

# ANORMALIDADES ESPERMÁTICAS EN EL GUAJOLOTE CRIOLLO (*Meleagris gallopavo*)

SPERM ABNORMALITIES IN CREOLE TURKEYS (*Meleagris gallopavo*).

Toscano-Torres I.A.<sup>1\*</sup>, Flores-Padilla J.P.<sup>2</sup>, Núñez-Anita R.E.<sup>1</sup>, Conejo-Nava J.J.<sup>1</sup>, Olivo-Zepeda I.B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Unidad de Servicios Integrales en Reproducción Animal. \*daggetydandy@yahoo.com.mx.

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología.

**Keywords:** Sperm; Morphology; Fertility; Conservation.

**Palabras clave:** Espermatozoides; Morfología; Fertilidad; Conservación.

## ABSTRACT

The proportion of abnormalities in sperm is an important factor in determining their fertility capacity prior to the conservation or cryopreservation process. As part of a larger project on the conservation of creole turkey germplasm (*Meleagris gallopavo*), the aim of this research was to describe the different types of morphological abnormalities in wild turkey sperm. Ten mature male wild turkeys in the reproductive stage were used. The animals went through training to obtain semen using an abdominal massage technique. The ejaculate was evaluated macroscopically and microscopically. A smear stain with eosin-nigrosine tincture was used to determine the morphologic abnormalities of the sperm. The abnormalities in 200 cells were counted to measure the percentage. Tsukunaga (1987) classification was used to determine the defects in the acrosome, head, midpiece and tail. Total morphological abnormalities were  $11.46 \pm 1.53$  %, including defects in the sperm head with  $27.72 \pm 2.98$  %, followed by acrosome defects ( $13.05 \pm 2.67$  %), to a lesser extent tail abnormalities ( $7.38 \pm 2.98$  %) and midpiece abnormalities ( $2.11 \pm 1.38$  %). We concluded that the abnormalities that were identified with greater incidence correspond to the primary, which were swollen head, corkscrew and folded, followed by defects of acrosoma as they are acrosome detached and coma-shaped.

## RESUMEN

La proporción de anomalías en los espermatozoides, es un indicador importante para determinar la fertilidad de los mismos, antes de que sean sometidos a los procesos de conservación o criopreservación. Como parte de un proyecto más amplio sobre la conservación del germoplasma del guajolote criollo (*Meleagris gallopavo*), el presente trabajo tuvo como objetivo describir los diferentes tipos de anomalías morfológicas presentes en los espermatozoides del guajolote criollo. Se utilizaron 10 guajolotes criollos machos en etapa reproductiva. Los animales se sometieron a un entrenamiento para la obtención del semen mediante la técnica de masaje abdominal. El eyaculado se evaluó macro y microscópicamente; para determinar las anomalías morfológicas de los espermatozoides, se realizó un frotis con la tinción de eosina-nigrosina, donde se contaron en 200 células el porcentaje de anomalías. La clasificación fue de acuerdo a Tsukunaga (1987): defectos del acrosoma, cabeza, pieza media y cola. Se encontró un  $11.46 \pm 1.53$  % de anomalías morfológicas totales, de las cuales destacan los defectos en la cabeza del espermatozoide con un  $27.72 \pm 2.98$  %, después le siguen los defectos del acrosoma ( $13.05 \pm 2.67$  %), y en menor proporción las anomalías de la cola ( $7.38 \pm 2.98$  %) y pieza media ( $2.11 \pm 1.38$  %). Se concluye que las anomalías que se identificaron con mayor incidencia corresponden a las primarias las cuales fueron cabeza hinchada, en forma de sacacorchos y doblada, seguidas por los defectos del acrosoma como son acrosoma desprendido y en forma de coma.

## INTRODUCCIÓN

En México, la explotación del guajolote criollo se mantiene desde la época prehispánica, bajo sistemas de producción familiar de traspatio, para autoconsumo. En la actualidad este sistema aporta el 42 % de la producción nacional y el 58 % restante lo hace la producción intensiva en la que se emplea las nuevas variedades norteamericanas, de mayor rendimiento (SAGARPA, 2006). A diferencia de los Estados Unidos, en donde la variedad silvestre está en riesgo de extinción (Sponenberg *et al.*, 2005), México conserva aún este importante recurso genético, bajo sistemas de producción familiar. Sin embargo, el conocimiento existente sobre la variedad mexicana es ínfimo. Por eso, la FAO (2010) ha recomendado la necesidad de estudiar estos recursos genéticos no mejorados “antes de que sea demasiado tarde”. La inseminación artificial es una de las técnicas más efectivas y extensamente usadas para la propagación de estos recursos y el mejoramiento genético. El éxito de esta técnica depende directamente de la calidad del semen. Hoy en día, la evaluación del semen es esencial antes de la inseminación para determinar el potencial de fertilidad de los espermatozoides. Las pruebas espermatológicas, para este propósito, incluyen la evaluación de la movilidad, viabilidad, porcentaje de espermatozoides anormales y concentración espermática (Bakst y Cecil, 1989; Yamane, *et al.*, 1966). Las características seminales de los guajolotes pueden verse afectadas por varios factores, de los cuales los más importantes son, el peso vivo del animal y la técnica de colección. Hay una correlación positiva significativa entre el peso del cuerpo y el volumen seminal, pH y porcentaje de espermatozoides anormales, mientras que, existe una correlación negativa entre el peso del cuerpo y la movilidad, concentración de espermatozoides y porcentaje de espermatozoides vivos en estas aves (Bakst y Cecil, 1991; Ramamurthy *et al.*, 1989). Gamal *et al.* (1972), menciona que la época del año también puede afectar las características seminales en guajolotes de diferentes razas, donde reporta altos porcentajes de anomalías durante los días más largos y calurosos del año (mayo-septiembre) y disminuyen durante la época de frío (noviembre-abril). La estructura morfológica de los espermatozoides de guajolote es diferente a la de los mamíferos. El espermatozoide de guajolote es largo, cilíndrico y afilado en ambos extremos. Como en otras especies, el espermatozoide está compuesto de acrosoma, cabeza, pieza media y cola. Esta mide 0.5µm en el punto más ancho. El acrosoma mide 2µm, la cabeza, 13µm, la pieza media, 4µm y la cola, 85µm de largo (Etches, 1996). Las anomalías morfológicas de los espermatozoides pueden clasificarse en primarias, secundarias o terciarias. Las primarias se deben a falla en la espermatogénesis, mientras que las secundarias ocurren durante el paso de los espermatozoides a través del epidídimo. La lesión espermática que se produce durante la eyaculación o después de ella o por manejo inadecuado del semen extraído para inseminación artificial (IA) se considera una anomalía espermática terciaria (Hafez y Hafez, 2000). Tsukunaga (1987) examinó la morfología del espermatozoide en semen de aves y es evidente que la pieza media es considerablemente más larga que en otras especies, aproximadamente un cuarto del largo de la cabeza, y esta propiedad hace que el espermatozoide de ave tenga más piezas medias dobladas que otras especies. Así mismo, clasificó los tipos de defectos morfológicos del semen en ensayos *in vitro* de la siguiente manera: 1) Cuello doblado (pieza media doblada); 2) Pieza media dañada; 3) Acrosoma dañado: a) doblado, b) hinchado, c) anudado o redondo; 4) Toda la cabeza hinchada; 5) Defectos en la cola. Maeda *et al.* (1986) mencionó que el acrosoma y la pieza media son las partes más sensibles del semen de aves para los procedimientos de congelación, almacenamiento y descongelación. Esto también sugiere que el mayor daño del acrosoma puede ser atribuido a la presión osmótica y a los componentes de los diluyentes. La proporción de anomalías de espermatozoides en muestras de semen de guajolote, es un indicador muy importante para poder determinar la fertilidad de los mismos, antes de que sean sometidos a los procesos de conservación o criopreservación para la inseminación artificial (Bakst y Cecil, 1989). Como parte de un proyecto más amplio sobre la Conservación del germoplasma del guajolote criollo, el presente trabajo tuvo como objetivo estudiar los diferentes tipos de anomalías morfológicas presentes en los espermatozoides del guajolote criollo.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el Unidad de Servicios Integrales en Reproducción Animal y en el Sector Avícola de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, ubicada en el Km. 9.5 de la carretera Morelia-Zinapécuaro. Para el desarrollo de este estudio, se

utilizaron 10 guajolotes criollos en etapa reproductiva (18 meses de edad), los cuales fueron sometidos a entrenamiento (3 meses) para obtener el semen por el método de masaje abdominal no invasivo descrito por Burrows y Quinn (1937). Posteriormente, la colecta se llevó a cabo dos veces por semana durante 2 meses. Se seleccionaron los eyaculados que no presentaron contaminantes (heces, orina) para formar un pool. Inmediatamente después de la colecta, se evaluó por el mismo técnico una muestra, de manera macroscópica (volumen, color, pH y consistencia), según Etches (1996) y Conejo (1991), y microscópica (movilidad masal y progresiva, concentración espermática). La morfología y viabilidad espermática se evaluaron mediante un frotis, en el cual se colocó una gota de semen sobre un portaobjetos y se le añadió una gota de la tinción Eosina-Nigrosina, la cual se preparó a una proporción de 1 % y 5 %, respectivamente. Se dejó incubar a 37°C por 5 minutos y después se realizó la extensión, dejándola secar durante 1 a 2 minutos. La muestra se revisó con el objetivo de 100X, utilizando aceite de inmersión y se contaron 200 espermatozoides para determinar el porcentaje de vivos, muertos y con anomalías Etches (1996) y Bakst (1980). El resultado de la evaluación morfológica fue clasificado como: defectos del acrosoma, cabeza, pieza media y cola según lo indicó Tsukunaga (1987).

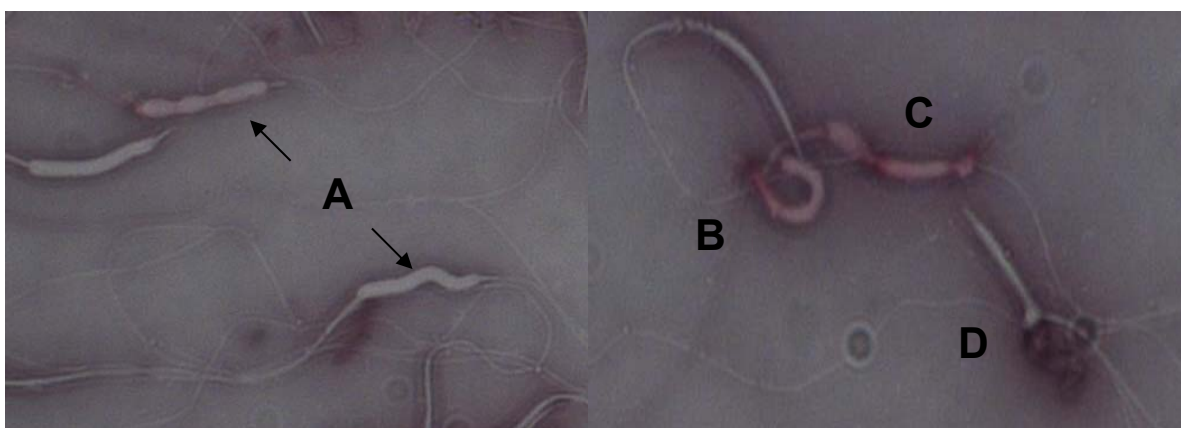
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se analizaron 10 pools de los eyaculados de los 10 animales, aun con el análisis macroscópico se descartaron 6 pools por presentar contaminantes.

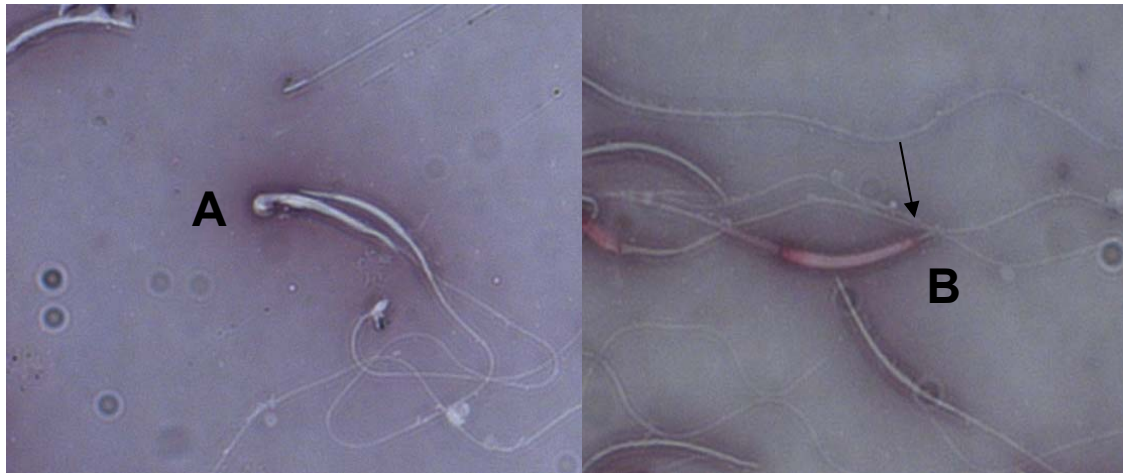
**Tabla I.** Porcentaje de anomalías espermáticas en semen fresco de guajolote criollo (*Meleagris gallopavo*) (*Ratio of sperm abnormalities in fresh semen of wild turkey (Meleagris gallopavo)*).

Acrosoma (%)	Cabeza (%)	Pieza media (%)	Cola (%)	Total (%)
13.05 ± 2.67	27.72 ± 2.98	2.11 ± 1.38	7.38 ± 2.98	11.46 ± 1.53

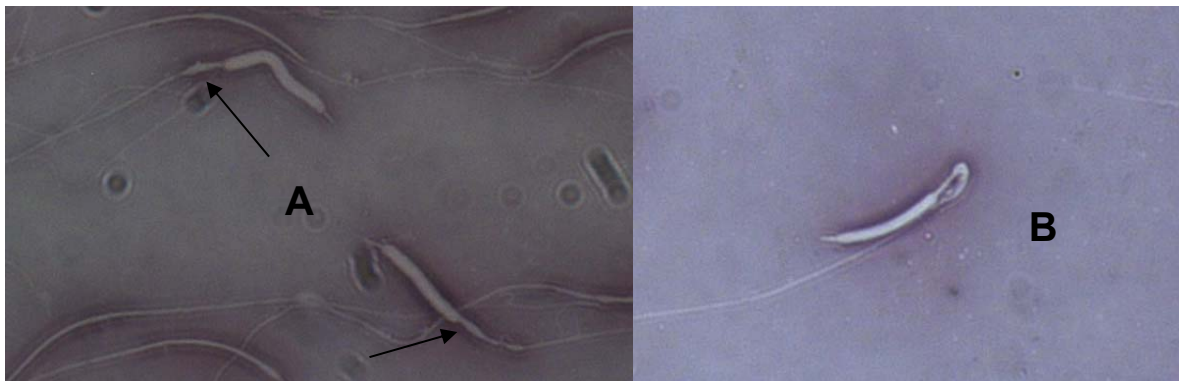
De los 10 pools analizados se encontró un 11.46 ± 1.53 % de anomalías morfológicas totales (tabla I), de las cuales destacan los defectos en la cabeza del espermatozoide con un 27.72 ± 2.98 %, que incluyen cabeza hinchada, doblada, en forma de sacacorchos, pequeña o larga, desprendida o con nudos (figura 1), después le siguen los defectos del acrosoma (13.05 ± 2.67 %), que incluyen acrosoma en forma de coma, separado o hinchado (figura 2) y en menor proporción las anomalías de la pieza media (2.11 ± 1.38 %), como hinchazón, flexión, engrosamiento y desprendimiento parcial o total (figura 3), y de la cola (7.38 ± 2.98 %) que también incluyen desprendimiento, dobladas enrolladas y con nudos (figura 4).



**Figura 1.** Anormalidades de la cabeza (objetivo 100X). A) cabeza en forma de sacacorcho, B) cabeza doblada, C) cabeza hinchada, D) flexión o nudos en la cabeza (*Abnormalities of the head (lens 100X)*). A) corkscrew-shaped head, B) bent head, C) swollen head, D) bending or knots in the head).



**Figura 2.** Anormalidades del acrosoma (objetivo 100X). A) acrosoma en forma de coma, B) acrosoma desprendido (*Acrosome abnormalities (lens 100X). A) comma-shaped acrosome, B) detached acrosome*).



**Figura 3.** Anormalidades de la pieza media (objetivo 100X). A) hinchazón y/o engrosamiento de la pieza media, B) Flexión de la pieza media (*Abnormalities of the middle part. (lens 100X). A) swelling and/or thickening of the middle part, B) Flexure of the middle part*).



**Figura 4.** Anormalidades de la cola (objetivo 100X). A) nudo en la cola, B) colas dobladas 90° y 180°, C) cola enrollada (*Abnormalities of the tail (lens 100X). A) knot in the tail, B) bent tails 90° and 180°, C) coiled tail*).

Estos resultados difieren con los obtenidos por Alkan *et al.* (2002), quienes en un estudio realizado a guajolotes de la raza Bronze Americano, criados en diferentes condiciones ambientales, reportan un  $17 \pm 0.06$  % de anomalías totales en semen fresco, donde la mayor proporción de defectos encontrados fue en el acrosoma y en la pieza media con un  $66 \pm 0.36$  %, esto pudiera deberse al tipo de raza y a las condiciones ambientales. En otro estudio, realizado por Gamal *et al.* (1972), en guajolotes de raza Bronze y Beltsville Small White, reportan un 12.5 % y 10.7 %, respectivamente, de anomalías totales, donde sobresalen los defectos en la

cola (9.39 % en la raza Bronze y 8.06 % en la raza Beltsville Small White). Estos resultados coinciden con los obtenidos en el presente trabajo, sin embargo, respecto a las anomalías en la cabeza, Gamal *et al.* (1972) obtuvieron un 3.13 % y 2.63 % en la raza Bronze y Beltsville Small White, respectivamente. Los diferentes tipos de anomalías morfológicas observadas en el semen del guajolote criollo, objeto de este trabajo, son muy similares a las encontradas en el semen de gallo. Bakst (1980), en su trabajo sobre morfología del espermatozoide de gallo y guajolote en un extensor hipotónico de semen, reporta anomalías del  $12.4 \pm 5.6$  % y  $17.5 \pm 5.7$  % en el semen de gallo y guajolote, respectivamente, donde los tipos de defectos morfológicos encontrados, fueron clasificados igualmente como: defectos del acrosoma, cabeza y cola.

## CONCLUSIONES

Las anomalías que se identificaron con mayor incidencia corresponden a las primarias las cuales fueron cabeza hinchada, en forma de sacacorchos y doblada, seguidas por los defectos del acrosoma como son acrosoma desprendido y en forma de coma.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y al sector de aves perteneciente a la FMVZ-UMSNH por todas las facilidades otorgadas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alkan S., Baran A.O., Ozdas B., Evecen M. (2002). Morphological defects in turkey semen. *Turkey Journal Veterinary Animal Science*, 26, 1087-1092.
- Bakst M.R., Cecil H.C. (1989). Evaluation of Turkey Semen. International Symposium of Turkey Reproduction. June 12-14, Research Triangle Park, Raleigh, North Carolina. USA.
- Bakst M.R., Cecil H.C. (1991). Current Methods of Evaluating Turkey Semen. *Turkey World*. September-October.; pp. 18-20.
- Bakst M.R. (1980). Fertilizing capacity and morphology of fowl and turkey spermatozoa in hypotonic extender. *Journal Reproduction Fertility*, 60, 121-127.
- Burrows W., Quinns J. (1936). The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poultry Science*. 40. p 8-10.
- Conejo N.J.J. (1991). Manual de inseminación artificial del ganado porcino con semen diluido. Editorial de la Universidad Michoacana. Morelia, Mich. México.
- Etches R.J. (1996). *Reproduction in Poultry*. University Press Cambridge, UK.
- FAO. (2010). Cryoconservation of animal genetic resources. FAO Animal production and health guidelines. N°12 Roma, Italia.
- Gamal A., Kamar R., Rizik M.A.A. (1972). Semen characteristics of two breeds of turkeys. *Journal Reproduction Fertility*, 29, 317-325.
- Hafez, B. y Hafez, E.S.E. (2000). *Reproduction in farm animals*. Séptima edición, Lippincott Williams and Wilkins, NY, USA.
- Maeda T., Terada T., Tsutsumi Y. (1986). Studies of the Factors Causing Abnormal Acrosomes and Crooked-Necks in Fowl Spermatozoa during Freezing and Thawing. *British Poultry Sci.* 27: 695-702.
- Ramamurthy N., Narahari D., Kothandaraman P., Sethumadhavan V. (1989). Influence of Age and Body Weight on the Semen Characteristics of White Cornish Sires. *Indian Veterinary Journal*.; 66: 584.
- SAGARPA (2006). Situación actual y perspectivas de la carne de guajolote (pavo) en México. Coordinación General de Ganadería, SAGARPA.
- Sponenberg D.P., Bender P., Johnson E., Smith R., Gogal F.W., Pierson M.A., Gómez Jaramillo. (2005). Turkey Conservation In The United States. *Arch. Zootec.* 54: 177-183.
- Tsukunaga, S. (1987). Morphological Evidence of Osmotic and Thermal Shock of Fowl Sperm in Relation to Infertility of Semen. *Bull. Hiroshima Agr. Coll.*; 8: 257-303.
- Yamane J., Tsukunaga, S., Takahashi T. (1966). Hiroshima Method of Artificial Insemination of the Domestic Fowl. *J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.*; 6: 395-429.