

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL LEGAL

**Evaluación de la calidad espermática del charal *Chirostoma*
(*Menidia*), de la Laguna de Cuitzeo, Michoacán.**

Prestadora del servicio social

Brenda Noemi Carrillo Colin

Matrícula:

2133027775

Asesor interno:

DR. Alejandro Ávalos Rodríguez

Núm. Económico: 26809

Asesor externo:

M en C. Jorge Antonio González Santos

Ced. 6824200

Lugar de realización: Laboratorio de Bioquímica de la Reproducción del DPAA de la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco.

Fecha de inicio: 23 de julio del 2018, fecha de término: 23 de Enero de 2019.

ÍNDICE

1.- RESUMEN	3
2.- INTRODUCCIÓN	3
3.-MARCO TEÓRICO	4
4.- OBJETIVOS	8
4.1.- Objetivo General	8
4.2.-Objetivos Particulares	8
5.- METODOLOGÍA	8
6.- ACTIVIDADES REALIZADAS	9
7.- OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS	9
8.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	9
9.- CONCLUSIONES	11
10.-RECOMENDACIONES	11
11.- BIBLIOGRAFÍA	12

1.- RESUMEN

El presente trabajo se realizó con la finalidad de obtener y evaluar la calidad espermática de charales *Chirostoma (Menidia)* de la laguna de Cuitzeo Michoacán, la evaluación de la calidad del espermatozoide en el pescado es muy importante ya que al conocer si los espermatozoides son viables podemos mejorar las metodologías de fecundación artificial, así como preservar los gametos para ser utilizados fuera de la temporada de reproducción, para ello se tomaron muestras de la laguna de Cuitzeo Michoacán todos los peces se manejaron según las directrices publicadas para la experimentación de peces en las Buenas Prácticas en la Producción Acuícola. Una vez ocurrida la activación del semen, se evaluaron los parámetros movilidad total (MT), movilidad progresiva (MP), el volumen promedio fue de $5.80 \pm 3.98 \mu\text{L}$, valor máximo 15 y mínimo 1 μL , en cuanto a la concentración espermática fue de $16.12 \pm 2.23 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$, máximo 19.11 ± 3.12 y mínimo $6.65 \pm 1.33 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$, el porcentaje de espermatozoides vivos fue de un 93.33 ± 4.23 , máximo 98 y mínimo 90, la movilidad progresiva fue de 88.24 ± 8.60 , máximo 95 y mínimo 85. La conservación de espermatozoide a corto plazo es una técnica sencilla y práctica que permite prolongar la disponibilidad de los espermatozoides en el manejo de los reproductores mediante la reducción de la manipulación y el estrés.

2- INTRODUCCIÓN

El género *Chirostoma (Menidia)* incluye a los charales y pescado blanco, pertenece a la Familia Atherinopsidae. El género es endémico de la República Mexicana, incluye 25 especies. El género habita en aguas dulces de México, aunque su origen es marino (Miller *et al.*, 2009).

Éstas a su vez, se dividen en dos grupos: los charales, de talla pequeña, de seis a 15 gramos y menos de 10 centímetros de longitud, y los peces blancos, entre 200 y 300 gramos, y 20 centímetros de largo, en promedio.

Desde tiempos prehispánicos, han representado una importante tradición de pesca artesanal en las culturas indígenas; entre los aztecas fueron un alimento indispensable para las comunidades ribereñas de los lagos y lagunas. Además de su importancia biológica y ecológica, han sido el sustento tradicional de comunidades pobres del país, la mayoría de ellas indígenas. Actualmente, con embarcaciones rudimentarias y redes en mal estado, a veces los pescadores logran colectar media cubeta de peces en “una jornada de trabajo”, señaló el doctor en biología, especialista en biotecnología acuícola y genética de poblaciones (Pineda *et al.*, 2015).

El consumo de pescado está en aumento en todo el mundo. El consumo per cápita de pescado ha aumentado de un promedio de 9,9 kg en la década de 1960 a 16,7 kg (equivalente en peso vivo) en 2006. Históricamente, más del 80% del pescado que se consume en el mundo proviene de la pesca de captura marina (Teletchea y Fontaine, 2014). Los charales han sido consumidos desde épocas prehispánicas, en la actualidad, el volumen de su captura ha disminuido por diversos motivos como la sobrepesca y la contaminación del hábitat, por lo cual es muy importante estudiar las poblaciones que quedan para conocer sus requerimientos ecológicos y alimenticios y poder plantear alternativas para su conservación (Fernández *et al.*, 2008).

3.- MARCO TEÓRICO.

3.1.- ASPECTOS REPRODUCTIVOS DEL CHARAL

La aparición de hembras maduras se da desde enero hasta septiembre y de machos maduros durante casi todo el año, permite suponer que esta especie tiene un amplio periodo reproductivo, prácticamente de todo el año, con un periodo de mayor intensidad en abril y mayo (Rojas, 2006).

En primavera machos y hembras liberan sus gametos al ambiente, en esa época Navarrete (2017) observó que el 50% de los peces estaban maduros sexualmente, lo cual repercute en una mortalidad alta debido al esfuerzo reproductivo que tienen que realizar los organismos. En verano continúa la reproducción de machos y

hembras en el ambiente, el 40% de los ejemplares estaban maduros sexualmente. En relación a la disminución de la actividad reproductiva, disminuye la mortalidad de *C. humboldtianum*. En otoño sigue la reproducción de *C. humboldtianum*, aunque en menor medida, ya que solo el 30% de los machos y hembras estaban maduros sexualmente. La mortalidad disminuye aún más ya que se reduce el número de desovadores muertos en el esfuerzo reproductivo. En invierno la reproducción cesa por completo y los organismos destinan su energía al crecimiento en longitud.

En machos los factores que influyen en la calidad del semen son diversos y dependen de las interacciones complejas. Estos factores se han dividido en cuatro tipos: efectos de las características biológicas (edad, peso y longitud), las condiciones (temperatura, fotoperíodo, alimento, indeseable, componentes y bienestar de los animales y la salud), la inducción artificial de desove, temporada de desove (recogida de semen) y el estrés (González *et al.*, 2016).

La recolección de semen en la mayoría de los teleósteos se hace bajo anestesia, ya que en algunos casos los organismos sufren de estrés durante el manejo, por lo que es necesario sacrificar para recoger la muestra. La administración de fármacos anestésicos en peces puede realizarse mediante dos métodos simples: en forma tópica o por métodos inyectables (Vargas, 2017). El semen se extrae a través de una ligera presión sobre los flancos del cuerpo en una dirección opérculo-caudal, y el procedimiento termina cuando el flujo es nulo, o cuando hay presencia de sangre (González *et al.*, 2016).

Sin embargo, este procedimiento varía según la especie, el tamaño y tipo de organismo. Por ejemplo, algunos autores recomiendan sacrificar el organismo para obtener los testículos debido al volumen limitado que se puede obtener con el método de masaje abdominal. Por otro lado, se puede estimular el gonopodium con movimientos en un arco de 180 ° hacia adelante y hacia atrás a partir de 7 a 10 veces, y mantener los delanteros gonopodium con un dedo, mientras que los lados de los peces se frotran simultáneamente con el pulgar y el índice de detrás del opérculo hasta que la base de gonopodium, a continuación, la muestra se obtiene (González *et al.*, 2016).

La mayoría de los espermatozoides de peces teleósteos presentan una estructura primitiva y carecen de acrosoma, por lo que fecundan los oocitos penetrando a través del micrópilo, una pequeña abertura (o varias, dependiendo de la especie) en las membranas del oocito que permite el contacto definitivo de las membranas de ambos gametos. En peces teleósteos de fecundación externa, los espermatozoides se encuentran inmóviles en el tracto genital del macho y son activados sólo después de tomar contacto con el medio acuoso ya sea en agua dulce, salobre y/o fluido ovárico. Regularmente, en cada especie varían: 1) los factores que activan la motilidad espermática, 2) la duración de ésta y 3) el patrón de actividad flagelar, lo que hace difícil transferir metodologías o protocolos de manejo de una especie a otra en forma exitosa.

La evaluación de la calidad del esperma en el pescado es muy importante ya que al conocer si los espermatozoides son viables podemos mejorar las metodologías de fecundación artificial, así como preservar los gametos para ser utilizados fuera de la temporada de reproducción. La conservación de esperma a corto plazo es una técnica sencilla y práctica que permite prolongar la disponibilidad de los espermatozoides en el manejo de los reproductores mediante la reducción de la manipulación y el estrés. Esta conservación puede ser de varias horas, días o años, dependiendo del objetivo que se requiere para utilizar, a su vez, la duración de la criopreservación de gametos dependerá de la temperatura de almacenamiento final y la elección del método a utilizar. Esta biotecnología facilita el cruce entre organismos mejorados; la fertilización en organismos fuera de fase en la maduración; la aplicación de programas de mejoramiento genético; la planificación de desove, evitando el desperdicio de los espermatozoides; además de optimizar las áreas productivas, con la disminución de los costes de producción (Peralta *et al.*, 2018). Pero aun la criopreservación de semen de peces es un campo relativamente nuevo, donde se ha avanzado poco a nivel comercial, pese a que ya se dispone de protocolos para diversas especies (Restrepo *et al.*, 2017).

Durante la criopreservación se han utilizado diversos tipos de antioxidantes de índole enzimática y no enzimática con el fin de proporcionar una mayor sobrevivencia espermática post-descongelación, los cuales favorecen la respuesta de variables como la motilidad, viabilidad e integridad del ADN y combaten el estrés oxidativo generado por el desbalance entre la producción y eliminación de las especies reactivas de oxígeno (ERO) durante los procesos de congelación y descongelación (Rodríguez *et al*, 2017).

También se utilizan diluyentes que están basados principalmente en la composición química del plasma seminal de cada especie pues se deben mantener inmóviles los espermatozoides por periodos cortos de tiempo. También pueden ser agregados otros compuestos como algún tipo de buffer y glucosa, entre otros (Valdebenito *et al*, 2009).

Algunos de los diluyentes utilizados en peces de tipo no enzimáticos son la vitamina C, lisina, cisteína, metionina, vitamina E, glutatión reducido, L-carnitina, ácido úrico, propóleo, MDPA, BHT, mezcla glutatión reducido y oxidado los cuales han logrado optimizar la función mitocondrial en los procesos de criopreservación de esperma (Rodríguez *et al*, 2017).

4.- OBJETIVOS

4.1.- OBJETIVO GENERAL

Obtener y evaluar la calidad espermática de charales *Chirostoma (Menidia)* de la laguna de Cuitzeo Michoacán.

4.2.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar los parámetros de porcentaje de espermatozoide vivos, movilidad progresiva, tiempo de movilidad postactivación con agua y porcentaje de anomalías del *Chirostoma (Menidia)*.

5.- METODOLOGÍA

5.1.- Colección de semen

Todos los peces se manejaron según las directrices publicadas para la experimentación de peces en las Buenas Prácticas en la Producción Acuícola (ICA, 2007).

Se obtuvieron muestras de la Laguna de Cuitzeo Michoacán, en épocas por fuera y dentro de la temporada de lluvias, bajo condiciones iguales de ambiente, manejo productivo y reproductivo. Para la colección del semen, los peces fueron anestesiados (MS-222®, Western Chemical, Inc.) para evitar el estrés y se colocaron individualmente sobre una toalla húmeda. Se cubrieron la cabeza y se retiró el exceso de agua de la zona ventral, alrededor del poro genital y mediante una leve presión craneo caudal, y se procedió a la extracción del semen en un tubo de 1.5 ml. La activación espermática será evaluada por microscopía (n E200, Nikon, Inc), ubicando sobre un portaobjetos, 1 µl de semen y 10 µl de agua.

5.2.- Evaluación del semen fresco

Una vez en el laboratorio, el semen de cada pez fue evaluado, empleando un microscopio de contraste de fase (Eclipse E200, Nikon, Inc.).

5.3.- Evaluación de la viabilidad.

La vitalidad espermática (VE) se evaluó mediante el uso de la tinción suprovital eosina-nigrosina, los espermatozoides que quedaron de color blanco fueron considerados como vivos y los de color rosa se consideraron como muertos.

La movilidad se evaluó usando un microscopio óptico de a 40 Xl

6.- ACTIVIDADES REALIZADAS.

Durante la realización del servicio social, además de las actividades planteadas se realizaron las siguientes: obtención de la talla y peso de charales en 18 hembras, así como el peso del desove.

7.- OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS

Todos los objetivos y metas planteadas en este servicio social, fueron realizados de una forma satisfactoria.

8.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los primeros resultados obtenidos fueron las tallas y pesos tanto de los charales machos como hembras, los cuales se muestran en las tablas 1 y 2.

Al realizar el espermograma de los charales, se encontró: en primer lugar la coloración del semen fue blanco con una consistencia pastosa, el volumen promedio fue de $5.80 \pm 3.98 \mu\text{L}$, valor máximo 15 y mínimo $1 \mu\text{L}$, en cuanto a la concentración espermática fue de $16.12 \pm 2.23 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$, máximo 19.11 ± 3.12 y mínimo $6.65 \pm 1.33 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$, el porcentaje de espermatozoides vivos fue de un 93.33 ± 4.23 , máximo 98 y mínimo 90, la movilidad progresiva fue de 88.24 ± 8.60 , máximo 95 y mínimo 85.

Tabla1.- longitud, peso y volumen del eyaculado

Longitud (mm)	Peso (g)	Eyaculado (μ l)
78.47	3.23	15
81.67	3.62	11
82.68	4.99	4
83.16	3.61	5
83.19	3.14	3
83.8	4.09	7
83.8	3.8	6
84.65	3.71	3
85.52	4.36	12
87.44	4.05	4
88.27	4.55	2
91.32	4.08	8
92.08	4.86	3
92.29	4.48	4
92.29	5.34	1
92.69	4.8	10
92.8	5.5	10
94.29	5.34	2
96.06	6.18	1
99.35	6.32	5
88.29 \pm 5.62	4.50 \pm 0.91	5.80 \pm 3.98

Tabla 2.- Longitud, peso antes del desove, peso después del desove y peso del desove en charal.

Longitud (mm)	Peso inicial (antes del desove en g)	Peso final (después del desove en g)	Peso de huevos desovados (g)
82.96	3.75	3.68	0.07
84.82	3.68	3.64	0.04
84.86	4.03	3.96	0.07
84.86	3.71	3.62	0.09
85.96	3.72	3.69	0.03
85.99	3.8	3.76	0.04
86.46	3.21	3.17	0.04
86.89	3.96	3.91	0.05
86.99	3.95	3.9	0.05
87.23	3.78	3.72	0.06
87.96	3.97	3.89	0.08
90.52	4.65	4.58	0.07

91.47	4.66	4.52	0.14
91.47	4.24	4.2	0.04
92.91	4.97	4.92	0.05
93.23	4.62	4.56	0.06
93.51	5.73	5.7	0.03
99.69	5.8	5.74	0.06
88.77+4.25	4.24+0.71	4.18+0.71	0.06+0.03

La morfología del espermatozoide determina la calidad espermática además es importante medir el volumen, viabilidad y motilidad, se ha observado la existencia de una correlación positiva entre los espermatozoides anormales y la disminución de fertilidad, debido a ello, su evaluación es esencial (Cabrita *et al.*, 2005; Ramírez-Merlano *et al.*, 2010; Bustamante-González *et al.*, 2016).

9.- CONCLUSIONES

Se pudo caracterizar algunos parámetros reproductivos como volumen de eyaculado, peso de desove y se realizó la evaluación de la calidad espermática de charales *Chirostoma (Menidia)* de la laguna de Cuitzeo Michoacán.

10.- RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar más estudios encaminados a conocer los principales factores ambientales que influyen sobre la ganancia de peso y madurez reproductiva de los charales, con miras a favorecer su producción y preservación.

11.- BIBLIOGRAFÍA

- Fernández E., Navarrete S., Rodríguez R. 2008. Alimentación De *Chirostoma Humboldtianum* (Valenciennes); (Pisces: Atherinopsidae) En El Estanque Jc En Soyaniquilpan, Estado De México.
- González B., González R., Rodríguez G., Cortés G. y Ávalos R., 2016, Methodologies for spermatoc evaluation in teleost.
- Gillan L, Evans G, Maxwell W. 2005. Flow cytometric evaluation of sperm parameters in relation to fertility potential. *Theriogenology*. 63(2):445-457.
- Miller R.R., W.L. Minckley y S.M. Norris, 2009. Peces dulceacuícolas de México. CONABIO, SIMAC. ECOSUR, Consejo de Peces del Desierto, México D.F., México.
- Navarrete S. N., 2017. *Chirostoma* (menidia): ecología y utilización como especie de cultivo en estanques rústicos. *BIOCYT Biología, Ciencia y Tecnología*, 10(39): 736-748, 2017 México
- Peralta M., Velasco S. y Retana O., 2018, Evaluation of sperm quality in adult white fish (*Chirostoma estor*) Jordan 1879, México.
- Pineda S., Gómez O, Montoya P., Toro R., Acevedo V., Restrepo B., 2015, Criopreservación de semen y calidad espermática en sabaleta *Brycon henni* (Pisces: Characidae) *Orinoquia*, 19(2)166-173.
- Ramalho-Santos J, Amaral A, Sousa A, Rodrigues A, Martins L, Baptista M, Mota P, Tavares R, Amaral S, Gamboa S. 2007. Probing the structure and function of mammalian sperm using optical and fluorescence microscopy. *Modern Research and Educational Topics in Microscopy* 394-402.
- Restrepo B., Montoya P., Arboleda C., 2017, Evaluación de Dos Crioprotectores y Tres Curvas de Congelación Programable en la Criopreservación de Semen de *Brycon henni* (Pisces: Characidae), *Rev Inv Vet Perú*; 28(3): 597-605.
- Restrepo G, Ocampo D, Velasquez A. 2013. Evaluación de la movilidad del semen criopreservado de caballos criollo colombiano por un Sistema analizador de clase. *Revista UDCA*. 16(2):445-450.

- Rodríguez M., Nivia A., 2017, Efecto de la adición de antioxidantes sobre la motilidad espermática post-criopreservación y fertilidad del semen de peces, Rev vet 28 (2): 157-164.
- Rojas .P.,2006. Aspectos reproductivos del “charal prieto” *Chirostoma attenuatum* (Meek, 1902) del lago de Pátzcuaro, Michoacán. Nuevas líneas de investigación en atherinópsidos de México.
- Teletchea F. y Fontaine P. 2014. Levels of domestication in fish: implications for the sustainable future of aquaculture, fish and fisheries, 2014, 15, 181–195, Nancy Francia.
- Valdebenito I., Fletcher C., Vera V., Fernández J., 2009, Factores fisicoquímicos que regulan la motilidad espermática en peces: aspectos básicos y aplicados. Una revisión, Arch. med. vet. v.41 n.2.
- Vargas V., 2017, Pez cebrá (*Danio rerio*) y anestesia. Un modelo animal alternativo para realizar investigación biomédica básica, Anest. Méx. vol.29.