

## Variaciones que se producen en el contenido en las proteínas totales de esperma de bovinos con el almacenamiento

A. BIDOT FERNÁNDEZ Y R. DURAND DUANY

*Dpto. de Reproducción, Centro Nacional de Salud Animal,  
La Habana, Cuba*

*Recibido: 12 de febrero de 1976*

**ABSTRACT.** The study of sperm proteins is one of the most important problems actually, because of the importance of these in the spermatogenic quality and fertility. They are found in the spermatogenic cell and plasma. Some authors affirm that spermatogenic plasma contains 3 to 18% proteins. We have also found that the protein level diminishes during the conservation of bull semen due to enzymatic activity. Other authors have expressed that low temperatures diminish the metabolic process in sperm and elongate cell life. Our work consisted in determining if any inactivity of the proteins in the ejaculated semen is found after submitting samples of 59 bulls to low temperatures ( $-79^{\circ}\text{C}$ ) and determining their content 6, 30 and 54 hours after they were taken. The obtained values were compared by the paired test and we have found no significant difference on the results.

**RESUMEN.** El estudio de las proteínas en la esperma constituye, en la actualidad, uno de los problemas más importantes por el papel que las mismas desempeñan en la calidad espermática y por ende, en la fertilidad. Estas se encuentran tanto en la célula espermática como en el plasma seminal. Algunos autores afirman que el plasma seminal contiene del 3 a 18% de proteínas. También se ha encontrado que durante la conservación del semen de toro, disminuye el nivel de proteínas, debido a la actividad enzimática. Se ha expresado por otros autores que el frío disminuye los procesos metabólicos en la esperma y prolonga la vida a la célula. Nuestro trabajo consistió en determinar si se produce o no el proceso de inactividad de las proteínas del eyaculado al someter muestras de esperma correspondientes a 59 seminales bovinos a bajas temperaturas ( $-79^{\circ}\text{C}$ ), y determinar el contenido de las mismas a las 6, 30 y 54 horas posteriores a la recogida. Los valores obtenidos fueron comparados por el test de series apareadas no encontrándose diferencias significativas en los resultados.

## INTRODUCCION

La esperma contiene gran cantidad de proteínas, las cuales se encuentran tanto en el plasma seminal como en la célula espermática (*Mann, 1964*).

Estas proteínas se presentan simples y combinadas, representadas estas últimas por las lipoproteínas, glicoproteínas y nucleoproteínas.

El contenido proteico del eyaculado está relacionado íntimamente con la calidad del mismo y con su poder fecundante. Se han realizado múltiples estudios relacionados con la actividad metabólica y aprovechamiento proteico de la célula espermática. Martini, (1947) estudió la desaminación proteica que se producía en la esperma cuando ésta era sometida a incubación, siendo transformados los aminoácidos hasta ser convertidos en cetoácidos, otros autores como Wales, Scott y White, en 1961, comprobaron que el proceso de la proteolisis en el semen de toro incubado a 37°C, después de 3 horas, sufría variaciones que no eran significativas, llegando a la conclusión de que éste es un proceso lento.

Existen muchos agentes capaces de desnaturalizar las proteínas, haciéndoles perder su actividad. Entre éstos, y uno de los más importantes, está el calor (*King, 1968*).

Según Gassner y col.,(1958) durante la conservación del semen de toro disminuye el nivel de las proteínas en el semen debido a la actividad enzimática presente, encontrándose aminoácidos libres.

El frío disminuye los procesos metabólicos de la esperma y prolonga la vida a la célula. Cuando se disminuye la temperatura en el semen de bovinos por debajo de 10°C, se produce una disminución de la actividad vital al mínimo llegándose al estado de anabiosos del frío del eyaculado (*Szumowski, 1959*).

Nuestro trabajo estudia el comportamiento de la esperma a bajas temperaturas.

## MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron un total de 59 sementales bovinos, en buen estado de salud, con el mismo régimen alimentario y divididos en razas, al azar de la siguiente forma:

Holstein	51 sementales
Cebú	7 „
Criollo	1 „
	—
Total	59 sementales

Las muestras se obtuvieron por el método clásico de la vagina artificial. A las mismas se les determinó volumen, motilidad, densidad, millonaje, pH y contenido de proteínas totales a las 6, 30 y 54 horas posteriores a la recogida.

El volumen de esperma necesario se dividió en tres viales estériles y se congelaron inmediatamente después de la extracción a  $-79^{\circ}\text{C}$ .

El volumen se midió directamente del colector graduado. Para la motilidad se utilizó el método de observación directa al microscopio por medio de una gota de semen (0,01 ml aproximadamente) evaluándose la densidad por el sistema de las décimas y la motilidad por el porcentaje del movimiento rectilíneo.

El millonaje se obtuvo diluyendo una gota de semen en una solución patrón y leyendo en un espectrofotómetro, determinándose los valores por una Tabla.

El pH midió con un peachímetro portátil en el momento posterior a la recogida. Este equipo, marca Schlumberger, modelo SM-101-A está calibrado en décimas y es de gran estabilidad.

El método utilizado para hallar la concentración de proteínas totales fue el de Biuret.

## RESULTADOS

Se han calculado los estadígrafos de los distintos parámetros del total de animales, los cuales aparecen reflejados en la Tabla I.

Para el volumen, la cifra obtenida fue de  $6.02 \pm 1.87$ , para la motilidad de  $77.7 \pm 17.3$ , densidad de  $83.5 \pm 13.6$ ; millonaje de  $1115.5 \pm 312.9$  y para el pH fue de  $6.56 \pm 0.31$ .

TABLA I

*Estadígrafos Generales*

	Volumen	Motilidad	Densidad	Millonaje	pH
$\bar{X}$	6.02	77.7	83.5	1115.5	6.6
S <sup>2</sup>	3.49	297.8	184.7	97883.4	0.09
S	1.87	17.3	13.6	312.9	0.31
C.V	31.05	22.2	16.3	28.0	4.77
$\overline{S\bar{X}}$	0.34	3.15	2.5	57.1	0.06

Se calculó la concentración de proteínas totales, expresadas en mg/ml, a las 6,30 y 54 horas posteriores a la recogida, conservadas a  $-79^{\circ}\text{C}$ , las cuales aparecen expresados en la Tabla II.

TABLA II

*Concentración de proteínas totales (mg/ml) a las 6, 30 y 54 horas posteriores a la extracción a  $-79^{\circ}\text{C}$* 

Razas	6 horas	30 horas	54 horas
Holstein	64,9	66,4	67,4
Cebú	76,5	76,5	79,2
Criollo	58,5	54,0	57,0
Total	66,6	65,6	67,9

Los valores obtenidos para los 51 sementales de la raza Holstein, en los distintos tiempos de conservación fue: a las 6 horas, de 64.9 mg/ml a las 30 horas de 66.4 y a las 54 horas de 67.4.

Para el ganado Cebú (7 sementales), los valores fueron: a las 6 horas 76.5 a las 30 horas de 76.5 y a las 54 horas de 79.2.

Se estudió un solo criollo. Los resultados encontrados fueron: a las 6 horas, 58,5 a las 30 horas, 54.0 y a las 54 horas de 57.0.

Los totales encontrados fueron a las 6 horas, 66.6; a las 30 horas, 65.6 y a las 54 horas de 67.9.

En la Tabla III aparecen las comparaciones realizadas por el test de series apareadas no encontrándose diferencias significativas.

TABLA III

*Datos Apareados por Razas y Total*

Tiempo	Holstein	Cebú	Total
6/30	0.2855	0.0626	0.3921
6/54	0.0056	0.4073	0.1432
30/54	-0.5783	0.7943	-0.5545

\* Ninguna de las comparaciones realizadas fue significativa.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

Por ser el contenido proteico de la esperma uno de los principales factores que deben tenerse en cuenta a la hora de examinar la calidad de una muestra, será necesario hacer la valoración de la misma.

En la valoración proteica del eyaculado es preciso recordar que existen fermentos en éste capaces de transformarlo, dando como producto final, entre otros, urea, ácido úrico y amoníaco, sustancias tóxicas para la célula espermática. Algunas de las enzimas presentes en el plasma seminal pueden ser de origen intracelular (*Jeffree, 1957*).

Hemos encontrado en las comparaciones entre las concentraciones obtenidas en los tres tiempos de incubación, que los resultados no presentan variaciones significativas.

Los valores medios encontrados por Wales, Scott y White, en 1961, en una experiencia similar fueron de 68,0 mg/ml en el primer tiempo, y de 65,9

mg/ml a las 3 horas de incubación y los hallados por nosotros no difieren significativamente de los encontrados por estos autores (66.6; 65.6 y 67.9 mg/ml).

Hay evidencias de que los aminoácidos y las proteosas presentes en el plasma seminal juegan su papel en la supervivencia espermática.

Hemos observado además que los valores medios en el ganado Cebú son más altos que los encontrados en el ganado Holstein, aunque sólo estudiamos 7 sementales.

La concentración de proteínas más baja se halló en el semental criollo. Después de realizado el test estadístico de datos apareados se encontró que el contenido de proteínas de la esperma conservada durante 6, 30 y 54 horas posteriores a la recogida a  $-79^{\circ}\text{C}$ , no varió significativamente.

## REFERENCIAS

- GASSNER F., MASKEN J. F., HOPWOOD, M. L. AND MARTIN R. P. *Fed. Proc.*, 17, 51, 1958.
- JEFFREE G. M. *Biochem. Biophys. Acta.*, 23, 155, 1957.
- KUIG J. *Enzimología Clínica Práctica*, 1968.
- MANN T. *Biochem. of the sperm and of the male reprod. tract.* London, 1964.
- MARTINI J. Referido por Pérez y Pérez, F. *Resp. e Inst. Art. Gan.*, 1965.
- SZUMOWSKI P. *Rec. Med. Vet.*, 135, 937, 1959.
- WALES R. G., SCOTT T. W. AND WHITE J. G. *Aust. J. Exp. Biol. Med.*, 39, 455, 1961.