañones es uno de los grandes problemas de la teriogenología, principalmente en animales subfértiles que presentan un número suficiente de células con motilidad progresiva y morfológicamente normales, pero incapaces de establecer tasas de gestación aceptables (Almahbobi et ál., 1988). El diagnóstico de las causas de infertilidad es complejo y se torna en un desafío para establecer el origen, debido a que en condiciones normales los criadores no tienen el hábito de llevar registros de datos reproductivos, no los toman correctamente o los reproductores son vendidos, alquilados o prestados a otros criadores, conduciendo a la pérdida de los datos y obteniéndose, en la mayoría de criaderos, pocos bancos de datos que registren de manera ordenada y sistemática la eficiencia reproductiva del criadero (Murchie, 2005).

Actualmente las investigaciones buscan encontrar factores que puedan servir como marcadores diagnósticos. Entre los posibles propuestos se sospecha que la alteración de la relación entre colesterol y fosfolípidos en la membrana plasmática puede impedir la fecundación del ovocito, por interferir en el proceso de capacitación espermática y en la reacción acrosómica. Aparentemente, la elevación de la relación colesterol-fosfolípidos en la membrana plasmática y en el plasma seminal promueve fallas de reacción acrosómica en garañones, por causar reacciones bioquímicas que envuelven los lípidos de membrana y consecuentemente alteran la permeabilidad y fluidez de esta (Brinsko et ál., 2006).

Además del cambio en la composición lipídica de la membrana, los espermatozoides de reproductores subfértiles pueden diferir en sus propiedades de superficie con relación a las moléculas receptoras de la zona pelúcida o en cuanto a la transducción de la cascada de eventos relacionada con los receptores, siendo que esas anomalías pueden ser intrínsecas a una subpoblación espermática o a todo un eyaculado. Su origen puede hallarse en la espermatogénesis, en la maduración epidídimaria o en la alteración de la composición del fluido seminal (Meyers et ál., 1996).

La función de varios de los componentes proteicos del plasma seminal es todavía poco entendida (Kareskoski y Katila, 2008). Se cree que las proteínas asociadas a la fertilidad pueden estar localizadas en el plasma seminal y sus respectivas concentraciones pueden estar relacionadas con la fertilidad; sin embargo, algunos estudios sugieren que hay una posible relación entre esas proteínas plasmáticas seminales y la fertilidad en garañones (Brandon et ál., 1999).

Los parámetros convencionales utilizados en la evaluación espermática, como el número total de espermatozoides, la motilidad espermática total y progresiva, el vigor espermático y el porcentaje de morfología espermática normal, se han mostrado limitados en cuanto a la capacidad de estimar el potencial de fertilidad del semen (Pillet et ál., 2008). Pruebas realizadas de forma aislada han resultado ineficientes debido a que los espermatozoides se presentan como una célula con múltiples compartimientos subcelulares y con diferentes funciones (Graham, 1996). La mayoría de las pruebas para semen equino evalúan solamente una o pocas funciones de la célula espermática; asociado a esto, apenas una pequeña muestra es evaluada en cada momento y no gran parte de la totalidad espermática (Santos, 2003).

Además de las pruebas convencionales empleadas para evaluación del semen, se han desarrollado nuevas pruebas funcionales para evaluar el estado acrosomal,

mitocondrial, la capacitación espermática y la integridad del ADN (Santos, 2007).

Madrid-Bury et ál. (2005) propusieron nuevas técnicas para la evaluación de la estructura de la cromatina, en las cuales su estabilidad estructural es evaluada por el tratamiento de los espermatozoides con agentes quelantes como el EDTA. También se han desarrollado pruebas para evaluar la integridad funcional de las membranas plasmáticas por Melo y Henry (1999), con el objetivo de evaluar específicamente la funcionalidad de la membrana plasmática de la cola de los espermatozoides. Esta prueba se basa en el hecho de que el transporte de fluidos a través de la membrana plasmática intacta de los espermatozoides ocurre bajo condiciones hiposmóticas hasta que el equilibrio entre los compartimientos sea alcanzado (Jeyendran, Van der Ven y Zaneveld, 1992; Neild et ál., 2000).

Entre las técnicas nuevas utilizadas se destacan las sondas fluorescentes, según el método descrito por Harrison y Vickers (1990) en conejos, con dos fluorescemos diacetato de carboxifluorescema (CFDA) y yoduro de propidio (IP), siendo adaptados y empleados en la rutina de acuerdo con los patrones establecidos por varios equipos de investigación en el mundo. Su uso ha permitido la evaluación detallada del ADN, la integridad estructural de la membrana plasmática y acrosomal, así como la diferenciación de estructuras intactas o lesionadas.

CONSIDERACIONES FINALES

La reproducción requiere la finalización de una compleja cascada de eventos del macho y la hembra. Por parte del garañón, los pasos clave para un adecuado proceso reproductivo son la espermatogénesis, la espermiogénesis y la maduración espermática. Así, un buen entendimiento de los mecanismos endocrinos y fisiológicos —acompañado de un diagnóstico clínico andrológico previo, sistemático y organizado— es necesario para determinar los problemas de fertilidad y

subfertilidad en el garañón. De esta forma se pueden establecer diagnósticos diferenciales oportunos para mejorar la eficiencia reproductiva de los criaderos equinos, propiciando posibles incrementos en las tasas de concepción.

REFERENCIAS

- Almahbobi, G. et ál. (1988). Age-related morphological and functional changes in the leydig cells of horse. *Biology of Reproduction*, 38(3), 653-665.
- Amann, R.P. (2006). The fertility dilemma: perception vs. actuality. *Equine Veterinary Education*, 18(3), 159-164.
- Brandon, C.I. et ál. (1999). Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of equine seminal plasma proteins and their correlation with fertility. *Theriogenology*, *52*(*5*), 363-373.
- Brinsko, S.P. et ál. (2006). Cholesterol-to-phospholipid ratio in whole sperm and seminal plasma from fertile stallions and stallions with unexplained subfertility.

 Animal Reproduction Science. Recuperado el 23 de noviembre del 2010, de http://www.sciencedirect.com/science
- Chenier, T.S.; Estrada, A.T. & Koenig, J.B. (2007). Theriogenology question of the month. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 230(10), 1469-1472.
- Dowsett, K.F. & Knott, L.M. (1996). The influence of age and breed on stallion semen. *Theriogenology*, 46(3), 397-412.
- Fernandes, C.E. & Pimentel, C.A. (2002). Características seminais e fertilidade em garanhões. *Ciência Rural*, 32(5), 829-834.
- Gadea, J. (2005). Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility. *Theriogenology*, 63(2), 431-444.
- Ginther, O.J.; Garcia, M.C. & Bergfelt, D.R. (1985). Embryonic loss in mares: Pregnancy rate, length of interovulatory intervals and progesterone concentrations associated with loss during days 11 to 15. *Theriogenology*, 24(4), 409-417.

- Graham, J.K. (1996). Cryopreservation of stallion semen and its relation to fertility. *Veterinary Clinic North American Equine Practice*, 12, 119-130.
- Harrison, R.A. & Vickers, S.E. (1990). Use of fluorescent probes to asses membrane integrity in mammalian spermatozoa. *Journal of Reproduction and Fertility*, 88, 343-352.
- Hermann, M. et ál. (2000). Aging of the male reproductive system. *Experimental Gerontology*, 35(9), 1267-1279.
- Hess, M.F. & Rose, J.F. (2001). The effects of age, season and fertility status on plasma and intratesticular insulin-like growth factor I concentration in stallions. *Theriogenology*, 56(5), 723-733.
- Kenney, R.M. et ál. (1983). Manual for breending soudness examination of stallions. *Journal Society of The*riogenology, 3, 100.
- Jeyendran, R.S.; Van der Ven, H.H. & Zaneveld, L.J.D. (1992). The hypoosmotic swelling test: An update. Archive of Andrology, 29, 105-116.
- Kareskoski, M. & Katila, T. (2008). Components of stallion seminal plasma and the effects of seminal plasma on sperm longevity. *Animal Reproduction Science*, 107(3), 249-256.
- Madrid-Bury, N. et ál. (2005). Relationship between non-return rate and chromatin condensation of deep frozen bull spermatozoa. *Theriogenology*, 64(2), 232-240.
- McDonnell, S.M. (2005). Techniques for extending the breeding career of aging and disabled stallions. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 4(3), 269-276.
- Melo, M.I.V. & Henry, M. (1999). Teste hiposmótico na avaliação do sêmen equino. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 51, 77-78.
- Meyers, S.A. et ál. (1996). Zona pellucida binding and zona-induced acrosome reactions in horse spermatozoa: Comparisons between fertile and subfertile stallions. *Theriogenology*, 46(7), 1268-1277.
- Murchie, T. (2005, enero). Stallion infertility. En *Proceeding of the NAVC North American Veterinary Conference Jan. 8-12, 2005.* (pp. 267-269). Orlando, Florida. Recuperado el 23 de julio del 2008, de http://www.ivis.org/proceedings/navc/2005/LA/117.pdf?LA=1

- Murray, M.J. & Meacham, R.B. (1993). The effect of age on male reproductive function. *World Journal of Urology*, 11(2), 137-140.
- Neild, D.M. et ál. (2000). The HOS test and its relationship to fertility in the stallion. *Andrology*, 32, 351-355.
- Palhares, M.S. (1997). Adequação de um novo container para o transporte do sêmen eqüino diluído e resfriado: I. Características termodinâmicas e funcionais; II. Desempenho reprodutivo das éguas inseminadas. Tesis de doctorado. Universidade Federal de Minas Gerais UFMG. Belo Horizonte. Brasil.
- Parkinson, T.J. (2004). Evaluation of fertility and infertility in natural service bulls. *Veterinary Journal*, 168(3), 215-229.
- Pillet, E. et ál. (2008). High fertility rates with stallion sperm cryopreserved in INRA96® based extender are not predicted by in vitro parameters. *Animal Reproduction Science*, 107(3-4), 339-340.
- Plas, E. et ál. (2000). Effects of aging on male fertility? Experimental Gerontology, 35(5), 543-551.
- Roser, J.F. (2000). Testicular function and fertility. *Journal of Equine Veterinary Science*, 20(2), 90-93.
- Roser, J.F. (2001). Endocrine and paracrine control of sperm production in stallions. *Animal Reproduction Science*, 68(3-4), 139-151.
- Santos, G.C.J. (2003). Criopreservação da célula espermática eqüina: efeito da composição do meio diluidor e dos protocolos de congelamento na integridade celular pós-descongelamento. Tesis de doctorado, Universidade Federal de Minas Gerais, EV-UFMG, Belo Horizonte, Brasil.
- Souza, F.A. (2007). *Taxa de concepção de éguas cobertas*12 ou 24 horas após a ovulação. Tesis de maestría.
 Universidade Federal de Minas Gerais, EV-UFMG,
 Belo Horizonte, Brasil.
- Troedsson, M.H.T.; Liu, I.K.M. & Crabo, B.G. (1998). Sperm transport and survival in the mare. *Theriogenology*, 49(5), 905-915.
- Van Buiten, A.; Westers, P. & Colenbrander, B. (2003). Male, female and management risk factors for non-return to service in Dutch mares. *Preventive Veterinary Medicine*, 61(1), 17-26.