ITEA (2003), Vol. **Extra N.º 24.** Tomo I, 336-338

DIFERENCIAS EN LA CONGELABILIDAD DEL SEMEN DE DOS LINEAS DE CONEJO.

Eva Mocé, José S. Vicente, Raquel Lavara
U.P.V.-Departamento de Ciencia Animal: Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción.
Camino de Vera, s/n. 46071-Valencia
e-mail: jvicent@dca.upv.es

INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial ha permitido un gran avance en la mejora de la cabaña ganadera ya que el eyaculado de un macho de elevado valor genético puede ser utilizado en un gran número de hembras. Debido a que el semen en estado líquido sufre un rápido deterioro en su capacidad fecundante (Vishwanath y Shannon, 1997), es necesario el desarrollo de diluyentes y protocolos de congelación adecuados que permitan prolongar su tiempo de vida útil. A pesar de que para la congelación se seleccionan los eyaculados que presentan mejores características, son varias las especies en las que se ha observado una elevada variabilidad en la calidad seminal post-descongelación entre individuos (en cerdos, Medrano y col., 2002; en caballos, Amann y Pickett, 1987; en toros, Parkinson y Whitfield, 1987; en conejos, Chen y col., 1989; en perros, Yu y col., 2002), así como entre razas o líneas (en cerdos, Thurston y col., 2002; en ratones, Nakagata y Takeshima, 1993).
El objetivo de este trabajo es estudiar la capacidad fecundante del semen congelado de dos líneas de conejos (una seleccionada por velocidad de crecimiento y la otra seleccionada por caracteres maternales).

MATERIAL Y MÉTODOS

Los animales utilizados pertenecían a tres líneas de conejos; dos de ellas fueron seleccionadas por tamaño de camada al destete (líneas A y V, Estany y col., 1989) y la tercera fue seleccionada por velocidad de crecimiento desde el destete hasta el sacrificio (línea R, Estany y col., 1992).
Los machos utilizados pertenecían a las líneas V y R, y las hembras utilizadas pertenecían al cruce entre las líneas A y V.
El semen fue recuperado con ayuda de una vagina artificial, siendo descartados aquellos eyaculados con coloraciones anómalas. Se tomaron las siguientes medidas en el semen fresco: volumen, concentración, producción, motilidad subjetiva, porcentaje de espermatozoides con acrosomas no dañados y porcentaje de espermatozoides anormales.
Sólo fueron utilizados para la congelación los eyaculados que presentaban más del 70% de espermatozoides móviles. Todas las manipulaciones del semen se realizaron a temperatura ambiente. El semen fue diluido hasta obtener una concentración de 120 millones de espermatozoides/ml con un diluyente constituido por Tris-ácido cítrico-glucosa (Viudes de Castro y col., 1999); posteriormente, se realizó una dilución 1:1 con el diluyente de congelación (diluyente Tris-ácido cítrico-glucosa, al que se añadieron 3,5M de DMSO y 0,1M de sacarosa como crioprotectores, Vicente y Viudes de Castro, 1996). Tras la dilución, se procedió al envasado del semen en pajuelas de plástico de 0,5ml (IMV, Francia), siendo selladas con plastilina. El protocolo de congelación empleado consistió en 45

minutos a 5ºC seguido de la congelación de las pajuelas en un congelador a -30ºC durante 30 minutos (Mocé y col., 2003). La descongelación se realizó en baño de agua a 50ºC durante 10-12 segundos.
Tras la descongelación, se estimó el porcentaje de espermatozoides móviles de forma subjetiva y se evaluó el porcentaje de espermatozoides con acrosoma no dañado.
Fueron inseminadas un total de 216 hembras multíparas entre los meses de marzo y junio. Solamente se inseminaron las hembras receptivas (vulva de color rojo) y se emplearon 30 millones de espermatozoides totales/hembra (0,5 ml de semen descongelado/hembra), utilizando cánulas de vidrio (de 0,5cm de diámetro). Para inducir la ovulación, se inyectó intramuscularmente 1 μg de acetato de buserelina (Hoechst Marion Roussel, S.A., Madrid) a la vez que se realizó la inseminación.
El diagnóstico de gestación se realizó por palpación abdominal 12 días tras la inseminación. En el momento del parto, se anotó el número de gazapos nacidos totales y nacidos vivos.
El porcentaje de hembras gestantes y el porcentaje de hembras que parieron, se analizó mediante un análisis de Chi cuadrado (Statgraphics Plus). Para analizar si existían diferencias entre líneas genéticas de machos en el número de gazapos nacidos totales y nacidos vivos, se realizó un GLM (SAS) incluyendo la línea genética del macho como efecto fijo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de fertilidad y prolificidad, así como los resultados de calidad seminal tras la descongelación para los machos seleccionados por velocidad de crecimiento y maternales se encuentran resumidos en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados obtenidos tras la inseminación con semen congelado de machos maternales y de crecimiento.

Tipo de macho	Motilidad (%) (LSM ±e.e)	NAR (%) (LSM ±e.e.)	Nº ♀	Fertilidad (nº)	Fertilidad a parto (nº)	Nacidos totales/ parto (LSM ±e.e.)	Nacidos vivos/parto (LSM ±e.e.)
V	40±4	58±3[a]	99	50%[a] (49)	47%[a] (46)	8.0±0.52[a]	7.4±0.57[a]
R	29±4	39±3[b]	117	21%[b] (24)	16%[b] (19)	5.1±0.82[b]	4.1±0.88[b]

LSM±e.e.: Least square means ± error estándar. [a, b]: valores en la misma columna con diferentes superíndices son estadísticamente diferentes (P<0.01).

Tras la inseminación con semen congelado de conejos pertenecientes a la línea seleccionada por velocidad de crecimiento, los resultados obtenidos fueron peores que los observados tras la inseminación con semen congelado de machos maternales. Vicente y col., (2000), observaron ligeras diferencias tras la inseminación con semen fresco entre estas dos líneas de conejos en fertilidad (75% vs. 79% para las líneas R y V, respectivamente), y diferencias significativas en número de gazapos nacidos totales (10,3 vs. 11,2 nacidos totales/parto para las líneas R y V, p<0,05) y número de gazapos nacidos vivos (9,8 vs. 10,9 nacidos vivos/parto, p<0,05 para las líneas R y V, respectivamente). Las diferencias observadas en este trabajo podrían responder al menor porcentaje de motilidad y espermatozoides con acrosomas no dañados que se observan en la línea R; en vacuno, Saacke y White (1972) observaron correlaciones significativas entre el

porcentaje de espermatozoides con acrosomas no dañados tras 2 horas de incubación a 37°C y la fertilidad. Por otra parte, parece que existen diferencias en la sensibilidad del semen de diversas líneas al mismo protocolo de congelación; en cerdos, Johnson y col. (1981) observaron diferencias en la fertilidad a parto entre dos razas de cerdos (58,6 vs 40,9 fertilidad a parto para el semen congelado de machos de la raza Dutch Large White y Dutch Landrace, respectivamente) y Nakagata y Takeshima (1993) observaron diferencias en la motilidad y la fertilidad entre semen congelado de dos líneas de ratón. Recientemente, Thurston y col. (2002) observaron diferencias en la calidad del semen post-descongelación entre tres razas de cerdos (Landrace, Large White y Duroc), obteniendo el semen de mejor calidad para los machos de la raza Landrace y el de peor calidad para los machos de la raza Duroc.

Las diferencias entre la calidad y capacidad fecundante del semen de estas dos líneas de conejos podría estar determinado genéticamente. En otras especies, se ha sugerido que las diferencias observadas entre razas o líneas a la crioconservación podrían ser debidas a diferencias en las propiedades de las membranas espermáticas, que serían determinadas genéticamente (Yu y col., 2002). En porcino, han sido incluso identificados dieciséis marcadores genéticos que podrían explicar diferencias en la congelabilidad del semen entre individuos (Thurston y col., 2002).

En conclusión, existen diferencias en la resistencia a la congelación del semen de dos líneas de conejos (una de ellas seleccionada por velocidad de crecimiento y la otra por caracteres maternales) que podrían estar determinadas genéticamente. Los protocolos de congelación desarrollados no parecen ser óptimos para todas las líneas de una misma especie, por lo que sería necesario diseñar procedimientos de congelación adecuados para el semen de animales pertenecientes a diferentes líneas.

BIBLIOGRAFIA

Amann, R.P., Pickett, B.W. 1987. Equine Vet. Sci., 7: 145-173.

Chen, Y., Li, J., Simkin, M.E., Yang, X., Foote, R.H. 1989. Biol. Reprod., 41: 848-853.

Estany, J., Baselga, M., Blasco, A., Camacho, J. 1989. Livest. Prod. Sci., 21: 67-75.

Estany, J., Camacho, J., Baselga, M., Blasco, A. 1992. Genet. Sel. Evol., 24: 527-537.

Johnson, L.A., Aalbers, J.G., Willems, C.M., Sybesma, W. 1981. J. Anim. Sci. 52:1130-1136.

Medrano, A., Watson, P.F., Holt, W.V. 2002. Reproduction, 123: 315-322.

Mocé, E., Lavara, R., Vicente, J.S. 2003. Anim. Reprod. Sci., 75: 107-118.

Nakagata, N., Takeshima, T. 1993. Exp. Anim., 42: 317-320.

Parkinson, T.J., Whitfield, C.H. 1987. Theriogenology, 27: 781-797.

Saacke, R.G., White, J.M. 1972. Proceedings of the 4th National Association of Animal Breeders Technical Conference on Artificial Insemination and Reproduction, 23-27.

SAS 1997. SAS /STAT User`s Guide (Release 6.03). SAS Inst, Cary, NC.

STATGRAPHICS PLUS 4.1. 1994-1999.

Thurston, L.M., Siggins, K., Mileham, A.J., Watson, P.F., Holt, W.V. 2002. Biol. Reprod., 66: 545-554

Vicente, J.S., Viudes de Castro, M.P. 1996. Reprod. Nutr. Dev., 36: 485-492

Vicente, J.S., Viudes de Castro, M.P., Lavara, R., Lavara, F. 2000. 7th World Rabbit Congress, Valencia, Vol. A: 273-277.

Vishwanath, R., Shannon, P. 1997. Reprod. Fertil. Dev., 9: 321-331.

Viudes de Castro, M.P., Vicente, J.S., Lavara, R. 1999. Ann. Zootech., 48: 407-412.

Yu, I., Songsasen, N., Godke, R.A., Leibo, S.P. 2002. Cryobiology, 44: 62-78.