

ESTUDIO DEL ESPERMATOZOIDE EN EL MACHO DE LA COLMENA DE «APIS MELLIFERA L.»

Egea de Prado, M.D. (*); Roy Pérez, T.J. (*); Cebrián Blázquez, J.E. (*); Masot Gómez-Landero, A.J. (**); Cardenal Galván, J.A. (***)

(*) Unidad de Obstetricia y Reproducción, Fac. Vet. Cáceres. (**) Unidad de Histología y Anat. Patológica. Fac. Vet. Cáceres. (***) Veterinario. Colaborador Fac. Veterinaria Cáceres. Facultad de Veterinaria de la UNEX, Carr. de Trujillo s/n. Cáceres - 10071.

INTRODUCCION

La abeja melífera es una especie zootécnica de importancia creciente en la cabaña ganadera, en la cual urge llevar a cabo un programa de selección y mejora de la raza ibérica, que ante todo, exige dominar las técnicas reproductivas utilizadas en el resto de los animales domésticos.

Los espermatozoides son producidos por el elemento masculino de la colmena, denominado **zángano** o macho, de cuerpo grueso y pesado, ojos voluminosos. Se encuentran en la colmena principalmente durante la primavera y verano, más tarde, progresivamente, se les excluye con violencia de la comunidad.

En la cópula toda la parte exterior de sus órganos genitales queda acoplada a la reina, muriendo después de realizado el acto sexual.

El estudio de las características del elemento fecundante masculino (espermatozoide), es de vital importancia a la hora de hacer selección y mejora en la producción ganadera.

Este hecho adquiere especial relevancia en el macho de las abejas, el zángano, debido al escaso protagonismo que se le ha dado en la reproducción del colmenar.

Los órganos genitales están situados en el abdomen, plegados en forma de S dorsal y ventralmente a ambos lados del intestino.

Los testículos, en número par, se encuentran en la zona antero-dorsal del abdomen, debajo del polo anterior de las glándulas accesorias. Siendo en machos maduros, un apéndice aplastado a las vesículas seminales de apenas 1,5 mm. de longitud, ya que la migración de los espermatozoides se produce antes de la eclosión, presentando su máximo grosor durante el estado de ninfa (RUTTNER, F. 1976).

El vaso deferente se inicia en la cavidad testicular, presentando un ensanchamiento en su porción media, denominado vesícula seminal, después se curva en forma de U hacia adelante, penetrando en la base de la glándula mucosa.

La glándula mucosa está sumamente desarrollada en el macho maduro, desarrolladas a partir del extremo basal del canal deferente. Las partes derecha e izquierda se unen en su base para formar un solo cuerpo sólido.

El canal eyaculador asegura la relación entre el canal deferente y el bulbo del endofalo.

El macho que acaba de eclosionar, todavía no es maduro, sin embargo, ya se ha producido la migración del esperma a las vesículas seminales, que se encuentran repletas de espermatozoides con las cabezas fijadas en el epitelio secretor y las colas en la luz de la glándula, permaneciendo en reposo.

Entre los machos con edades de 9 a 12 días, solamente un pequeño número emite esperma después de la estimulación mecánica, aunque los órganos reproductores sean histológicamente maduros, obteniéndose mejores resultados con machos de 30 a 40 días.

El mucus tiene una coloración blanco puro, mientras que el esperma es de color cremoso, siendo más oscuro y viscoso cuanto mayor es el número de espermatozoides, con un pH entre 6,8 y 7,1.

El espermatozoide de la abeja es largo, tiene forma de fibrilla sumamente fina, de 240 a 775 μ m de longitud y 0,5 μ m de diámetro y posee una cabeza extremadamente pequeña, presentando tendencia a fijarse por la cabeza a las superficies lisas, mientras que su cola flota libremente en el

medio, describiendo movimientos eliocoidales, que dan al líquido espermático un aspecto marmóreo.

La cantidad de esperma y la concentración producidas por los machos es variable, dependiendo sobre todo de los métodos empleados y de la época del año, siendo el volumen medio de alrededor de 1 mm^3 (RUTTNER, F., 1988), con una concentración próxima a los 5 millones (estimación con hemocitómetro).

Estudio morfológico del espermatozoide

Constan de las siguientes partes:

* Cabeza. Muy pequeña, contiene un núcleo cilíndrico y alargado que ocupa casi toda ella, y que lleva todas las características genéticas transmitidas por los zánganos. Es difícil de apreciar al microscopio, siendo, en relación con el cuerpo, menor que la de los espermatozoides de los mamíferos.

* Cuello. Es una estrecha banda citoplasmática.

* Cola. Representa el 80%-90% de la longitud total del espermatozoide y le proporciona el movimiento; contiene 9 fibrillas.

Anomalías del espermatozoide

Se señala en la bibliografía consultada una media del 21% de espermatozoides anormales en los eyaculados, indicándose la presencia de 9 formas anormales (WOYKE, J., 1978). La más frecuente es la presencia de espermatozoides en bucle, enrollados en anillo o doblados sobre su cola.

MATERIAL Y METODOS

Para el estudio de los espermatozoides, los machos fueron recogidos en la colmena a última hora de la mañana y diseccionados a primera hora de la tarde, lo que dio lugar a una permanencia en el laboratorio de aproximadamente 4 horas.

A la hora de hacer la disección, observamos y anotamos previamente las características vitales de los machos, calificándolos en: muertos, con poca vitalidad y con buena vitalidad (Foto 1).

1. Recogida del material seminal y contaje

Realizamos la obtención de los espermatozoides del zángano adulto, mediante la extracción de las vesículas seminales, previa disección del abdomen, asegurándonos de estar ante un macho maduro, por la coloración de las mismas, color crema en el zángano fértil y transparente en el infértil (Foto 2).

Las vesículas seminales se clasificaron en:

- Buenas: cuando tenían un color crema nítido, de tamaño grande y pared distendida.

- Regulares: si se alteraba alguna de las características anteriores.

- Malas: cuando presentaban un color pálido y transparente, de pequeño tamaño y apariencia vacía.

Posteriormente se procedió a la maceración de una de las vesículas con 0,1 c.c. de suero fisiológico, tomando una gota y observándola sobre un porta al microscopio óptico para ver la motilidad masal (Foto 3) que calificamos de 0 a +++:

0: sin movimiento.

+: ondas débiles y en poca cantidad.

++: ondas apreciables.

+++: gran cantidad de ondulaciones fuertes en todo el campo que le dan el aspecto marmóreo.

En esta misma preparación, observamos también la densidad, con variaciones, de:

DD: muy denso.

D: denso.

SD: semidenso.

R: ralo.

A: sin espermatozoides.

Posteriormente añadimos 0,4 c.c. de suero fisiológico, agitamos y ponemos una pequeña gota entre porta y cubre para observar la motilidad individual, calificándola por el tipo de movimiento que presentaban los espermatozoides:

0: no se movían.

1: oscilaciones apenas apreciables.

2: oscilaciones ténues.

3: plegaduras sobre sí mismos.

4: movimientos giratorios.

5: movimientos giratorios violentos.

Después tomamos una gota de dilución y procedemos a la extensión, fijación y realizamos la tinción morfológica de Ballesteros, usando como colo-

rante «cristal violeta», para ver formas anormales (Foto 4).

Seguidamente en la dilución añadimos una gota de una solución acuosa de eosina, para proceder al recuento de los espermatozoides en la cámara cuenta-glóbulos de Bürker, realizando el contaje de 30 cuadrados grandes.

La segunda vesícula se incluyó en una solución formolada al 20% durante 48 horas para su posterior fijación, corte y tinción con hematoxilina-eosina, para ver sus características histológicas (Fotos 5 y 6).

RESULTADOS Y DISCUSION

Las condiciones vitales de los machos utilizados en esta experiencia fueron: un 21,4% estaba muerto cuando se realizó la disección, el 64,3% tenía poca actividad y el 14,3% presentaba actividad normal (Fig. n° 1).

La experiencia se realizó en los meses de junio y julio, recogiendo diariamente 10 zánganos, estudiando un total de 150 machos, procedentes del colmenar experimental instalado en la Facultad de Veterinaria de Cáceres.

Presentando los zánganos una longitud total que iba desde 1,5 a 2 cm. y una longitud de abdomen entre 0,7 y 0,9 cm.

Posteriormente tras la disección y aislamiento de las vesículas seminales, observamos que el 50% de ellas se podían considerar como de buena calidad, el 28,6% se calificaron como regulares y el 21,4% eran malas (Fig. n° 2).

Con respecto a la motilidad en masa, el 28,6% no presentaba motilidad, el 21,4% era para la calificación de \pm , el 28,6 para + y el 21,4% para ++, no presentándose en ningún caso la que pudiera considerarse de +++ (fig. n° 3).

Al observar la motilidad individual, nos encontramos que el 27,3% no presentaba motilidad, el 9,1% fue para el valor 1, el 36,4%, para el 2, el 9,1% para el 3 y el 18,2% fue para la calificación de 4 (Fig. n° 4).

En el recuento de espermatozoides mediante la cámara de Bürker, encontramos una concentración media de $60,51 \times 10^9$ espermatozoides por mililitro, mayor a la obtenida por SCHLEY en 1987, que fue de $1,8$ a $1,5 \times 10^9$ espermatozoides/ml.

Los espermatozoides tienen forma de filamentos o fibras muy delgadas. Para un total de 200 espermatozoides medidos, obtuvimos un valor medio de 245,9 μ .

El recuento de formas anormales, previa tinción morfológica de Ballesteros, nos dio un porcentaje de 13,5% menores a las obtenidas por VEKEY en 1976, que fue del 21% de espermatozoides anormales en los eyaculados, indicándose la presencia de 9 formas anormales.

RESUMEN

Para el estudio de los espermatozoides del zángano de «*Apis Mellifera L.*», se realizó la disección de 150 machos, de los cuales, tras 4 horas fuera de la colmena, solamente el 14,3% presentaba una actividad normal, el resto tenía poca vitalidad o había muerto.

Al realizar la disección de los mismos, el 50% de las vesículas seminales se podía catalogar, por su aspecto, como buenas. Posteriormente se maceraron y diluyeron con suero fisiológico, procediéndose a la valoración de la motilidad, siendo en la motilidad de masa un 28,6% para la calificación de + y el 21,4% para las ++, dando el mayor porcentaje (36,4%) el valor 2, en la motilidad individual, con oscilaciones ténues de los espermatozoides.

La concentración se realizó mediante la cámara de Bürker, dando una media de $60,51 \times 10^9$ espermatozoides/ml. y un porcentaje de normalidad, previa tinción morfológica de Ballesteros, del 86,5%. Siendo su longitud media total de 245,9 μ .

BIBLIOGRAFIA

- RUTTNER, F. (1976). «The instrumental insemination of the queen bee», 2nd ed. Apimondia, Bucharest. 123 pp.
- RUTTNER, F. (1988). «Sexualité et reproduction». pp. 145-183.
- SCHLEY, P. (1987). «The density of spermatozoa as a criterion for testing drone material». Biene. 124 (11) pp. 540-542.
- VEKEY, A. (1976). «Variaciones morfológicas de los espermatozoides de *Apis Mellifera*». Bucharest.
- WOYKE, J., and JASINSKI, Z. (1978). «Influence of age of drones on the results of instrumental insemination of honeybee queens». Apidologie 9, pp. 203-212.

SUMMARY

To study the spermatozoids from *apis mellifera*'s drone, 150 males are dissected, 14,3% of which rested active after 4 hours off the hive, the rest being inactive or died.

At dissection, 50% of seminal vesicles were considered adequate by ocular inspection. After maceration and suspension in physiologic saline, motility

was evaluated, finding a mass motility of calification + on the 28,6% and of calification ++ on de 21,4%, and individual motility of value 2 on the 36,4%, with thin oscillation of spermatozoids.

Concentration was verified on the Bürker's chamber, with a mean of $60,51 \times 10^9$ spermatozoids/ml. Normality percentage after Ballesteros morphologic stain was 86,5%, being the mean overall length 245,9 μm .

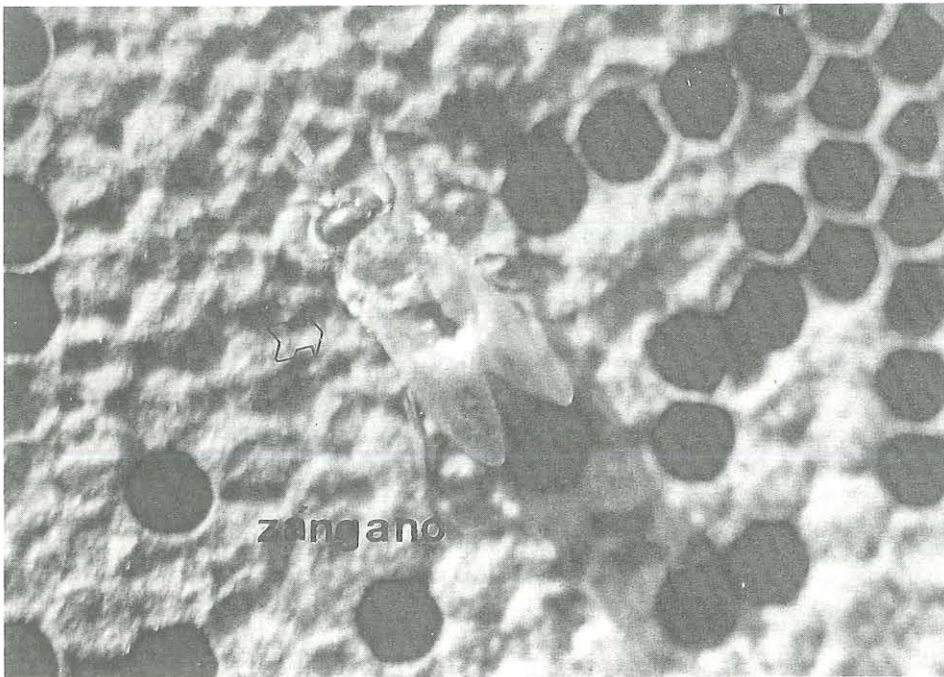


Figura 1:

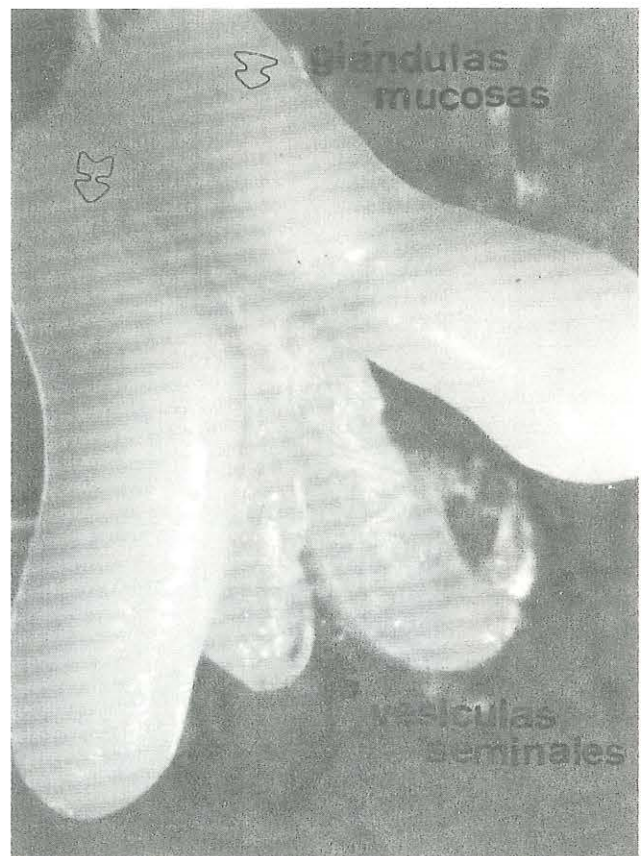


Figura 2:

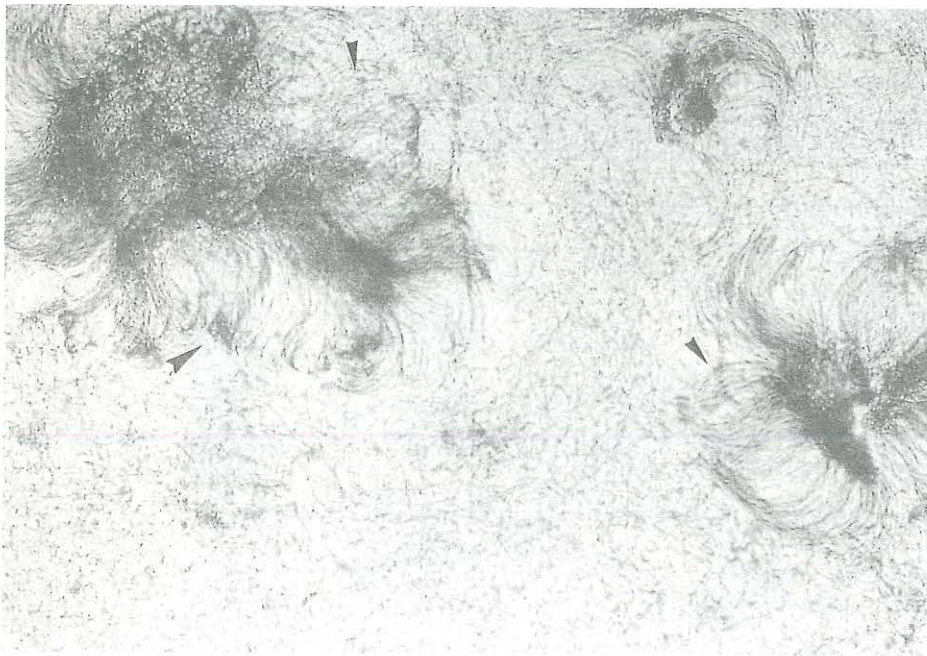


Figura 3:

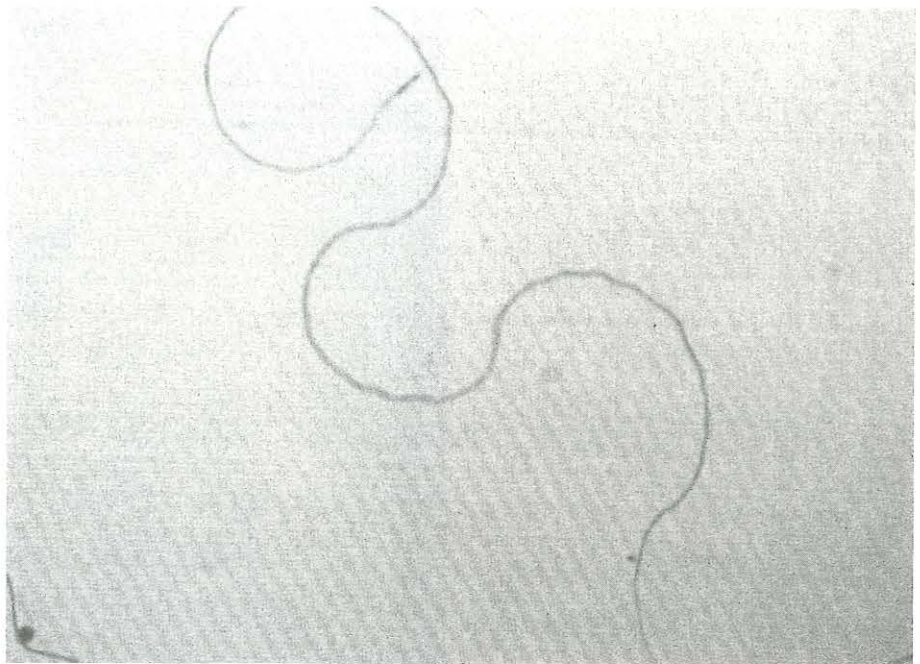


Figura 4:

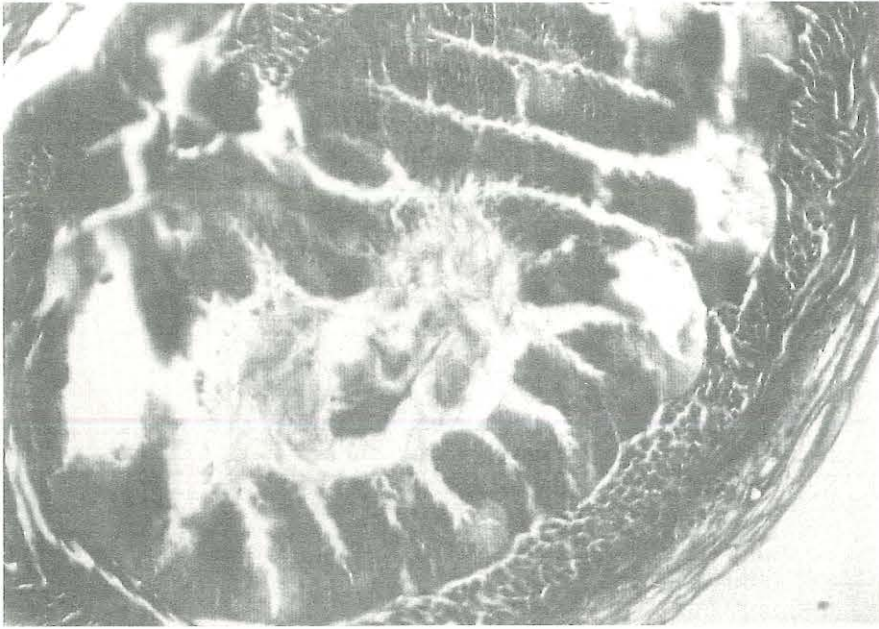


Figura 5:

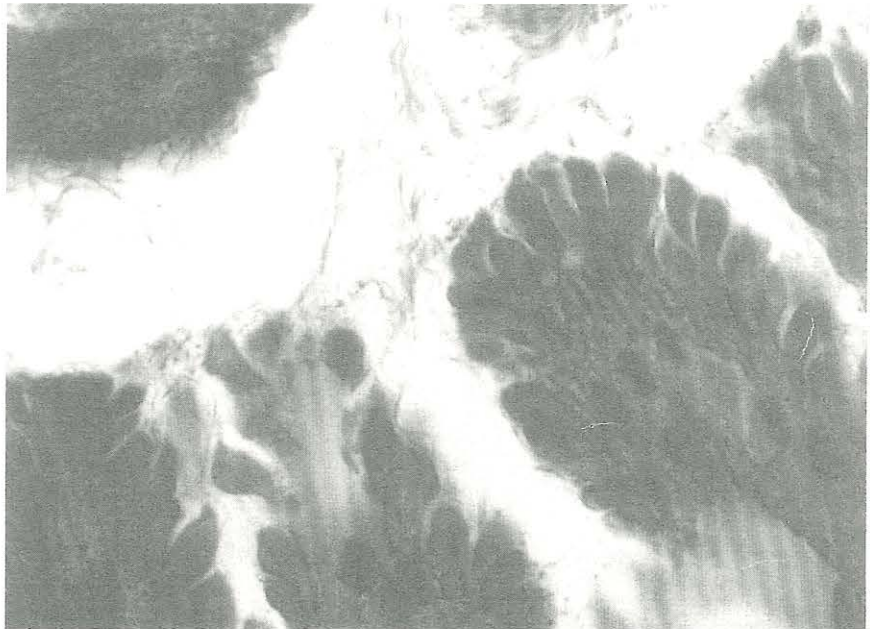


Figura 6: