

EFFECTES DE L'OBSCURITAT SOBRE LA QUALITAT DEL SEMEN DE MASCLES REPRODUCTORS PORCINS

S. Sancho, N. García-Gil, E. Badia, E. Pinart, M.D. Briz, J.E. Rodríguez-Gil*, T. Rigau*, M.J. Palomo*, J. Bassols i S. Bonet

Unitat de Biologia Cel·lular de la Reproducció, Institut de Tecnologia Agroalimentària, Universitat de Girona. Campus Montilivi, 17001 Girona.

* Unitat de Reproducció Animal, Departament de Patologia i Producció Animal, UAB. 08193 Bellaterra

RESUM

En el present treball s'estudien els efectes de l'obscuritat sobre la qualitat espermàtica de 10 mascles reproductors porcins postpuberals de raça *Landrace*. Els mascles van ser confinats, des dels 8 fins als 10 mesos d'edat, en una nau experimental en condicions de foscor absoluta i temperatura fixada a $20 \pm C$. Els ejaculats d'aquests mascles van ser recollits a un ritme de dues vegades per setmana sense períodes de repòs. L'avaluació de la qualitat espermàtica per cada mostra de semen s'ha realitzat mitjançant la determinació dels següents paràmetres: volum, pH, concentració, motilitat, vitalitat, resistència osmòtica dels acrosomes i morfologia espermàtica. Els resultats obtinguts indiquen que l'obscuritat induïx una davallada en la concentració espermàtica, en la vitalitat i en l'ORT 300 mOsmol, i un increment dels espermatozoides immadurs amb gota proximal i dels espermatozoides amb malformacions cefàliques i caudals. A més, es va observar una pèrdua de la libido en un 30 % dels mascles un mes i mig després del començament del fotoperíode experimental. Aquests resultats indiquen que l'obscuritat és un factor que altera l'activitat testicular.

RESUMEN

En el presente trabajo se estudian los efectos de la oscuridad sobre la calidad espermática de 10 machos reproductores porcinos postpuberales de raza *Landrace*. Los machos se confinaron, desde los 8 hasta los 10 meses de edad, en una nave experimental en condiciones de oscuridad absoluta y temperatura fijada a $20 \pm C$. Los eyaculados procedentes de estos machos fueron recogidos a un ritmo de dos veces por semana, sin periodos de descanso. La evaluación de la calidad espermática por cada muestra de semen se ha realizado mediante la determinación de los siguientes parámetros: volumen, pH, concentración, motilidad, vitalidad, resistencia osmótica de los acrosomas y morfología espermática. Los resultados obtenidos indican que la oscuridad total induce una disminución en la concentración espermática, en la vitalidad y en la ORT 300 mOsmol, y un incremento de los espermatozoides inmaduros con gota proximal y de los espermatozoides con malformaciones cefálicas y caudales. Además, se observó una pérdida de la libido en un 30 % de los machos un mes y medio después del comienzo del fotoperiodo experimental. Estos resultados indican que la oscuridad es un factor que altera la actividad testicular.

ABSTRACT

The aim of this study is to determine the effects of darkness on the sperm quality and sexual behaviour in 10 *Landrace* postpubertal boars. From 8 to 10 months of age, the males were housed in completely darkness at $20 \pm 1^{\circ}C$ of temperature. During this period, semen of these males was collected biweekly without interruption. The ejaculate volume, pH, sperm concentration, sperm motility, osmotic resistance of acrosomes and sperm morphology were analyzed for each semen sample. The results obtained indicate that total darkness induces a decrease of the sperm concentration, the vitality and the ORT 300 mOsmol. The ejaculates also showed increased frequencies of spermatozoa with cephalic and caudal abnormalities. Forty-five days after the beginning of the treatment 30% of the boars showed a completely lost of the libido. Data from the experiment indicate that absolute darkness affects testicular activity.

Key words: Ejaculate, Photoperiod, Semen, Sperm quality, *Sus domesticus*.

INTRODUCCIÓ

Hi ha diferents factors, tant biològics com ambientals, que alteren la funció reproductora del mascle porcí. Entre aquests factors cal destacar els següents: la raça, l'edat, el pes i la grandària dels testicles, el fotoperíode, la temperatura, la humitat relativa, el ritme d'extraccions i el règim alimentari. El factor ambiental més estudiat és la temperatura, la qual està molt relacionada amb l'estacionalitat i, per tant, també amb el règim de llum.

El porc domèstic (*Sus domesticus*) ha estat tradicionalment considerat com una espècie amb cicles poliestrals i capaç de reproduir-se durant tot l'any. Tot i això, s'ha demostrat que aquesta espècie, pel que fa a l'eficiència reproductiva, conserva quelcom de la influència estacional del seu ancestre, el porc salvatge (*Sus scrofa*), que presenta anestre en els mesos d'estiu i tardor (Mauget, 1987). Durant el període estival hi ha un augment de la infertilitat en porcs domèstics (Love, 1978); per tant, el fotoperíode i les elevades temperatures poden considerar-se els principals agents causals d'aquesta infertilitat estacional. Així mateix, el porc salvatge presenta la seva millor època de cria en períodes de dia curt (Mauget, 1987). Aquesta similitud entre les dues espècies porcines s'explica pel fet que són molt properes des del punt de vista filogenètic i evolutiu. Tot i que la domesticació ha modificat la resposta als factors ambientals, encara existeix una certa dependència ambiental de la reproducció en el porc domèstic (Mauget, 1987).

El ritme circadià de llum-foscó és el que estimula la síntesi de melatonina per part de la glàndula pineal, i són els nivells d'aquesta hormona els que actuen regulant la secreció hipotalàmica de GnRH que, a la vegada, actua sobre l'adenohipòfisi controlant la secreció de FSH i LH. Malgrat la controvèrsia existent, la hipòtesi més acceptada és que en el porc domèstic la síntesi i secreció de melatonina és estimulada a la fase de foscó i decreix a la fotofase (Brandt et al., 1986; Diekman et al., 1992; Minton et al., 1989). La intensitat crítica de lluminositat que indueix el ritme circadià de secreció de melatonina és d'uns 200-300 lux (Love, 1993) per tant, règims inferiors a 200 lux tenen el mateix efecte que les fases d'obscuritat.

La majoria d'estudis realitzats sobre fotoperíode se centren en els efectes que té un suplement de llum artificial, el qual simula el fotoperíode estival, en el desenvolupament del comportament sexual de mascles porcins prepuberals. Aquests mascles exposats a fotoperíodes llargs avancen l'entrada a la pubertat així com l'edat mínima d'inici d'una extracció de semen (Berger et al., 1980; Hoagland i Diekman, 1982; Mahone et al., 1979). Aquestes dades indiquen que un suplement de llum té un efecte accelerador de la pubertat en mascles reproductors porcins. Berger et al. (1980) consideren que mascles porcins prepuberals exposats a un fotoperíode llarg incrementen els nivells de libido sense afectar la qualitat del semen. No obstant, les concentracions en sèrum d'hormona lutenitzant (LH), hormona fol·lículoestimulant (FSH), testosterona i androstenodiona no són afectades pel suplement de llum (Hoagland i Diekman, 1982). D'altra banda, Lee et al. (1987) afirmen que la libido no presenta diferències entre mascles prepuberals exposats a llum natural i mascles prepuberals sotmesos a suplement de llum. Malgrat tot, aquest mateix autor observa que als 122 dies d'edat el grau de libido dels mascles exposats a suplement de llum tendeix a augmentar.

Quan mascles porcíns postpuberals són sotmesos a un suplement de llum artificial i a llum natural, no s'observen diferències significatives en les concentracions sèriques de LH i testosterona, així com en la qualitat del semen (Brandt i Diekman, 1985). D'altra banda, Buxadé (1984) afirma que el manteniment dels mascles en foscor absoluta i temperatura fixada provoca una disminució de la qualitat espermàtica.

Paterson et al. (1992) observen que, contràriament al que succeeix en ovelles, els porcs no són capaços de respondre a canvis sobtats de fotoperíode, sinó que el temps mínim de resposta fisiològica és d'un mes (Claus i Weiler, 1985). També s'ha observat que a la primavera, abans de la pujada de les temperatures, la qualitat del semen s'altera un mes després de l'increment de la fotofase (Paradell, 1985). Aquest fet suggereix que el fotoperíode afecta realment la qualitat espermàtica independentment de la temperatura.

Tot i que no és habitual, tampoc no és estrany que durant els mesos d'estiu els mascles es mantinguin en foscor absoluta per tal de pal·liar les conseqüències de les altes temperatures. La finalitat d'aquest estudi ha estat determinar l'efecte de l'obscuritat sobre la qualitat del semen de mascles reproductors porcíns. Els resultats obtinguts aporten noves dades que contribueixen a optimitzar el rendiment reproductiu dels mascles i a minimitzar l'efecte negatiu que tenen els mesos d'estiu sobre l'eficiència reproductiva a les explotacions porcínes.

MATERIAL I MÈTODES

Nau experimental

La nau que ha acomodat els mascles té una superfície de 100 m² i una alçada màxima de 3,5 m (figura 1). Un passadís central divideix aquest espai en dues files de 5 i 6 cel·les respectivament. En una de les cel·les s'hi ha col·locat un maniquí i aquesta cel·la ha estat usada com una zona reservada per a les extraccions de semen. La nau disposa de 6 finestres amb un mecanisme, tipus porticó català, que facilita el tancament opac. Sobre la cel·la del maniquí s'hi ha instal·lat una làmpada fluorescent que ha il·luminat tènuament només en el moment de la recollida de les mostres. Un sistema de climatització *Saunier Duval* SDCH165DRT i 3 termòstats d'ambient *Landis* han permès ajustar i fixar la temperatura ambiental a $20 \pm 1^\circ\text{C}$. A més, la nau ha estat arranjada per assolir un bon aïllament tèrmic i lumínic. En tot moment s'ha mantingut una humitat relativa del 60-75 %.

Mascles

Tots els mascles reproductors utilitzats en l'experimentació han estat testats i pertanyen a la raça *Landrace*. Deu mascles han estat confinats a la nau des dels 8 fins als 10 mesos d'edat. Cada un ha ocupat una cel·la individual i numerada. El ritme d'extracció de les mostres seminals ha estat de 2 vegades per setmana, sense períodes de repòs, i l'extracció s'ha fet pel mètode de la mà enguantada d'acord amb la tècnica descrita per Martín (1982) i Daza (1992). El semen ha estat filtrat per eliminar la tapioca. Abans d'instal·lar el fotoperíode experimental, els mascles havien estat entrenats a pujar al maniquí durant un període de 15 dies amb les finestres tancades, els porticons oberts i a una temperatura constant de $20 \pm 1^\circ\text{C}$.

Per cada extracció de semen s'ha determinat: volum, pH, concentració, motilitat, vitalitat, resistència osmòtica dels acrosomes i morfologia espermàtica.

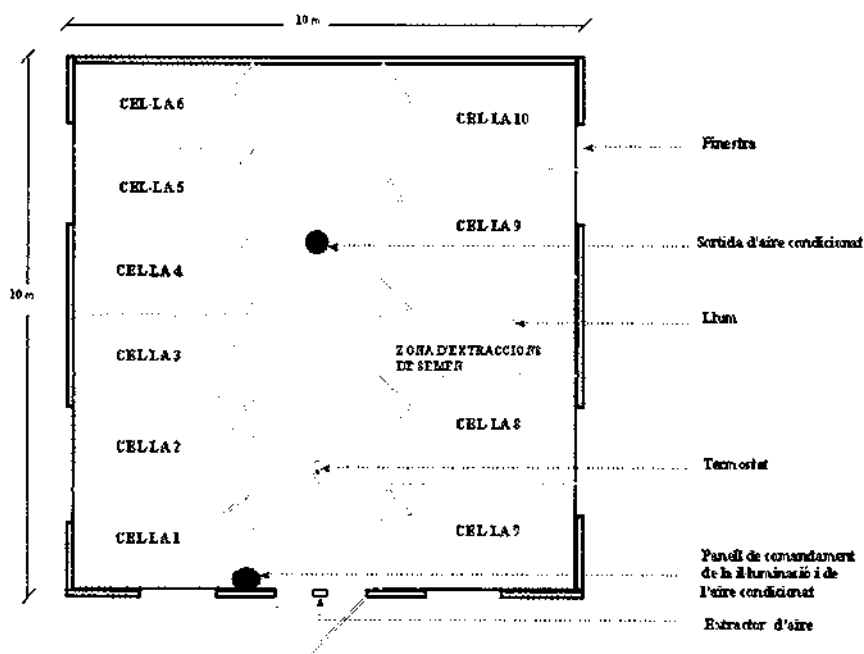


Figura 1. Representació esquemàtica de la nau experimental.

Transport i conservació del semen

La determinació del volum i del pH s'ha realitzat a les instal·lacions de la granja a partir de semen fresc conservat en una nevera *Magapor* ref. NT-30 a 37° C el mateix dia de l'extracció.

La resta de paràmetres han estat mesurats al laboratori, durant les 48 hores posteriors a l'extracció, a partir de semen diluït en BTS 1:10 (diluïent de Bestville) (Daza, 1992), transportat i conservat a 15 °C en una nevera *Magapor* ref. NT-30.

Volum i pH

El volum de cada ejaculat ha estat mesurat amb una probeta de 500 cc amb un rang de ± 5 cc.

El pH de cada ejaculació s'ha determinat amb un pH-metre *Cole Parmer* ref. pHTestr 3TM amb un rang de $\pm 0,1$ unitats de pH.

Concentració espermàtica

La concentració espermàtica de cada ejaculat s'ha determinat al microscopi òptic de contrast de fases *Zeiss-Jenaval* a 160X mitjançant la cambra de Makler (Briz, 1994; Ludwig i Frick, 1990; Pinart, 1997).

Motilitat espermàtica

L'avaluació de la motilitat espermàtica de cada ejaculat s'ha realitzat al microscopi òptic de contrast de fases *Zeiss-Jenaval* a 160X amb la cambra de Makler (Keel i Webster, 1990).

Vitalitat espermàtica

La valoració de la vitalitat espermàtica de cada ejaculat s'ha fet al microscopi òptic convencional de camp clar *Carton* a 400X a partir del recompte de 200 espermatozoides tenyits amb eosina-nigrosina d'acord amb els protocols proposats per Pomerol i Arrondo (1994) i Andolz i Bielsa (1995).

Resistència osmòtica dels acrosomes

La resistència osmòtica dels acrosomes (ORT) de cada ejaculat s'ha determinat al microscopi òptic de contrast de fases *Zeiss-Jenaval* fent un recompte de 200 espermatozoides a 250X després d'exposar les mostres d'esperma a l'acció de dues solucions de citrat sòdic, una d'isotònica (300 mOsmol) i una altra d'hipotònica (150 mOsmol) (Schilling i Vengust, 1987).

Morfologia espermàtica

Les diferents formes espermàtiques de cada ejaculat han estat observades a 500X al microscopi òptic de camp clar *Zeiss-Jenaval* mitjançant el mètode Panòptic Ràpid de QCA (Bonet et al., 1995). S'han fet recomptes de 1.000 espermatozoides distingint entre: espermatozoides madurs, espermatozoides immadurs amb gota proximal, espermatozoides immadurs amb gota distal, espermatozoides amb anomalies cefàliques de forma, de mida i de nombre, i espermatozoides amb malformacions caudals de forma, de mida i de nombre.

Anàlisi estadística

El procés espermatogènic en el mascle reproductor porcí és de 34 dies (Hughes i Varley, 1984); per aquest motiu les freqüències dels diferents paràmetres de cada ejaculació han estat contrastades en intervals d'un mes mitjançant el test t-Student amb un nivell de significació de 0,05.

RESULTATS

Els valors dels diferents paràmetres obtinguts durant els dos mesos de foscor continuada estan resumits a les taules 1, 2, 3 i 4.

El volum, la vitalitat, el percentatge d'espermatozoides madurs i el percentatge d'espermatozoides amb anomalies en la forma de la cua no es veuen alterats significativament durant tot el període de foscor. En el cas del pH, s'observa un resultat significatiu en comparar la segona i sisena setmanes ($p=0,0036$).

Quant a concentració, es detecten diferències significatives entre la primera i cinquena setmanes ($p=0,0492$) i entre la quarta i vuitena setmanes ($p=0,0417$). Malgrat les oscil·lacions dels valors mitjans de concentració, s'observa una tendència a

Paràmetres	1 ^a -5 ^a setmanes	2 ^a -6 ^a setmanes
Volum (ml)	182,83 ±14,51 - 191,83 ±12,05 (0,3218)	179,5 ±10,24 - 179 ±16,58 (0,49)
pH	7,05 ±0,04 - 7,17 ±0,05 (0,057)	7,02 ±0,05 - 7,27 ±0,05 (0,036)
Concentració espermàtica (espermatozoides/mm ³)	270.000 ±15.280 - 221.670 ±21.670 (0,0492)	255.000 ±30.960 - 236.670 ±25.780 (0,3294)
Motilitat espermàtica (%)	93,33 ±39,51 - 89,13 ±23,52 (0,1071)	93,92 ±38,26 - 87,57 ±35,63 (0,012)
Vitalitat espermàtica (%)		
Espermatozoides vius	90,59 ±3,4 - 92,67 ±2,6	92,2 ±3,7 - 90,1 ±3,3
Espermatozoides morts	9,41 ±3,4 - 7,33 ±2,6 (0,1808)	7,8 ±3,7 - 9,9 ±3,3 (0,2135)
ORT 300 mOsmol (%)		
Acrosomes normals	99,34 ±0,49 - 95,34 ±0,98	99,67 ±0,33 - 94,84 ±3,66
Acrosomes danyats	0,66 ±0,49 - 4,66 ±0,98 (0,0001)	0,33 ±0,33 - 5,16 ±3,66 (0,0127)
ORT 150 mOsmol (%)		
Acrosomes normals	66,25 ±14,09 - 56,84 ±9,06	82,5 ±3,56 - 59,59 ±8,16
Acrosomes danyats	33,75 ±14,09 - 43,16 ±9,06 (0,1437)	17,5 ±3,56 - 40,41 ±8,16 (0,0002)

Les dades són expressades com la mitjana ± l'error estàndard de la mitjana; n=10 per la 1a, 2a i 5a setmanes i n=7 per la 6a setmana. Els nivells de significació estan entre parèntesi.

Paràmetres	3a-7a setmanes	4a-8a setmanes
Volum (ml)	194 ±16,38 - 186,6 ±16,58 (0,3796)	250,2 ±76,43 - 184,4 ±10,58 (0,2093)
pH	7,17 ±0,1 - 7,2 ±0,04 (0,1748)	7,17 ±0,03 - 7,24 ±0,02 (0,0645)
Concentració espermàtica (espermatozoides/mm ³)	218,000 ±21,540 - 220,000 ±28,640 (0,4784)	272,000 ±9170 - 224,000 ±22490 (0,0417)
Motilitat espermàtica (%)	90,84 ±31,13 - 88,5 ±26,06 (0,1132)	92,3 ±40,57 - 85,88 ±45,08 (0,0584)
Vitalitat espermàtica (%)		
Espermatozoides vius	89,9 ±5,4 - 94,3 ±2,0	89,7 ±4,2 - 94,1 ±2,0
Espermatozoides morts	10,1 ±5,4 - 5,7 ±2,0 (0,0835)	10,3 ±4,2 - 5,9 ±2,0 (0,0504)
ORT 300 mOsmol (%)		
Acrosomes normals	95,5 ±1,45 - 94,8 ±1,16	93 ±4,5 - 95,6 ±1,3
Acrosomes danyats	4,5 ±1,45 - 5,2 ±1,16 (0,0067)	7 ±4,5 - 4,4 ±1,3 (0,1521)
ORT 150 mOsmol (%)		
Acrosomes normals	66,25 ±6,6 - 59,6 ±7,47	52,8 ±8,17 - 54,1 ±6,77
Acrosomes danyats	33,75 ±6,6 - 40,4 ±7,47 (0,107)	47,2 ±8,17 - 45,9 ±6,77 (0,4063)

Les dades són expressades com la mitjana ± l'error estàndard de la mitjana; n=10 per la 3a, i la 4a setmanes i n=7 per la 7a i 8a setmanes. Els nivells de significació estan entre parèntesi.

Taules 1 i 2. Evolució dels diferents paràmetres espermàtics durant els dos mesos de fosc absolut. Els valors es comparen a intervals d'un mes amb el test amb un nivell de significació del 0,05.

Morfologia espermàtica (%)	1a-5a setmanes	2a-6a setmanes
Madurs	81,42 ±5,75 - 82,5 ±0,95 (0,4342)	85,83 ±2,89 - 81 ±1,09 (0,0746)
Immadurs		
amb gota proximal	3,95±0,5 - 5,2 ±0,45 (0,0468)	3,03 ±0,26 - 6,16 ±0,25 (0,0001)
amb gota distal	2,21±0,3 - 3,85 ±0,47 (0,0063)	4,18±1,01 - 4,57 ±0,99 (0,3951)
Forma del cap	0,66±0,16 - 1,73 ±0,23 (0,0019)	0,74 ±0,11 - 1,15 ±0,25 (0,0841)
Mida del cap	0,3±0,03 - 0,36 ±0,07 (0,2117)	0,34 ±0,04 - 0,35 ±0,06 (0,4585)
Nombre de caps	0,15 ±0,03 - 0,58 ±0,01 (0,0016)	0,24 ±0,03 - 0,6 ±0,1 (0,0051)
Forma de la cua	2,04 ±0,48 - 3,46 ±0,7 (0,064)	0,06 ±0,02 - 0,04 ±0,009 (0,3159)
Mida de la cua	0,19 ±0,05 - 0,57 ±0,04 (0,0002)	0,57 ±0,08 - 0,70 ±0,11 (0,1906)
Nombre de cues	0 ±0 - 0,15 ±0,02 (0,0001)	0,02 ±0,01 - 0,22 ±0,05 (0,002)

Les dades són expressades com la mitjana ± l'error estàndard de la mitjana; n=10 per la 1a, 2a i 5a setmana i n=7 per la 6a setmana. Els nivells de significació estan entre parèntesi.

Morfologia espermàtica (%)	3a-7a setmanes	4a-8a setmanes
Madurs	83,83±2,7 - 81,6 ±1,86 (0,2654)	87,16 ±3,61 - 81,2 ±2,47 (0,4134)
Immadurs		
amb gota proximal	3,73 ±0,45 - 5,72 ±0,6 (0,0127)	4,52 ±0,71 - 6 ±0,51 (0,0722)
amb gota distal	3,15±0,26 - 4,58 ±0,68 (0,0339)	4,32±0,63 - 3,6 ±0,3 (0,1807)
Forma del cap	0,7 ±0,12 - 0,14 ±0,24 (0,0088)	1,17 ±0,13 - 1,64 ±0,14 (0,0203)
Midal del cap	0,24 ±0,04 - 0,42 ±0,05 (0,0184)	0,58 ±0,09 - 0,38 ±0,08 (0,0797)
Nombre de caps	0,28 ±0,07 - 0,44 ±0,07 (0,0935)	0,59 ±0,18 - 0,33 ±0,05 (0,1253)
Forma de la cua	0,33 ±0,64 - 0,48 ±0,14 (0,1711)	0,08 ±0,03 - 0,06 ±0,01 (0,3091)
Mida de la cua	0,59 ±0,13 - 0,71 ±0,13 (0,2769)	0,48 ±0,05 - 0,48±0,08 (0,4866)
Nombre de cues	0,07 ±0,03 - 0,23 ±0,03 (0,0093)	0,09 ±0,03 - 0,24 ±0,06 (0,0401)

Les dades són expressades com la mitjana ± l'error estàndard de la mitjana; n=10 per la 3a i la 4a setmanes i n=7 per la 7a i 8a setmanes. Els nivells de significació estan entre parèntesi.

Taules 3 i 4. Evolució dels diferents paràmetres morfològics durant els dos mesos de focor absoluta. Les freqüències obtingudes es comparen a intervals d'un mes amb el test amb un nivell de significació del 0,05.

la disminució, i així el valor mitjà de la primera setmana és 270.000/mm³ i el de la vuitena setmana 224.000/mm³.

A mesura que avança la situació experimental, la motilitat tendeix a davallar lleugerament. A la primera setmana, el percentatge d'espermatozoides mòbils és del 93,33 %, mentre que a la vuitena setmana és del 85,88 %. Només hi ha un resultat significatiu que correspon a la segona i sisena setmanes (p=0,012) tot i que el resultat de la quarta i vuitena setmanes és quasi significatiu (p=0,0584).

Es detecta un petit augment en les freqüències d'acrosomes danyats en medi isotònic (300 mOsmol) a mesura que s'avança en el tractament. La resistència osmòtica dels acrosomes en medi isotònic és significativa quan es comparen la primera i cinquena setmanes ($p=0,0001$), la segona i sisena setmanes ($p=0,0127$) i la tercera i setena setmanes ($p=0,0067$). La resistència osmòtica dels acrosomes en medi hipotònic (150 mOsmol) només presenta un resultat significatiu que correspon a la comparació de la segona i sisena setmanes ($p=0,0002$).

El percentatge d'espermatozoides immadurs amb gota proximal augmenta de forma significativa i gradual. El valor mig de la primera setmana és del 3,95 % i el de la vuitena setmana del 6 %. S'obtenen resultats significatius quan es comparen la primera i cinquena setmanes ($p=0,0468$), la segona i sisena setmanes ($p=0,0001$) i la tercera i setena setmanes ($p=0,0127$). Les diferències entre els valors de la quarta i vuitena setmanes són quasi significatives ($p=0,0722$).

La freqüència d'espermatozoides amb gota distal no varia de forma evident durant els dos mesos de fosc, tot i que hi ha dos resultats significatius entre la primera i cinquena setmanes ($p=0,0063$) i entre la tercera i setena setmanes ($p=0,0339$).

Les anomalies en la forma del cap dels espermatozoides s'incrementen clarament durant tota la fase de fosc, i així són del 0,66 % a la primera setmana i de l'1,64 % a la vuitena setmana. A excepció de la segona i sisena setmana ($p=0,0841$) la resta de comparacions donen diferències significatives: primera i cinquena setmanes ($p=0,0019$), tercera i setena setmanes ($p=0,0088$) i quarta i vuitena setmanes ($p=0,0203$).

Les freqüències dels espermatozoides amb anomalies en la mida del cap són significativament diferents quan es compara el valor mitjà de la tercera setmana amb el de la setena setmana ($p=0,0184$). Quan es contrasten els percentatges entre la quarta i vuitena setmanes, s'observen unes diferències quasi significatives ($p=0,0797$).

Quant a aberracions en el nombre de caps, s'observa un augment significatiu en comparar les freqüències entre la primera i cinquena setmanes ($p=0,0016$) i entre la segona i sisena setmanes ($p=0,0051$).

Pel que fa a les anomalies que afecten la mida de la cua, no s'han detectat diferències significatives durant tota la fase experimental, excepte en la comparació de la primera i cinquena setmanes ($p=0,0002$).

Les aberracions en el nombre de cues augmenten significativament durant tota la fase de fosc. A la primera setmana no es detecten aquest tipus de malformacions, mentre que a la vuitena setmana la freqüència és del 0,06.

DISCUSSIÓ

Un dels efectes més clars de l'obscuritat sobre els mascles reproductors porcins ha estat la pèrdua de la libido en un 30 % dels mascles un mes i mig després de l'inici del tractament. Al mateix temps, un altre mascle va mostrar resistència a pujar al maniquí; aquesta reacció també l'havien manifestada els mascles abans de variar el comportament sexual, la qual cosa indica que si el tractament hagués estat més llarg aquest mascle probablement hauria acabat perdent la libido. Tot i la controvèrsia existent, s'accepta la idea que un suplement de llum incrementa els nivells de libido

en l'etapa prepuberal (Berger et al., 1980), i aquest fet suggereix que períodes prolongats de foscort afecten negativament la libido fins al punt d'anul·lar-la.

Pel que fa a la qualitat del semen, Berger et al. (1980) observen que aquesta no es veu afectada quan mascles porcins prepuberals són exposats a un fotoperíode llarg. Quan mascles postpuberals són sotmesos a les mateixes condicions, tampoc no s'observen diferències significatives (Brandt i Diekman, 1985). Buxadé (1984), en canvi, afirma que mascles postpuberals sota condicions de llum superiors a 16 hores al dia pateixen una reducció del poder fecundant. Aquest mateix autor considera que el confinament dels mascles en absoluta foscort i a temperatura fixada provoca una davallada en el volum de l'ejaculació, en la concentració espermàtica, en la vitalitat, i un increment en el percentatge d'espermatozoides amb malformacions. Les dades obtingudes en aquest estudi demostren que hi ha molts més paràmetres que poden quedar afectats. En canvi, el volum i la vitalitat no varien significativament; no obstant, la mortalitat espermàtica tendeix a augmentar a partir de la sisena setmana. A diferència del que afirmen Claus i Weiler (1985), els resultats indiquen que el temps mínim de resposta al fotoperíode en porcí no és d'un mes per a tots els paràmetres. El pH varia significativament en les tres primeres setmanes, la qual cosa demostra que el temps de resposta mínima al fotoperíode és inferior a un mes.

La concentració espermàtica tendeix a disminuir durant el període experimental. Aquest paràmetre s'altera en la primera setmana de tractament; llavors els valors es fan no significatius fins a la setena setmana, i aleshores es tornen a notar els efectes negatius de la foscort.

La resistència osmòtica dels acrosomes en medi isotònic (300 mOsmol) comença a disminuir significativament a partir de la quarta setmana d'exposició a foscort. La freqüència d'acrosomes danyats en medi hipotònic (150 mOsmol) no experimenta canvis significatius, excepte a la segona setmana, i aleshores el valor d'acrosomes danyats es redueix fins a l'7,5 %.

El percentatge d'espermatozoides madurs no varia de forma significativa durant els dos mesos de tractament, però a partir de la quarta setmana la freqüència d'espermatozoides immadurs amb gota proximal augmenta gradualment.

Els factors externs alteren els diversos estadis de la morfogènesi espermàtica (espermatogènesi, espermiogènesi i maduració epididimària) (Barth i Oko, 1979); això explica que quan els mascles porcins són sotmesos a foscort augmenta el nombre de malformacions espermàtiques cefàliques i caudals.

Les anomalies en la forma del cap augmenten significativament i de manera gradual des de la primera setmana de tractament. D'altra banda, les aberracions en la mida i en el nombre de caps es veuen incrementades a partir de la sisena i tercera setmanes respectivament.

El nombre d'anomalies en la forma de la cua no s'altera amb la foscort. En canvi, la freqüència d'espermatozoides amb un nombre de cues anòmal augmenta progressivament des de la primera setmana del tractament. Les alteracions en la mida de la cua tenen lloc durant les dues primeres setmanes d'exposició a foscort; després els valors no varien de forma significativa.

En la fase d'obscuritat, la concentració de melatonina augmenta (Brandt et al., 1986; Diekman et al., 1992; Minton et al., 1989), i aquest fet provoca que les neuro-

nes monoaminèrgiques properes a l'hipotàlem secretin catecolamines i/o pèptids opioïdes que inhibeixen la síntesi i secreció hipotalàmica de GnRH. Això fa que els nivells de LH i FSH disminueixin i, per tant, l'activitat testicular es vegi minvada.

L'aportació de noves dades en un futur proper permetrà determinar l'efecte de la foscor sobre la motilitat i sobre el procés de maduració dels espermatozoides.

AGRAÏMENTS

Aquest estudi ha estat possible gràcies a Albert Sala, a Pere Miquel, SA, a l'empresa de selecció i multiplicació porcina Soragi, SL, que va cedir les instal·lacions i va subministrar els mascles, i molt especialment a Ramon Joher i Salvador González. El treball ha estat finançat per la CICYT (projecte AGF-98/0633).

Bibliografia

- ANDOLZ, P. i BIELSA, M.A. 1995. *Semen Humano*. Garsi. Madrid.
- BARTH A.D. i OKO R.J. (1989). *Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa*. Iowa State University Press. Ames. p. 285.
- BERGER, T.; MAHONE, J.P.; SVOBODA, G.S.; METZ, K.W. i CLEGG, E.D. 1980. Sexual maturation of boars and growth of swine exposed to extended photoperiod during decreasing natural photoperiod. *J. Anim. Sci.* 51:672-678.
- BONET, S.; BRIZ, M.; PINART, E.; CAMPS, R.; FRADERA, A. i CASADEVALL, M. 1995. Light microscopy characterization of sperm morphology. *Microscopy and Analysis*. 9:29-31.
- BRANDT, K.E. i DIEKMAN, M.A. 1985. Influence of supplemental lighting on serum LH, testosterone and semen quality in prepubertal and postpubertal boars. *Anim. Reprod. Sci.* 8:287-294.
- BRANDT, K.E.; DIEKMAN, M.A.; GREEN, M.L. i MALAYER, J.R. 1986. Lack of circadian rhythm in serum concentrations of melatonin in prepubertal gilts. *J. Anim. Sci.* 1 (supplement 63): 356.
- BRIZ, M.D. 1994. *Anàlisi Microscòpica de l'esperma ejaculada i de la maduració epididimària dels espermatozoides de Sus domesticus*. Tesi doctoral. Universitat de Girona.
- BUXADÉ, C.C. 1983. *Ganado Porcino*. Mundi-Prensa. Madrid.
- CLAUS, R. i WEILER, U. 1985. Influence of light and photoperiodicity on pig prolificacy. *J. Reprod. Fert.* 33 (supplement):185-197.
- DAZA, A. 1992. *Manejo de la Reproducción en el Ganado Porcino*. Aedos. Barcelona.
- DIEKMAN, M.A.; BRANDT, K.E.; GREEN, M.L.; CLAPPER, J.A. i MALAYER, J.R. 1992. Lack of nocturnal rise of serum melatonin in prepubertal gilts. *Dom. Ani. Endocr.* 9:161-167.
- HOAGLAND, T.A. i DIEKMAN, M.A. 1982. Influence of supplemental lighting during increasing daylength on libido and reproductive hormones in prepubertal boars. *J. Anim. Sci.* 55:1483-1489.
- HUGHES, P.E. i VARLEY, M.A. 1984. *Reproducción del Cerdo*. Acribia. Zaragoza.
- KEEL, B.A. i WEBSTER, B.W. 1990. *Handbook of the Laboratory Diagnosis and Treatment of Infertility*. CRC Press. Boca Ratón.

- LEE, K.H.; DIEKMAN, M.A.; BRANDT, K.E.; GRIEGER, D.M. i ALLRICH, R.D. 1987. Hormonal patterns of boars exposed to natural or supplemental lighting during pubertal development. *J. Anim. Sci.* 64:1110-1116.
- LOVE, R.J. 1978. Definition of seasonal infertility problem in pigs. *Vet. Rec.* 103:443-446.
- LOVE, R.J.; EVANS, G.; KLUPIEC, C. 1993. Seasonal effects on fertility in gilts and sows. *J. Reprod. Fert.* 48:191-206.
- LUDWIG, G. i FRICK, J. 1990. *Spermatology: Atlas and Manual*. Springer-Verlay. New York.
- MAHONE, J.P.; BERGER, T.; CLEGG, E.D. i SINGLETON, W.L. 1979. Photoinduction of puberty in boars during naturally occurring short daylengths. *J. Anim. Sci.* 48:1159-1164.
- MARTIN, R.S. 1982. *Reproducción e Inseminación Artificial Porcina*. Aedos. Barcelona.
- MAUGET, R. 1987. Reproductive Biology of the European Wild Boar. *Definition of the Summer Infertility Problem in the Pig*. Seren and Mattioli Eds. Commission of European Communities. Brussels, p. 107-119.
- MAUGET, R. i BOISSIN, J. 1987. Seasonal changes in testis weight and testosterone concentration in the European Wild Boar (*Sus scrofa L.*). *Ani. Reprod. Sci.* 13:67-74.
- MINTON, J.E.; DAVIS, D.L. i STEVENSON, J.S. 1989. Contribution of the photoperiod to circadian variations in serum cortisol and melatonin in boars. *Dom. Ani. Endocr.* 6:177-181.
- PARADELL, H. 1995. *Seasonal Infertility in Pigs*. Tesi doctoral. University of Aberdeen.
- PATERSON, A.M.; MARTIN, G.B.; FOLDES, A. ; MAXWELL, C.A. i PEARCE, G.P. 1992. Concentrations of plasma melatonin and luteinizing hormone in domestic gilts reared under artificial long of shortdays. *J. Reprod. Fert.* 94:86-95.
- PINART, E. 1997. *Efectes de la criptorquídia espontània abdominal sobre la qualitat espermàtica i l'estructura testicular dels mascles porcins postpuberals*. Tesi doctoral. Universitat de Girona.
- POMEROL, J.M. i ARRONDO, J.A. 1994. *Práctica Andrológica*. Masson-Salvat. Barcelona.
- SCHILLING, E.; VENGUST, M.; BAST, G. i TOMAC, M. 1986. *The Osmotic Resistance test (ORT) of Boar Spermatozoa and the Relation to Pregnancy Rate and Litter Size*. 9th Congress IPVS. Barcelona. P. 77.