

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA

ESCUELA DE INGENIERÍA EN AGRONOMÍA

INFORME FINAL DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**Protaminas: Evolución y papel en la protección del ADN
espermático, formación de la cabeza y funcionamiento celular
(PROTASPERM)**

Código del proyecto: 5402-2151-1016

Autores:

Dr. Anthony Valverde Abarca, Ph.D
(Investigador principal)

Ing. Francisco Sevilla Benavides, Lic.
(Investigador)

San Carlos, Alajuela, Costa Rica, marzo, 2025

Informe final is licensed under CC BY-NC-ND 4.0

Tabla de contenido

1. Código y Título del Proyecto	1
2. Autores y direcciones.....	1
3. Resumen	2
4. Palabras clave	2
5. Abstract.....	3
6. Keywords.....	3
7. Contenido del informe	4
- Presentación del informe final de investigación	4
- Artículos publicados	4
- Artículos aceptados para publicación.....	5
- Artículos sometidos a revistas indexadas	5
- Comunicación a congreso derivadas del proyecto.....	5
- Artículos científicos en proceso de envío	6
- Trabajos finales de graduación derivados del proyecto	6
8. Recomendaciones.....	7
9. Agradecimientos	7

1. Código y Título del Proyecto

Protaminas: Evolución y papel en la protección del ADN espermático, formación de la cabeza y funcionamiento celular (PROTASPERM)

Código del proyecto: 5402-2151-1016

2. Autores y direcciones

- 1- Dr. Anthony Valverde Abarca, Ph.D, anvalverde@itcr.ac.cr, Investigador principal, coordinador. Instituto Tecnológico de Costa Rica.
- 2- Ing. Francisco Sevilla Benavides, Lic., f.sevilla@itcr.ac.cr, investigador colaborador. Instituto Tecnológico de Costa Rica.

Colaboradores externos:

- 1- Eduardo Roldán (Department of Biodiversity and Evolutionary Biology, National Museum of Natural Sciences, Spanish National Research Council (CSIC), Madrid, Spain)

3. Resumen

Los gametos masculinos son primordiales para los procesos de reproducción animal. Los espermatozoides deben emprender un largo viaje para llegar al ovocito y participar en la fecundación. El éxito en este esfuerzo depende de la estructura y función de los espermatozoides. Los machos fabrican espermatozoides en los testículos, seguidos de un procesamiento posterior en el epidídimo lo que implica una serie de cambios a nivel molecular y fisiológicos de los espermatozoides. Una vez en el tracto femenino, el espermatozoide experimenta cambios adicionales en preparación para la fertilización, tiempo durante el cual la protección del ADN es primordial. Después de la fertilización, las protaminas se eliminan y se reemplazan por histonas, y el ADN se repara dentro de la capacidad del ovocito, y el espermatozoide activa el desarrollo del embrión. Las protaminas, por lo tanto, juegan un papel crucial en la serie de eventos que terminan en la fertilización y también son importantes para el desarrollo y el bienestar de la descendencia. Por esto, el propósito general del proyecto era comprender la evolución y el papel de las protaminas en la formación y función de los espermatozoides de mamíferos. Por esto se evaluó el rendimiento espermático sobre la cinética de la natación y su relación con las subpoblaciones que existen dentro de un eyaculado, así como la determinación del efecto de las protaminas en la formación de estos gametos. La caracterización de estos roles tanto en lo que respecta a su evolución como a su función, conduciría a una mejor comprensión de la fertilidad y permitiría realizar pruebas diagnósticas precisas y un mejor pronóstico y tratamiento mediante evaluaciones predictivas confiables de la fertilidad animal y, finalmente, contribuye a aprender sobre el impacto de los factores ambientales y el estilo de vida en la integridad del ADN y los efectos en las generaciones futuras. Los sistemas computarizados, a través de estimaciones objetivas permiten obtener una numerosa cantidad de datos que contribuyen al estudio de la conformación de los eyaculados en especies de interés productivo y han sido clave para determinar diferentes agrupaciones dentro de estos. El estudio de los parámetros de movilidad, cinética, morfología, integridad del ADN espermático, la actividad mitocondrial permite explicar y predecir la fertilidad potencial de los reproductores. Esto permite aportar información para la comprensión de la calidad seminal y la selección de mejores reproductores, además de optimizar los procesos de preparación de dosis seminales y por consiguiente obtener mejores rendimientos para los sistemas agropecuarios.

4. Palabras clave

Reproducción animal, andrología, fisiología, biología celular.

5. Abstract

Male gametes are essential for animal reproduction processes. The sperm must undertake a long journey to reach the oocyte and participate in fertilization. Success in this endeavor depends on the structure and function of the sperm. Males manufacture sperm in the testicles, followed by further processing in the epididymis, which involves a series of changes at the molecular and physiological level of the sperm. Once in the female tract, the sperm undergoes additional changes in preparation for fertilization, during which time DNA protection is paramount. After fertilization, protamine's are removed and replaced with histones, and DNA is repaired within the oocyte's capacity, and sperm triggers embryo development. Protamine, therefore, plays a crucial role in the series of events that end in fertilization and are also important for the development and well-being of the offspring. Therefore, the overall purpose of the project was to understand the evolution and role of protamine's in the formation and function of mammalian sperm. For this reason, sperm performance on swimming kinetics and its relationship with the subpopulations that exist within an ejaculate were evaluated, as well as the determination of the effect of protamine's on the formation of these gametes. Characterizing these roles, both regarding their evolution and function, would lead to a better understanding of fertility and allow for accurate diagnostic testing and better prognosis and treatment through reliable predictive assessments of animal fertility, and ultimately contribute to learning about the impact of environmental factors and lifestyle on DNA integrity and the effects on future generations. Computerized systems, through objective estimates, allow obtaining a large amount of data that contributes to the study of the conformation of ejaculates in species of productive interest and have been key to determining different groupings within them. The study of the parameters of motility, kinetics, morphology, integrity of sperm DNA, and mitochondrial activity allows us to explain and predict the potential fertility of the broodstock. This allows us to provide information for the understanding of seminal quality and the selection of better broodstock, as well as optimizing semen dose preparation processes and consequently obtaining better yields for agricultural systems.

6. Keywords

Animal reproduction, andrology, physiology, cell biology.

7. Contenido del informe

- Presentación del informe final de investigación

De acuerdo con el documento “Normativas para la gestión de proyectos de investigación y extensión”, ...

6.9 Procedimiento para la entrega de informes finales de proyectos de investigación y extensión pendientes ante la VIE, en el punto f se menciona lo siguiente:

“f. En aquellos casos que la Dirección de Proyectos considere calificados (en los que se demuestre el cumplimiento de todos los objetivos del proyecto), se podrán aceptar como alternativos al documento 1 del informe final, otros productos tales como:

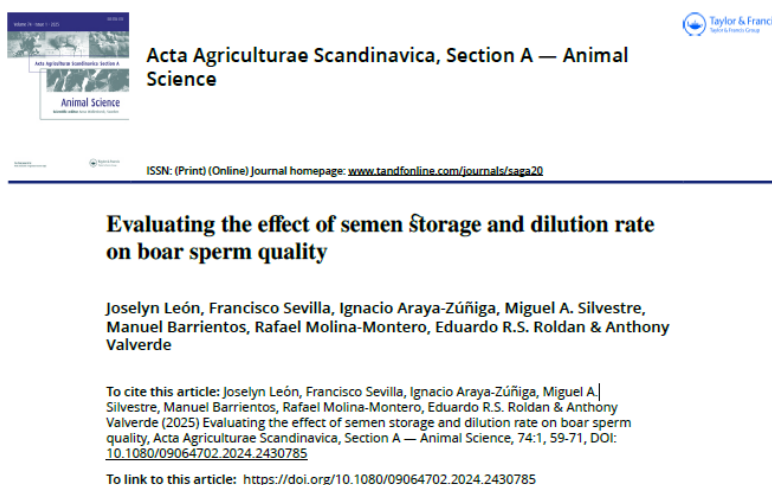
- Documentación que evidencie la consecución de patentes de invención u otros productos protegibles. VIE-CIE/5-10-2018 Elaborado por el Consejo de Investigación y Extensión*
- Artículos científicos en proceso de aprobación por una revista indexada o ya publicados.*
- La creación de un dispositivo, software, equipo u otra evidencia física que sintetice el producto pretendido en el proyecto.*

El documento 2 será obligatorio para todos los casos” (La cursiva no es del original).

Debido a esto, se presentará el informe final del proyecto de investigación adjuntando información y evidencias relacionadas como alternativa para el documento 1 del informe final requerido. **De este proyecto se derivan un total de de 14 productos académicos, y 2 trabajos finales de grado de estudiantes del Instituto Tecnológico de Costa Rica.**

- Artículos publicados

Artículo científico 1. Evaluating the effect of semen storage and dilution rate on boar sperm quality (<https://doi.org/10.1080/09064702.2024.2430785>). OE 1 y OE 2.



Tomado de: [Evaluating the effect of semen storage and dilution rate on boar sperm quality: Acta Agriculturae Scandinavica, Section A — Animal Science: Vol 74 , No 1 - Get Access](https://doi.org/10.1080/09064702.2024.2430785)

- **Artículos aceptados para publicación**

Artículo científico 2.

Variaciones en la estructura subpoblacional cinemática del semen criopreservado de ganado lechero. OE 2. Enviado a Revista Agronomía Mesoamericana el 10 de diciembre de 2024. Aceptado para publicación el 26 de febrero de 2025.

- **Artículos sometidos a revistas indexadas**

Artículo científico 3.

Subpopulation dynamics of cryopreserved alpaca semen obtained from the deferent vas and post-copulation (Dinámica subpoblacional del semen criopreservado de alpaca obtenido de conductos deferentes y post copula). OE 1 y 2. Enviado a Revista Archivos de Zootecnia el 12 de febrero de 2025.

Artículo científico 4.

Evaluación morfológica y morfométrica de espermatozoides de camélidos sudamericanos mediante la tecnología CASA. OE 1 y 2. Enviado a Revista Analecta Veterinaria el 12 de febrero de 2025.

Artículo científico 5.

Efecto del gradiente de centrifugación sobre la calidad espermática de eyaculados porcinos criopreservados. OE 2. Enviado a Revista Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences el 07 de diciembre de 2024.

Artículo científico 6.

Efecto de la criopreservación del semen de verraco sobre la funcionalidad de la membrana plasmática del espermatozoide. OE 1. Enviado a Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú (RIVEP) el 08 de diciembre de 2024.

Artículo científico 7.

Effect of age on Brahman cattle sperm swimming patterns and morphometrics in the tropics. OE 1. Enviado a Revista Acta Veterinaria el 20 de diciembre de 2024.

- **Comunicación a congreso derivadas del proyecto**

Ponencia 1. FACTORES DE VARIACIÓN EN LOS MÉTODOS DE ESTIMACIÓN OBJETIVA DE LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA EN SEMEN PORCINO. Presentado como comunicación oral en el XXIV Simposio Iberoamericano CONBIAND Veracruz y Boca del Río, Ver (México) 2023, [http://conbiand.site/wp-content/uploads/2024/01/Libro de Abstracts CONBIAND 2023.pdf](http://conbiand.site/wp-content/uploads/2024/01/Libro_de_Abstracts_CONBIAND_2023.pdf). OE 2.

Ponencia 2. EVALUACIÓN DE LA MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA DE VERRACOS REPRODUCTORES EN REGIONES TROPICALES. Presentado como comunicación oral en el XXIV Simposio Iberoamericano CONBIAND Veracruz y Boca del Río, Ver (México) 2023, [http://conbiand.site/wp-content/uploads/2024/01/Libro de Abstracts CONBIAND 2023.pdf](http://conbiand.site/wp-content/uploads/2024/01/Libro_de_Abstracts_CONBIAND_2023.pdf). OE 1.

Ponencia 3. DIFERENCIAS MORFOLÓGICAS Y CINEMÁTICAS DEL SEMEN DE VERRACO EN SEIS LÍNEAS GENÉTICAS BAJO CONDICIONES TROPICALES. Presentado como comunicación oral en el XXV SIMPOSIO IBEROAMERICANO CONBIAND SOBRE CONSERVACIÓN Y UTILIZACIÓN DE RECURSOS ZOOGENÉTICOS (CONBIAND 2024), <https://hdl.handle.net/2238/15682>, OE 1 y OE 2.

Ponencia 4. CONSERVACIÓN DE GERMOPLASMA DE VENADO COLA BLANCA (*Odocoileus virginianus veraecrucis*) POSTMORTEM. Presentado como comunicación oral en el XXV SIMPOSIO IBEROAMERICANO CONBIAND SOBRE CONSERVACIÓN Y UTILIZACIÓN DE RECURSOS ZOOGENÉTICOS (CONBIAND 2024), <https://hdl.handle.net/2238/15682>, OE 2.

Ponencia 5. Enviada. Machine Learning-based Classification of Spermatid Steps for the Objective Analysis of Spermiogenesis and its Underlying Molecular Mechanism. OE 1 y OE 2. Congress of the American Society of Andrology & International Congress of Andrology (29 de marzo a 01 de abril de 2025). Enviado el 20 de octubre de 2024.

- **Artículos científicos en proceso de envío**

1. Effect of initial ejaculate quality on post-thawing variables in boar semen. Se enviará a la Revista Veterinary World.
2. Effect of age and scrotal circumference on sperm morphology in Brahman bulls. Se enviará a la Revista Czech Journal of Animal Science.

- **Trabajos finales de graduación derivados del proyecto**

TESIS DE GRADO 1.

Optimización de las dosis seminales para inseminación artificial en líneas maternas y paternas de porcinos. Estado: Leída.

Estudiante Joselyn León Pérez, Carrera de Ingeniería en Agronomía.

El trabajo completo se publicará en el Repositorio del Instituto Tecnológico de Costa Rica.

TESIS DE GRADO 2.

Diseño e implementación de un sistema para el análisis de morfología espermática de células de bovino en el Laboratorio de Reproduccion Animal del Campus Tecnológico Local San Carlos.

Estado: Leída.

Estudiante Luis Josué Céspedes Alpízar, Carrera de Ingeniería en Electrónica.

El trabajo completo se publicará en el Repositorio del Instituto Tecnológico de Costa Rica.

8. Recomendaciones

El trabajo multidisciplinar es necesario para el desarrollo de actividades de investigación. La colaboración externa de centros de investigación favorece al cumplimiento de los objetivos propuestos. La participación de estudiantes como asistentes especiales y/o estudiantes de posgrados potencializa los trabajos que se realizan en el Instituto Tecnológico de Costa Rica, y principalmente prepara nuevos profesionales que se destacan por su capacidad de análisis, pensamiento crítico y trabajo en equipo.

Se recomienda favorecer los estudios multidisciplinarios y que involucren estudiantes para la ejecución de las actividades.

9. Agradecimientos

Se agradece a la Vicerrectoría de investigación y extensión del Instituto Tecnológico de Costa Rica, al Department of Biodiversity and Evolutionary Biology, National Museum of Natural Sciences, Spanish National Research Council (CSIC), Madrid, Spain y al Programa de Proyectos de I+D+i», en el marco del Programa Estatal de Generación de Conocimiento y Fortalecimiento Científico y Tecnológico del Sistema de I+D+i y del Programa Estatal de I+D+i Orientada a los Retos de la Sociedad, del Plan Estatal de I+D+i 2017-2020 y el Proyecto de Investigación de referencia PID2019-108649GB-I00, título: PROTAMINAS: EVOLUCION Y PAPEL EN LA PROTECCION DEL ADN ESPERMATICO, FORMACION DE LA CABEZA Y FUNCIONALIDAD CELULAR.