



Herramientas de detección temprana del potencial fértil y la capacidad reproductiva de un verraco

● Alfonso Bolarín Guillén

Director de Calidad y Desarrollo. AIM Ibérica.

La producción porcina es una actividad económica clave en la industria española, con una clara vocación exportadora, que ha sufrido una significativa tecnificación y profesionalización en los últimos años. Por otra parte, la vocación exportadora y la globalización de la producción obligan al sector a una mejora continua para mantener su competitividad. (*Barómetro Porcino* nº 6 Interporc, 2015; "El sector de la carne de cerdo en cifras, principales indicadores económicos en 2014", Subdirección General de Productos Ganaderos, MAGRAMA, 2015, documento de trabajo).

La inseminación artificial (IA) en la especie porcina es una técnica ampliamente usada en España desde hace más de treinta años, y generalizada en el mundo. Los machos seleccionados de entre los mejores genéticamente son alojados en centros de inseminación (CIAs) altamente especializados, que cuentan con tecnología y medidas de bioseguridad que pretenden asegurar el potencial fértil de las dosis seminales que comercializan de forma segura e inocua para las granjas receptoras. Más del 60% de las dosis utilizadas en España provienen de estos CIAs, que son mayoritariamente responsables, además, de la distribución de la genética de las empresas de genética.

EL VALOR DE PREDECIR EL POTENCIAL REPRODUCTIVO DEL VERRACO

La selección y avance genético se realiza primordialmente a través de la selección de las habilidades maternas en los verracos, conocidos coloquialmente como abuelos y bisabuelos. El tiempo que transcurre entre el nacimiento de un verraco y su uso efectivo como reproductor suele estar entre los 7 y los 10 meses. Debido a la relativamente rápida gestación de la cerda (116 días), a las numerosas camadas obtenidas por año (alrededor de 2,4), a la alta prolificidad conseguida en esta especie (más de 14 lechones nacidos por parto, con un incremento anual de prolificidad superior a 0,25 lechones por progreso genético), y a la alta presión de selección genética realizada sobre esta especie, en el tiempo que un reproductor alcanza el CIA y comienza su vida reproductiva, ya han nacido reproductores genéticamente mejorantes. Además, el tiempo de estancia medio de un reproductor genéticamente mejorante en un CIA está entre 6 y 10 meses (entre los 13 y 17 meses de vida) lo que obliga a los CIAs a trabajar con animales por naturaleza subproductivos, ya que la curva de producción seminal de un verraco es una sigmoide que alcanza su meseta superior aproximadamente a los 16 meses de vida (*Colenbrander y cols, 1993*). En este sentido, seleccionar eficientemente a los reproductores en edades tempranas, prediciendo no sólo la calidad y cantidad espermáticas, sino también la vida productiva del verraco, expresada en términos de días improductivos (períodos de mala calidad espermática por diversas causas) y causas de renovación, es un factor crítico para el éxito de un programa de mejora genética.

Por otra parte, el coste de producir un verraco es cada vez mayor, debido al lógico incremento del coste de la vida, pero también a la aplicación de diversas biotecnologías tales como la genómica, alimentación automática y seguimiento individualizado computerizado, ultrasonografía de grasa dorsal y pesaje de cada individuo en granja varias veces durante su crecimiento, necesarias para mantener la alta exigencia del mercado español e internacional. No obstante, el precio de carne y específicamente de la dosis





de semen refrigerado de IA no se ha incrementado significativamente desde hace más de 20 años. Este hecho hace que debamos buscar una eficiencia máxima en cada apartado de la producción, incluyendo la de los CIAs y el número de verracos alojados en ellos. Por este motivo, es esencial poder identificar a los mejores reproductores, no sólo en base a su potencial genético sino también en base a su capacidad fértil, antes de que sean incluidos en los CIAs.

En los CIAs los eyaculados son sometidos a exámenes rutinarios de contrastación seminal que contemplan la evaluación subjetiva de la motilidad, la concentración espermática, la carga bacteriológica y el porcentaje de morfoanomalías. Sólo los eyaculados que superan un exigente umbral de calidad son destinados a la producción de dosis seminales para la IA. La mezcla de eyaculados de varios individuos es práctica habitual en la elaboración de dosis seminales, enmascarando la presencia de verracos sub-fértiles que superan el umbral de calidad espermática (Ferreira y cols, 2014). Sin embargo, en los verracos destinados a programas de mejora genética esta práctica no se realiza, con lo cual se pueden evidenciar situaciones reproductivas en granja que denotan la presencia de verracos sub-fértiles.

Además, la sub-fertilidad es más una característica individual que de raza o de línea genética (Foxcroft y cols, 2010; Flowers, 2013). La temprana identificación de estos verracos sub-fértiles es actualmente un reto para la industria porcina por la repercusión productiva y económica que estos animales tienen tanto para la granja como para el CIA. Un

ejemplo de ello se muestra en el trabajo publicado por Roca y cols en 2015, indicando que si se eliminara el 10% de los verracos menos fértiles (sub-fértiles) se obtendrían 223 lechones más por cada 100 cerdas inseminadas o lo que es lo mismo, el equivalente económico de más de 10.000 euros por año para una granja de 1.000 madres en producción. Además, el uso de nuevos procedimientos de IA que conlleven una drástica reducción del número de espermatozoides necesarios por dosis de IA, agrava esta situación, ya que se inseminan un mayor número de cerdas por verraco y las pérdidas potenciales ocasionadas por un verraco sub-fértil se magnifican. Esta realidad implica que los CIAs deben complementar los actuales análisis rutinarios de calidad espermática con otros más selectivos que les permitan una mejor selección de los eyaculados destinados a la IA o, alternativamente, detectar de manera precoz los verracos sub-fértiles, a ser posible antes de su entrada como reproductores en los CIAs (Roca y cols, 2016).

MORFOLOGÍA TESTICULAR

El peso y tamaño testicular en un lechón aumentan exponencialmente durante su primer mes de vida, experimentando un incremento significativo en las células de Sertoli, espermatogonias y probablemente células de Leydig (McCoard y cols, 2003b; Caires y cols, 2008; Wagner y Claus, 2008). Durante el periodo entre un mes y la pubertad, aproximadamente a los cuatro meses de edad, el crecimiento testicular es lento, activándose de nuevo tras la pubertad (Allrich y cols, 1982; Lee y cols, 1987). El peso testicular poco antes ➤



de la pubertad estaría positivamente correlacionado con el número de células de Sertoli y con la capacidad productiva espermática (Allrich y cols, 1982 y 1983; Lee y cols, 1987, At-Taras y cols, 2006a, Wagner y Claus, 2008). Independientemente de la edad, el tamaño testicular está correlacionado con su peso (At-Taras y cols, 2006a), y esta información es de utilidad para poder predecir la edad de inicio de pubertad, de maduración sexual y la capacidad productiva espermática total del reproductor. Sin embargo, en verracos las mediciones escrotales in vivo de los testículos han demostrado ser poco repetibles, sobre todo en animales jóvenes (Davis y Hines, 1977), lo cual probablemente estaría asociado a los métodos usados para tales mediciones, pinzas o cuerdas. Dada la potencial relevancia que pueda tener, buscar procedimientos objetivos alternativos para medir eficientemente los testículos en los verracos, tales como la ecografía testicular (Clark y cols, 2003; Ford y Wise, 2011) debería explorarse.

ALTERACIONES DEL ADN NUCLEAR ESPERMÁTICO

Un atributo seminal a considerar es la integridad del ADN nuclear de los espermatozoides, que no es indispensable para la fertilización, pero sí esencial para el desarrollo de embriones viables (Silva y Gadella, 2006), por lo que su re-

percusión en la fertilidad del verraco se aprecia más sobre la prolificidad que sobre la tasa de partos (Didion y cols, 2009). Ello es debido a que el inicio de la expresión del ADN espermático en el embrión se evidencia en los estadios de 4 a 8 células (Gosálvez y cols, 2008a), momento en el que el embrión detendría su desarrollo si dicho ADN está alterado (Bordignon y Smith, 1999; Fatehi y cols, 2006).

Las causas que generan alteraciones en el ADN espermático son variadas y están ampliamente estudiadas (Meistrich y cols, 2008; Gosálvez y cols, 2008a, 2011; González-Marín y cols, 2012; Fischer y cols, 2003; Sakkas y cols, 2004; Aitken y cols, 2012; Jackson y cols, 2010), existiendo diferentes técnicas para valorar el grado de daño existente, las cuales difieren, entre otras cosas, en el tiempo y esfuerzo requerido para su implementación (Evenson, 2016). De entre ellas, las denominadas Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA) y Sperm Chromatin Dispersion (SCD) (Enciso y cols, 2005) son, según Evenson (2016), las técnicas más idóneas (sobre todo el SCSA) debido a su elevada objetividad, rapidez de ejecución y escaso coste. Ambas técnicas esencialmente valoran el grado de fragmentación del ADN nuclear espermático. Una elevada tasa de fragmentación estaría relacionada con inmadurez sexual; es decir, con retrasos en alcanzar la madurez sexual. Por ejemplo, López-Fernández y cols, (2008)

demuestran relación entre las gotas citoplasmáticas proximales, claro signo de inmadurez espermática, y la tasa de fragmentación. A pesar de esta clara incidencia sobre la prolificidad, todavía hoy no conocemos qué porcentaje de espermatozoides con ADN alterado es aceptable en la especie porcina. Con la técnica SCSA, algunos autores lo situaron en torno al 5% (Martínez, 2005), o menor del 5% (Wabersky y cols, 2011), o por encima del 20% cuando el semen se conservó más de 72 h. Boe-Hansen y cols, (2008) encuentran reducción de entre 0,5 y 0,9 lechones cuando la tasa de fragmentación era mayor al 2.1%, mientras que Broekhuijse y cols, (2012) llegan a resultados similares de pérdida de prolificidad cuando se situaba por encima del 3,15%. Con la técnica SCD el porcentaje de DFI aceptable fue menor al 5% (Alkmin y cols, 2013). Por otro lado, se ha observado la disminución de dos a tres lechones por camada al utilizar semen con porcentajes de fragmentación cercanos al 20% (Roca y cols, 2015). Por lo cual más estudios son necesarios para alcanzar conclusiones sólidas al respecto.

DETERMINACIÓN DE LA LIBIDO

La libido se define como la voluntad y/o entusiasmo del verraco para realizar la monta (Chenoweth, 1981), y se relaciona estrechamente con el comportamiento sexual, en el cual el verraco muestra una serie de signos como gruñidos, masticación y producción de saliva, micción y defecación, golpeo de los flancos de la hembra (o el potro de recolec-

ción de semen) y el olfateo en la zona genitourinaria de la hembra (Hemsworth y Tilbrook, 2007).

Los verracos con tamaño testicular mayor parecen expresar mayor libido y presentar mayor concentración espermática en su eyaculado, con lo cual una selección directa sobre el tamaño testicular podría seleccionar indirectamente el comportamiento sexual (Flowers, 2008), y quizá una mayor producción espermática (Flowers y Wise, 2011).

El estudio sistematizado de la libido es complicado porque hay muchos factores que pueden influir sobre ella, como la línea genética o la estacionalidad (Okere y cols, 2005; Szostak y Prykaza, 2011; Sonderman y Luebbe, 2008; Neely y Robinson, 1983; Pinart y Puigmulè, 2013; Rodríguez-Gil y Estrada, 2013). Sin embargo, es posible que la libido pueda tener una base hereditaria (Snowder y cols, 2002). En Topigs Norsvin se ha calculado una heredabilidad en porcino basada en recientes estudios internos de 0,138. En cualquier caso, la libido se puede medir mediante parámetros subjetivos y objetivos como el tiempo que tarda el verraco en saltar al potro, el tiempo que tarda en eyacular, o la emisión de gruñidos (Ren y cols, 2009; Levis and Reicks, 2005).

Durante los últimos años se han estudiado numerosos factores externos que influyen sobre el comportamiento sexual del verraco, tales como (1) la alimentación (Wilson y cols, 2004; Audet y cols, 2004); (2) el alojamiento (Hemsworth





th y Beilharz, 1979); (3) la edad (*Pinho y cols, 2013; Szostak y Przykaza, 2011*); (4) el fotoperiodo (*Sancho y cols, 2004*); (5) la temperatura ambiental (*Suriyasomboon y cols, 2005*).

La eliminación de verracos durante los primeros 6 meses de estancia en el CIA puede ser debida, entre otras causas, a libido reducida o ausente (en torno al 7%), a mala calidad seminal (en torno al 30%), o a reducida cantidad de espermatozoides por eyaculado (alrededor del 1%) (AIM Ibérica, estudio interno). El estudio de la relación entre la libido y estas causas de eliminación, junto con los valores productivos de los verracos medidos en términos de calidad y cantidad espermáticas durante su vida productiva, es uno de los objetivos de este proyecto. 🐷

BIBLIOGRAFÍA

- Aitken RJ, Jones KT, Robertson SA, 2012. Reactive oxygen species and sperm function—In sickness and in health. *Journal of Andrology* 33:1096-1106.
- Alkmin DV, Martínez-Alborcia MJ, Parrilla I, Vázquez JM, Martínez EA, Roca J, 2013. The nuclear DNA longevity in cryopreserved boar spermatozoa assessed using the Sperm-Sus-Halomax. *Theriogenology*. 79:1294-1300.
- Allrich RD, Christenson RK, Ford JJ, Zimmerman DR, 1982. Pubertal development of the boar: testosterone, estradiol-17 β , cortisol and LH concentrations before and after castration at various ages. *J Anim Sci*, 55:1139-1146.
- Allrich RD, Christenson RK, Ford JJ, Zimmerman DR, 1983. Pubertal development of the boar: age-related changes in testicular morphology and in vitro production of testosterone and estradiol17 β . *Biology of Reproduction* 28:902-909
- At-Taras EE, Berger T, McCarthy MJ, Conley AJ, Nitta-Oda BJ, Roser JF, 2006a. Reducing estrogen synthesis in developing boars increases testis size and total sperm production. *J Androl* 27:552-559.
- Audet, I., J.P. Laforest, G.P. Martineau, and J.J. Matte. 2004. Effect of vitamin supplements on some aspects of performance, vitamin status, and semen quality in boars. *J Anim Sci* 82:626-633.
- Boe-Hansen GB, Christensen P, Vibjerg D, Nielsen MBF, Hedeboe AM, 2008. Sperm chromatin structure integrity in liquid stored boar semen and its relationship with Field fertility. *Theriogenology*, 68:728-736.
- Bordignon V & Smith LC, 1999. Ultraviolet-irradiated spermatozoa activate oocytes but arrest pre-implantation development after fertilization and nuclear transplantation in cattle. *Biology of Reproduction*. 61:1513-1520.
- Broekhuijse ML, Feitsma H, Gadella BM, 2012, Artificial insemination in pigs: predicting male fertility. *Veterinary Quarterly*. 32:151-157.
- Caires KC, Schmidt JA, Oliver AP, De Avila J, McLean DJ, 2008. Endocrine regulation of the establishment of spermatogenesis in pigs. *Reprod Dom Anim* 43(Suppl. 2):280-287.
- Chenoweth P. 1981. Libido and mating behavior in bulls, boars and rams. A review. *Theriogenology* 16(2):155-177.
- Clark SG, Schaeffer DJ, Althouse GC. 2003. B-mode ultrasonographic evaluation of paired testicular diameter of mature boars in relation to average total of sperm numbers. *Theriogenology*, 60: 1011-1023.
- Colenbrander B, Feitsma H, Grooten HI. Optimizing semen production for artificial insemination in swine. 1993 *J Reprod and Fertil Suppl* 48:207-215.
- Davis DL, Hines RH, 1977. Scrotal measurements and visual scores of boar testicle size correlated with testicle weight. *Kansas Agr. Exp. Sta. Rep. of Progr.* No. 312, p.44.
- Didion BA, Kasperson KM, Wixon RL, Evenson DP, 2009. Boar Fertility and Sperm Chromatin Structure Status: A Retrospective Report. *Journal of Andrology*, 30:655-660.
- Enciso M, López-Fernández C, Fernández JL, García P, Gosálbez A, Gosálvez, J, 2005. A new method to analyze boar sperm DNA fragmentation under bright-field or fluorescent microscopy. *Theriogenology*. 65:308-316.
- Evenson DP. The Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®) and other sperm DNA fragmentation tests for evaluation of sperm nuclear DNA integrity as related to fertility. *Anim Reprod Sci* 2016 Feb 17 doi: 10.1016/j.anireprosci.2016.01.017.
- Fatehi AN, Bevers MM, Schoevers E, Roelen BAJ, Colenbrander B, Gadella BM, 2006. DNA damage in bovine sperm does not block fertilization and early embryonic development but induces apoptosis after the first cleavages. *Journal of Andrology*. 27:176-188.
- Ferreira CE, Sávio DB, Guarise AC, Flach MJ, Gastal GD, Gonçalves AO, Dellagostin OA, Alonso RV, Bianchi I, Corcini CD, Lucia T, 2014. Contribution of boars to reproductive performance and paternity after homospermic and heterospermic artificial insemination. *Reprod, Fertil and Develop* 27(7) 1012-1019.
- Fischer MA, Willis J, Zini A, 2003. Human sperm DNA integrity: correlation with sperm cytoplasmic droplets. *Urology*. 61:207-211.
- Flowers WL. 2008. Genetic and phenotypic variation in reproductive traits of AI boars. *Theriogenology* 70(8):1297-1303.
- Flowers WL, 2013. Triennial Reproduction Symposium: sperm characteristics that limit success of fertilization. *J Anim Sci*. 91:3022-3029.
- Ford J, Wise T, 2011. Assessment of pubertal development of boars derived from ultrasonographic determination of testicular diameter. Roman L. Hruska U.S. *Meat Animal Research Center*. Paper 164. <http://digitalcommons.unl.edu/hruskareports/164>
- Foxcroft GR, Patterson J, Cameron A, Dyck MK, 2010. Application of advanced AI technologies to improve the competitiveness of the pork industry. Proceedings of the 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, July 18-21. Pp 25-29.
- González-Marín C, Gosálvez J, Roy R, 2012. Types, causes, detection and repair of DNA fragmentation in animal and human sperm cells. *International Journal Of Molecular Sciences*. 13:14026-14052.