

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

Comparación de la morfología del semen bovino Gyrholando fresco y criopreservado teñidos con Spermac, Triple tinción y Farelly, para determinar la viabilidad y el porcentaje de motilidad progresiva con el equipo CASA.

Autora:

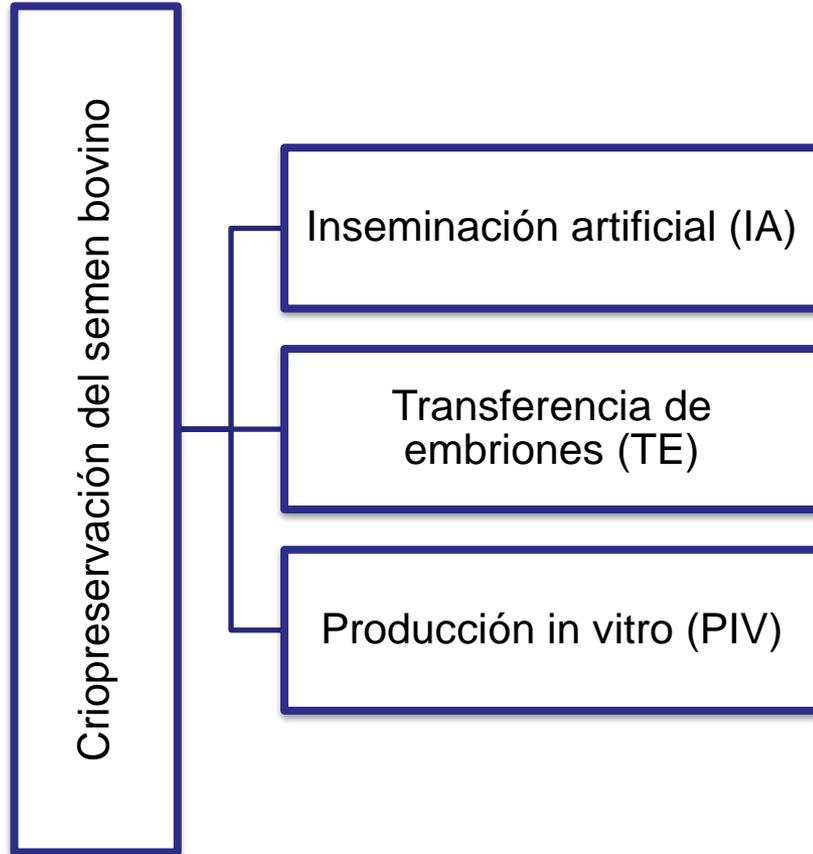
Chicaiza Cuzco, Solange Lizbeth

Director:

Carrera Garcés Fredy Patricio Ph. D.



Introducción



Disminución de costos, disminución de enfermedades de transmisión sexual, preservación genética y el desarrollo de bancos de almacenamiento seminal (Westfalewicz et al., 2021).



Para el manejo del semen
criopreservado es indispensable
un análisis morfológico

Fertilidad

Efectos de manipulación

La tinción es un procedimiento de evaluación
se usa sustancias como Eosina/Nigrosina,
Spermac, Farelly y Triple tinción

Alteraciones
de membrana



Anomalías
mayores

Anomalías
menores

Pérdida de
integridad

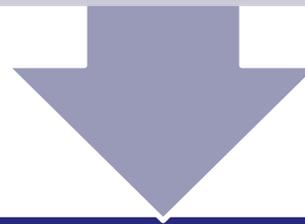
Pérdida de
viabilidad



Objetivos

General

Comparar la morfología de espermatozoides bovinos frescos y descongelados teñidos con Spermac, Triple tinción y Farelly y el porcentaje de motilidad progresiva con el equipo CASA



Específicos

Evaluar la morfología espermática del semen fresco y descongelado usando la tinción Spermac, triple tinción y Farelly

Analizar el efecto del antioxidante (ácido ascórbico) en la morfología espermática mediante el empleo de la tinción Farelly

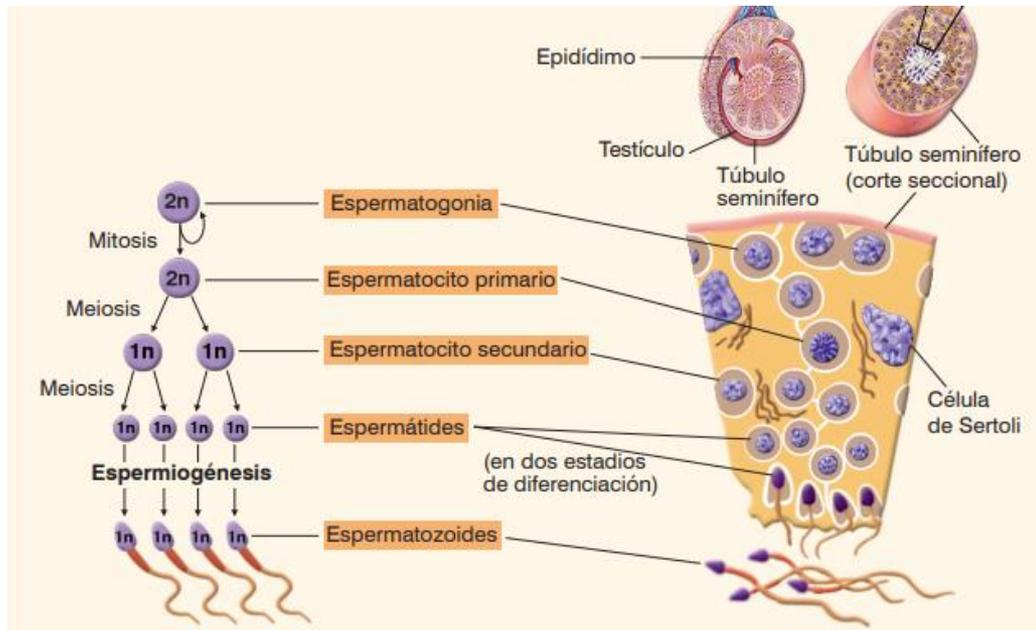
Estimar el porcentaje de motilidad progresiva del semen fresco y descongelado en el sistema CASA



Marco teórico

Testículos. – Se encuentran localizados en la región inguinal,.
La longitud 10 a 16 cm, 4 a 9 cm de ancho y un grosor de 5 a 8 cm.

Se conforman por túbulos seminíferos donde surge el proceso de espermatogénesis



Toro. A, 2009, Medicina & Laboratorio.

Principales componentes	Toro (mg/100mL)
Fructosa	530
Sorbitol	75
Glicerilfosforilcolina	350
Ácido cítrico	720
Sodio	230
Inositol	35
Plasmalógeno	60
Potasio	140
Cloro	180
Calcio	44
Magnesio	9

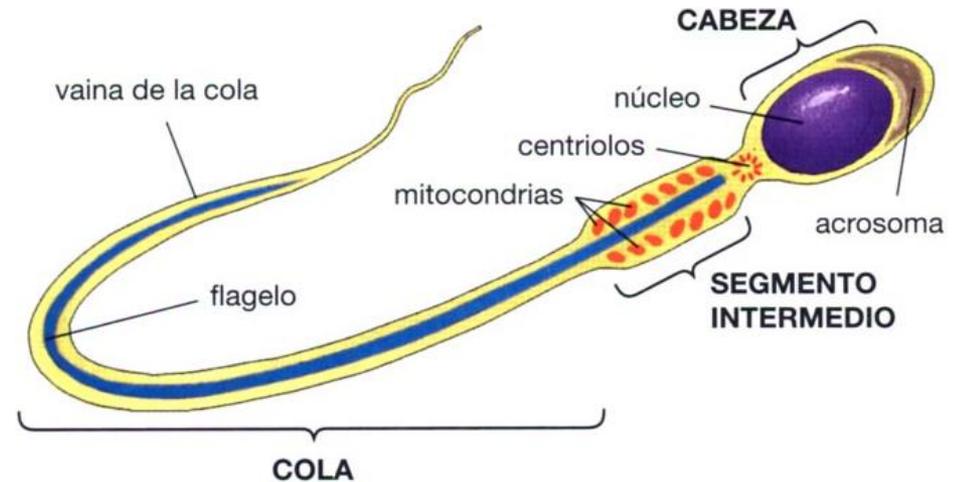
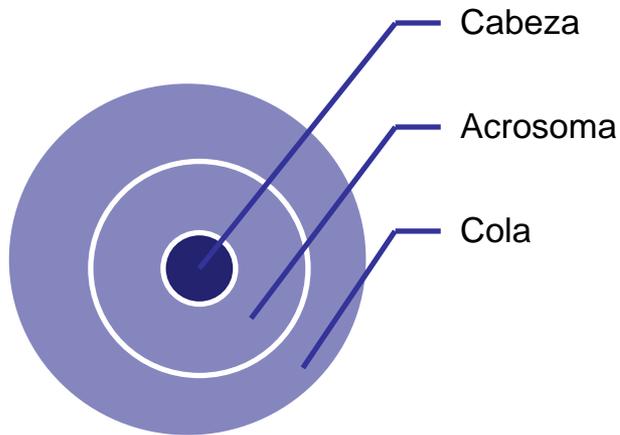


ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



Marco teórico

Célula espermática

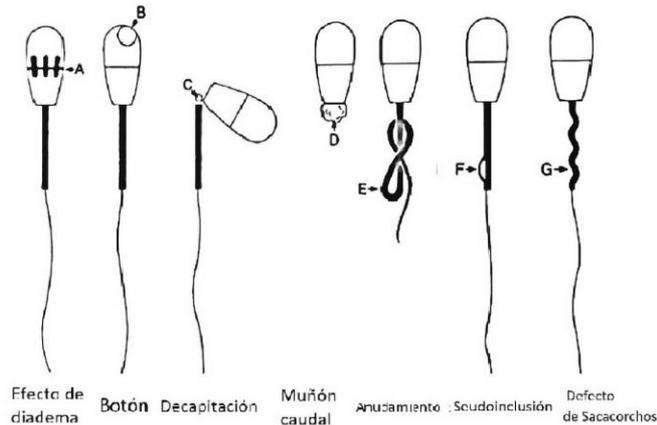


Audersirk et al., 2003, Pearson.

- Cabeza Ovoide (longitud de 5 μm y diámetro de 3,5 μm)
- La pieza media alargada y con un diámetro 1 μm
- El flagelo firme y uniforme con 45 μm de extensión

Marco teórico

El límite permisible de anomalías está entre el 8 al 10% (Bearden & Fuquay, 1982).



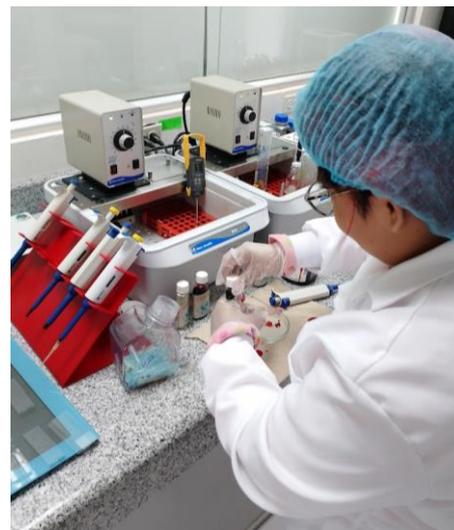
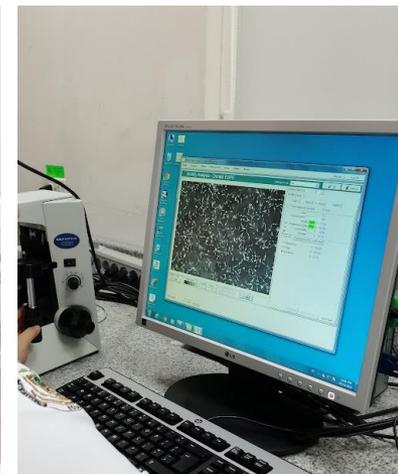
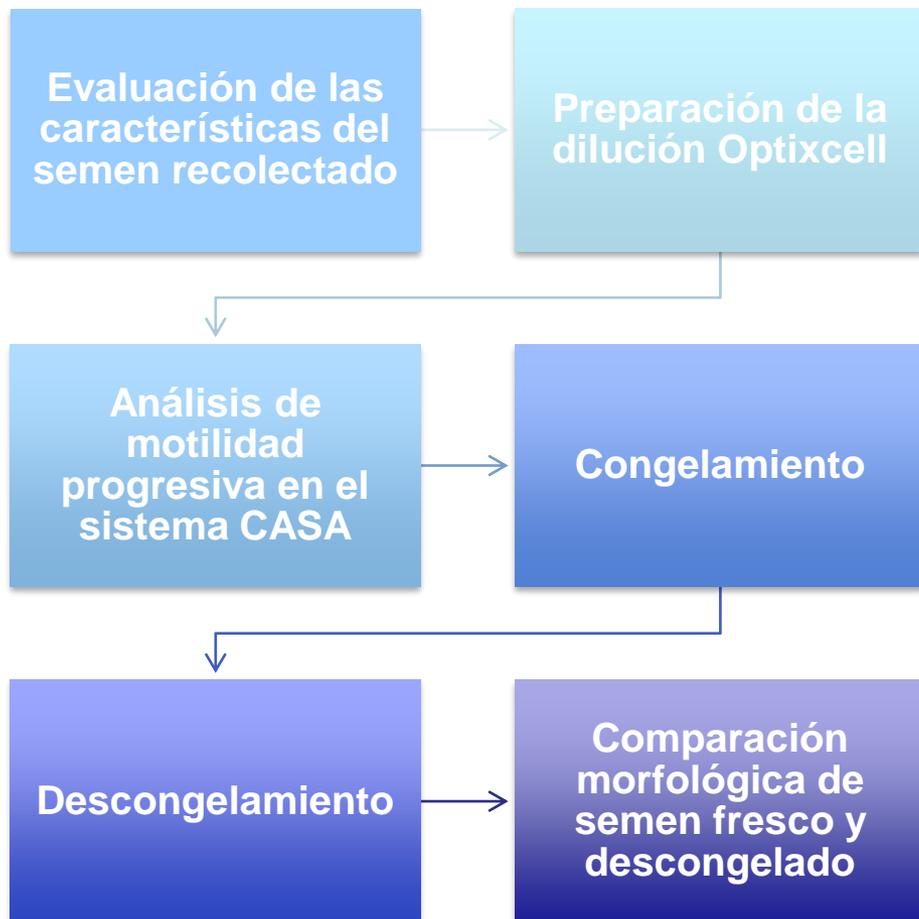
Anormalidades	Defectos
Cabeza anormal	Asimetría, estrechamiento, agrandamiento, acintada, área acrosomal pequeña, piriformes y cabeza doble.
Defectos de cuello y pieza media	Cuello doblado, pieza media gruesa y pieza media fina.
Colas anormales	Alargadas, rotas, dobladas, filiformes enroscamiento, dobles y múltiples.
Gotas citoplasmáticas	Proximales y distales

E.S.E Hafez, 2002.

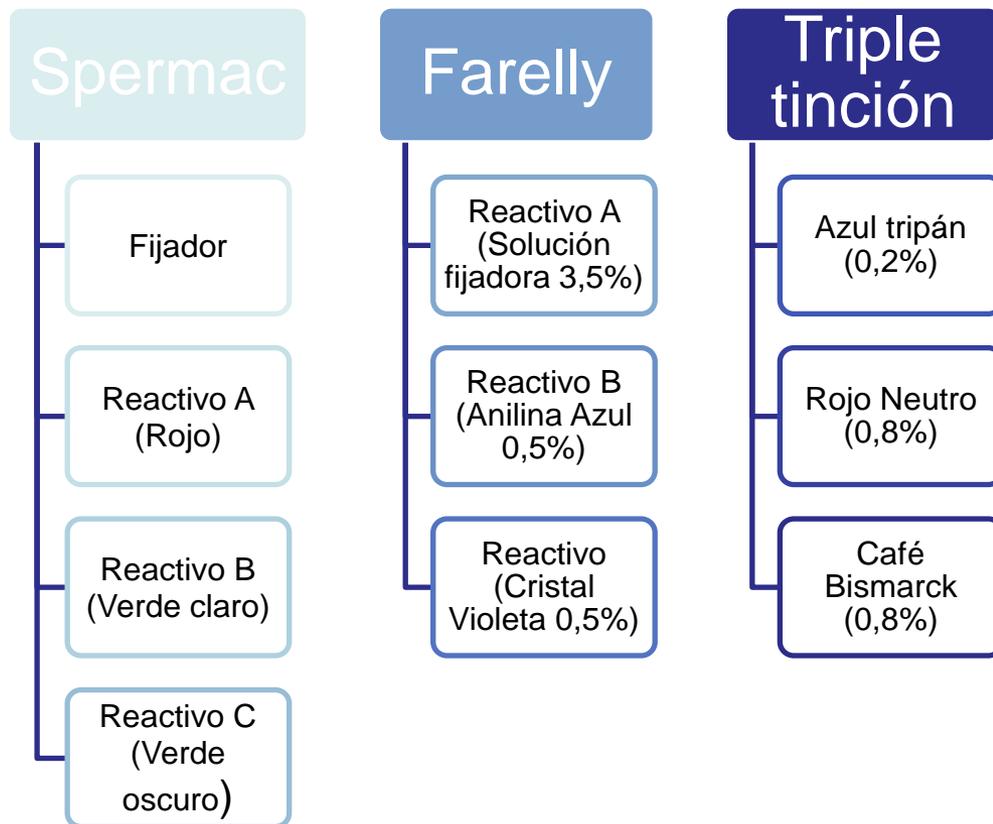
H. Joe Bearden y W. John Fuquay, 1982.



Metodología



Metodología



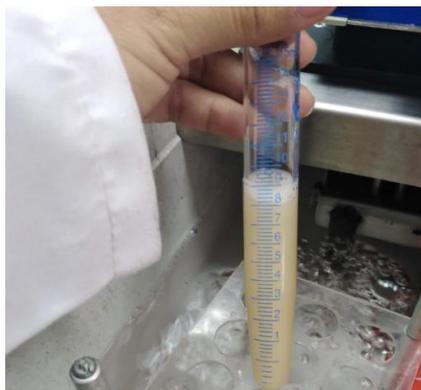
$$\% \text{ de anomalía} = \frac{N^{\circ} \text{ de espermatozoides anormales} * 100\%}{200 \text{ espermatozoides}}$$



Resultados y discusión

Evaluación de las principales características del semen recolectado

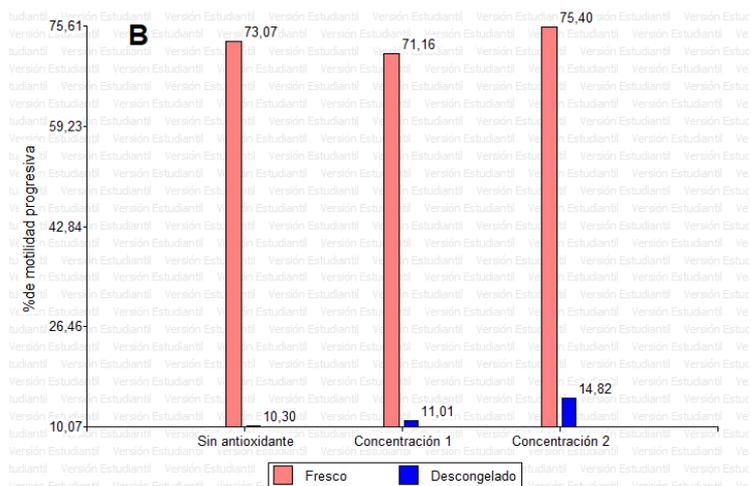
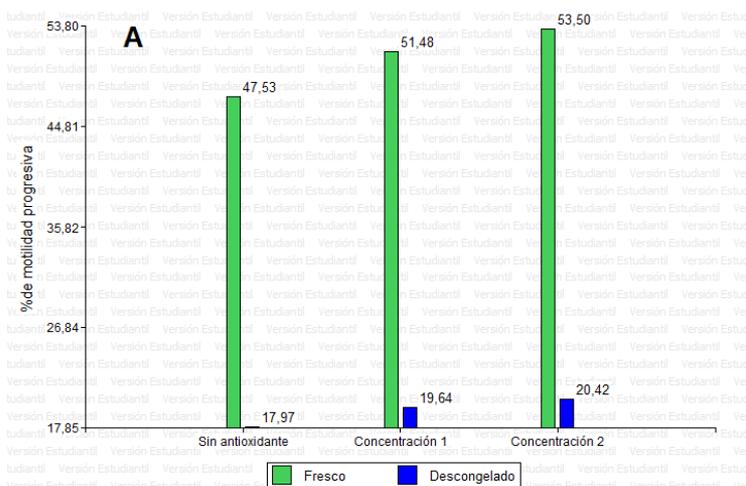
Características	Ejemplares	
Nombre del ejemplar	Toro 1	Toro 2
pH	6.4	6.5
Volumen (mL)	5	4.73
Temperatura (°C)	31.7	31.5
Aspecto	Amarillento	Amarillento lechoso
Olor	Neutro	Neutro
Concentración (Millones/mL)	1080	208 ^a



Resultados y discusión

Análisis de motilidad progresiva en el sistema CASA con semen fresco y descongelado

Toro 1		Toro 2	
Semen fresco	Semen Descongelado	Semen fresco	Semen Descongelado
50,84	19,34	73,21	12,04
p bilateral	0,0001	p bilateral	0,0002

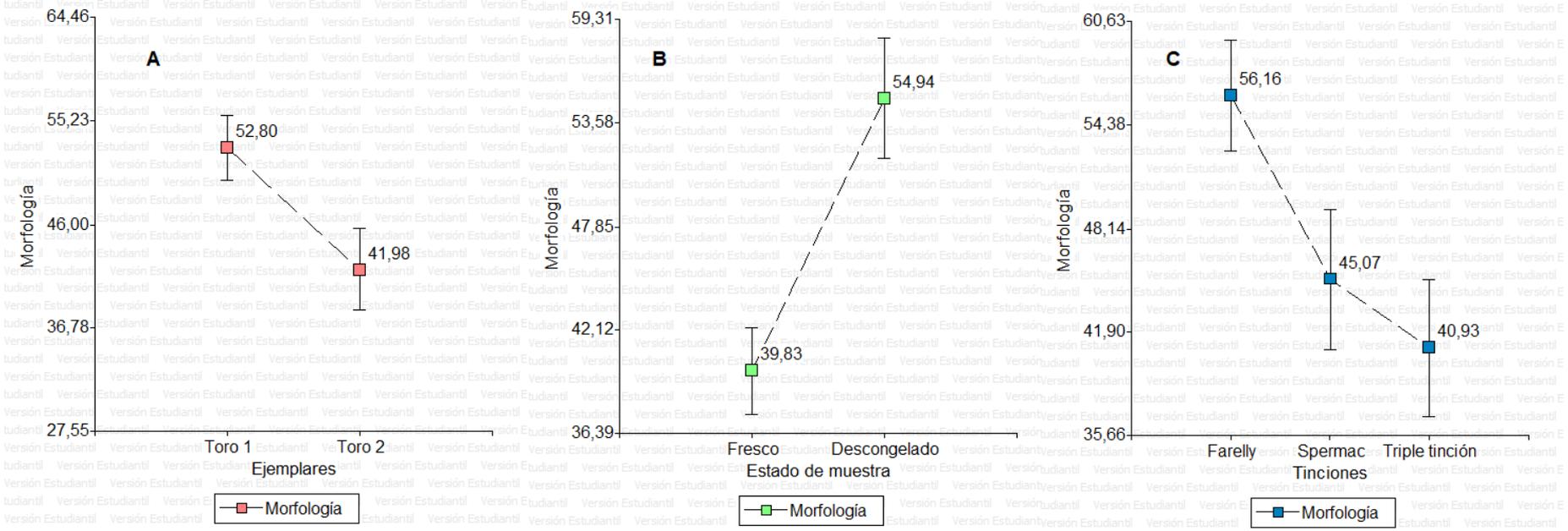


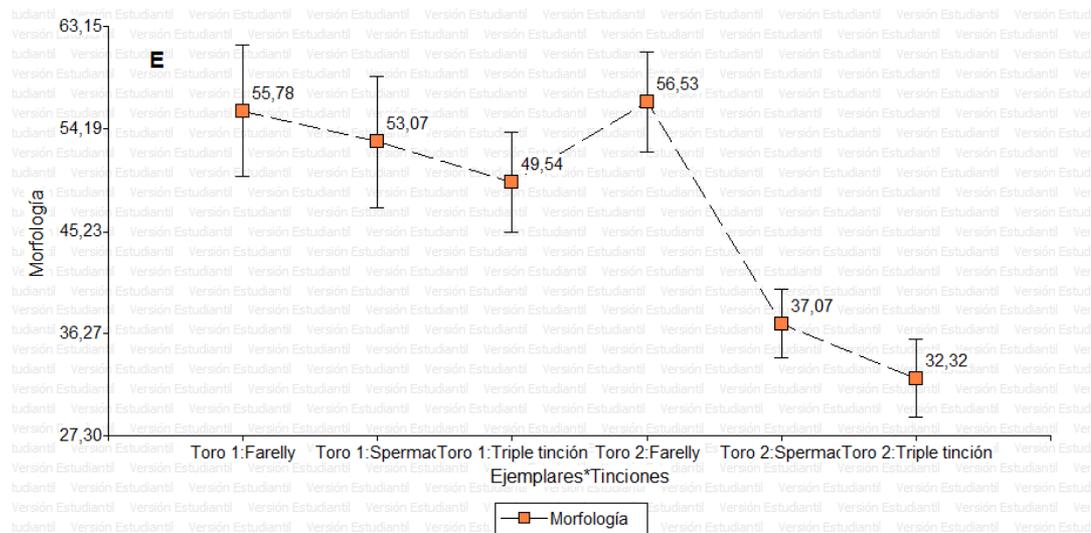
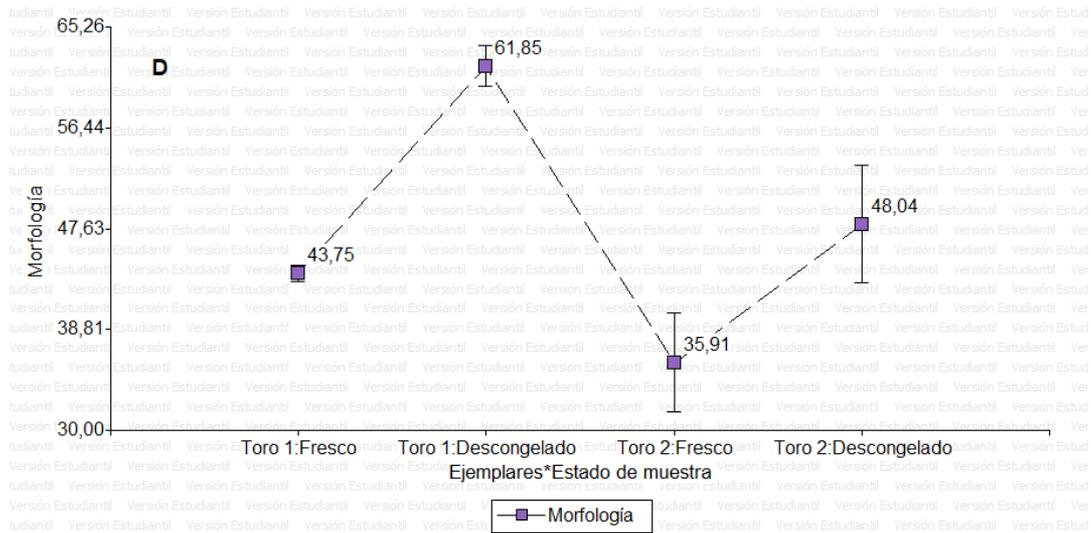
Resultados y discusión

Comparación morfológica de semen fresco y descongelado

		% de anomalías		
		Tinciones		
Ejemplares	Estado de la muestra	Farely	Spermac	Triple tinción
Toro 1	Fresco	45,85 ± 0,27	43,15 ± 0,50	42,25 ± 1,06
Toro 1	Descongelado	65,72 ± 0,94	63,00 ± 0,71	56,83 ± 3,67
Toro 2	Fresco	49,14 ± 1,92	31,93 ± 0,13	26,66 ± 1,12
Toro 2	Descongelado	63,93 ± 1,75	42,22 ± 1,01	37,98 ± 2,86
Estado de la muestra (valor de p)		<0,0001		
Tinciones (valor de p)		<0,0001		
Ejemplares (valor de p)		<0,0001		
Ejemplares*Estado de muestra (valor de p)		<0,0001		
de p)				
Ejemplares*Tinciones (valor de p)		<0,0001		







Resultados y discusión

Efecto del antioxidante en las principales anomalías espermáticas en la tinción Farelly

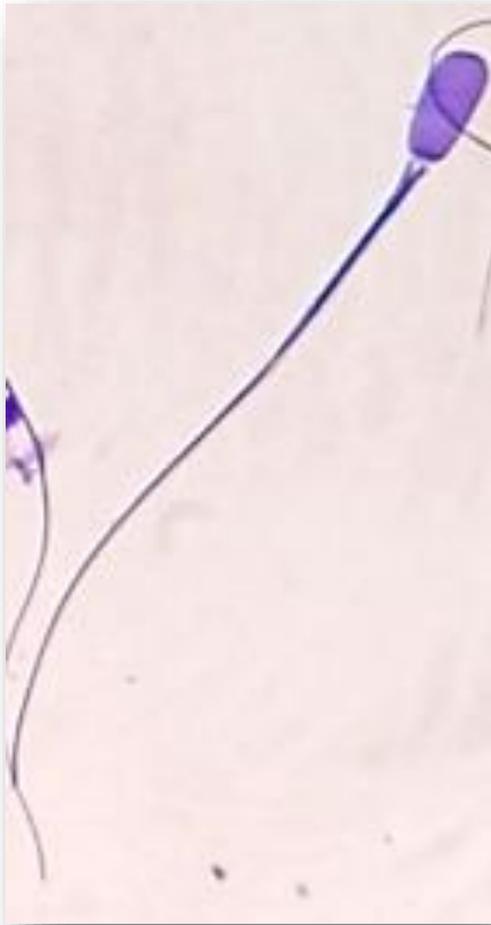
Parámetros	Defectos de cabeza		Defectos media	de pieza		Gotas citoplasmáticas		Defecto de flagelo	
	Fresco	Congelado		Fresco	Congelado	Fresco	Congelado	Fresco	Congelado
Sin antioxidante	11,94 ^a	15,74 ^a	1,18 ^a	3,16 ^a	1,89 ^a	2,05 ^a	30,17 ^b	43,56 ^a	
Concentración 1	9,39 ^a	16,89 ^a	6,68 ^a	1,22 ^a	1,89 ^a	2,83 ^a	22,12 ^c	36,55 ^b	
Concentración 2	11,41 ^a	16,80 ^a	3,68 ^a	5,34 ^a	4,04 ^a	1,81 ^a	21,39 ^c	33,10 ^b	

Resumen estadístico del efecto de dos concentraciones de antioxidantes en las principales anomalías espermáticas en el Toro 1

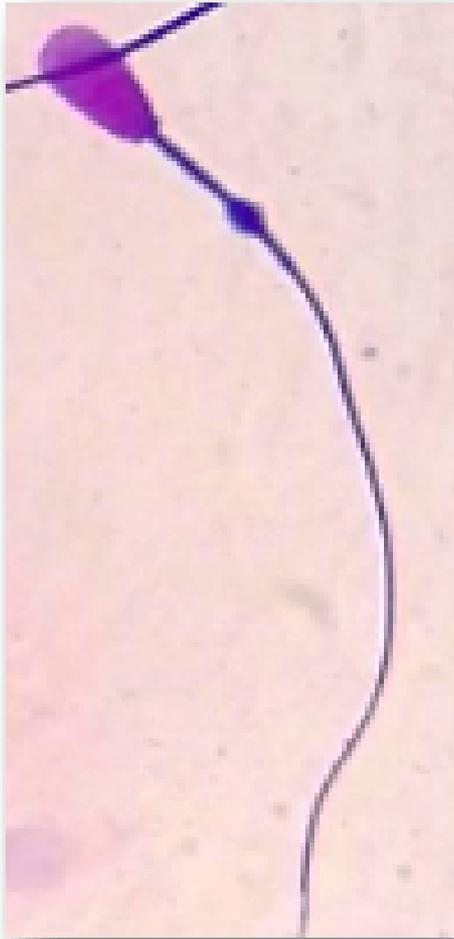
Parámetros	Defectos de cabeza		Defectos media	de pieza		Gotas citoplasmáticas		Defecto de flagelo	
	Fresco	Congelado		Fresco	Congelado	Fresco	Congelado	Fresco	Congelado
Sin antioxidante	32,28 ^c	52,99 ^a	0,99 ^a	3,00 ^a	7,45 ^a	1,75 ^c	7,94 ^b	6,22 ^b	
Concentración 1	16,42 ^d	45,17 ^b	0,98 ^a	0,24 ^a	3,19 ^b	0,99 ^c	25,25 ^a	4,91 ^b	
Concentración 2	32,27 ^c	43,83 ^b	1,70 ^a	1,00 ^a	4,35 ^b	0,75 ^c	6,32 ^b	9,36 ^b	

Resumen estadístico del efecto de dos concentraciones de antioxidantes en las principales anomalías espermáticas en el Toro 2.

Toro 1



Toro 2



Conclusiones

Se analizó la morfología espermática del semen fresco y descongelado con tres tinciones diferentes, el uso de Farelly permitió una mejor diferenciación de los dos estados de la muestra seminal a comparación de los otros tipos de tinciones.

El efecto del antioxidante (ácido ascórbico) en la morfología espermática generó un efecto crioprotector en anomalías de cabeza y defectos de cola considerando los estados de la muestra seminal.

Se estableció que el porcentaje de motilidad progresiva está influenciado por el estado de la muestra seminal.



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



Recomendaciones

Estandarizar el protocolo de triple tinción y añadir un fijador para mejores resultados.

El uso de otro tipo de tinciones como Papanicolau, Eosina-Nigrosina y Diff-Quik pueden compararse en investigaciones futuras.

Se recomienda utilizar la herramienta de análisis de morfología del Sistema CASA a fin de comparar y validar resultados.

Evaluar la morfología espermática utilizando diferentes tipos de antioxidantes y con mayor amplitud de concentraciones.



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA





ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

