DESARROLLO DE UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL PARA LA RECOGIDA DE SEMEN EN GANADO OVINO

Mozo[1], R.; Alabart, J.L.; Rivas, E; Echegoyen, E.; Navarro, M.A.; Folch, J.
[1]Unidad de Tecnología en Producción Animal. CITA. Avda. Montañana 930. 50059. Zaragoza. rmozo@cita-aragon.es

INTRODUCCIÓN

La evaluación seminal es de gran importancia para caracterizar la aptitud reproductiva de los moruecos. Los dos métodos más utilizados para la recogida de semen en la especie ovina son la vagina artificial (VA) y la electroeyaculación (EE). La utilización de la VA presenta una pobre eficacia para la recogida de semen de machos que no han sido entrenados (Wulster-Radcliffe et al., 2001), y en el caso de la EE, se han observado casos de alteración del eyaculado (Marco-Jiménez et al., 2008; Jiménez-Rabadán et al., 2012) o inconvenientes relacionados con el bienestar de los animales (Palmer, 2005; Whitlock et al., 2012). Esto ha llevado a su prohibición sin anestesia en algunos países de la UE, como Suecia (Eriksson et al., 2012). Como alternativa a la VA y la EE, se han desarrollado dispositivos para la recogida de semen aplicables en las condiciones de una cubrición natural, como los dispositivos intravaginales utilizados en bovinos (Barth et al., 2004; Cruz et al., 2011) u ovinos (Synnott et al., 1981; Wulster-Radcliffe et al., 2001). Estos métodos no necesitan de un entrenamiento de los machos ni la utilización de fármacos. Sin embargo, los dispositivos existentes son poco eficaces en moruecos de monta natural, ya sea por la inhibición de los machos o porque los machos consiguen eyacular externamente, o son inoperables en los rebaños comerciales. El objetivo de este estudio fue desarrollar un dispositivo intravaginal (DIV) de uso sencillo, que sea barato e inocuo, que permita la obtención de eyaculados para evaluar la calidad seminal de los moruecos utilizados en ganaderías en monta natural.

MATERIAL Y MÉTODOS

El dispositivo intravaginal utilizado en el presente estudio fue diseñado por nuestro equipo de investigación y fabricado en silicona (Figura 1), con el objetivo de evitar materiales potencialmente lesivos, como varillas metálicas, hilos de nailon, vidrios, etc. Como medio de recogida desechable se utilizó un preservativo acoplado al DIV.

Para evaluar el efecto de los DIV sobre el comportamiento de los machos se emplearon 15 machos no entrenados con la VA, que se pusieron en contacto con una oveja en celo hasta el momento en el que el macho realizó la cubrición (máximo de 10 minutos). El comportamiento de los machos durante la cubrición cuando fueron expuestos a una oveja con el DIV se comparó con el mostrado en monta natural (MN). Para cada macho se registró: el número de montas antes de la cubrición y el tiempo hasta la cubrición (TC). Además, se registró la eficacia del DIV para la recogida de eyaculados (% de machos que eyaculan) en función del total de machos evaluados (eficacia total: ET), y en función del número de machos que mostraron actividad sexual (eficacia relativa: ER). Los datos fueron tomados por filmación, sin presencia de observadores.

El efecto del DIV sobre la calidad seminal se evaluó en dos machos donantes entrenados con la vagina artificial comparando la calidad de cuatro eyaculados obtenidos alternativamente con el DIV y con la VA (n=8). Para cada eyaculado se registró el volumen, el porcentaje de espermatozoides móviles (100x), la calidad de movimiento (100x) y el porcentaje de espermatozoides con el acrosoma íntegro (400x) a las 0, 1 y 3 h de incubación a 37ºC en un baño María. Para la evaluación seminal se utilizó un microscopio de contraste de fase.

El estudio estadístico se llevó a cabo mediante el paquete estadístico SPSS 15.0 para Windows (SYSTAT Software Inc.). La comparación entre el número de montas, el tiempo hasta la cubrición y la duración de la cubrición de cada macho se realizó mediante un *test de Wilcoxon* para muestras pareadas. La efectividad para recoger los eyaculados (total o parcial) en función del método utilizado (DIV o MN) se estudió mediante una prueba de *Chi-cuadrado*. El efecto del método de recogida sobre la calidad seminal se analizó con un *Modelo Lineal General*. Se consideró que había diferencias significativas cuando $P<0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la colocación del DIV o el tiempo que portaban los dispositivos, las ovejas exhibieron el comportamiento normal de una oveja en celo. La utilización de los dispositivos no generó ningún tipo de lesión en los machos o las ovejas. Tampoco tuvo ningún efecto significativo sobre el comportamiento de los machos en comparación con la MN (Tabla 1), aunque hubo diferencias individuales importantes. El tiempo transcurrido desde la colocación del DIV hasta la recogida del eyaculado fue de poco más de un minuto, siendo muy inferior al registrado en otros estudios realizados en la especie ovina con otro tipo de dispositivos vaginales (Synnott et al., 1981; Wulster-Radcliffe et al., 2001). Además, el dispositivo presentó una gran eficacia para la recogida de eyaculados (Tabla 1). Así, la utilización del DIV permitió recoger semen del 80% de los machos evaluados (ET), que fue muy superior al observado por Wulster-Radcliffe et al. (2001) en ovinos, y del 100% de los machos que mostraron actividad sexual; similar al observado en otro estudio previo realizados en la especie ovina (Synnott et al., 1981) en los que se obtuvieron muy buenos resultados, pero con dispositivos inoperables en las ganaderías.

Finalmente, la utilización del dispositivo no afectó significativamente el volumen (DIV: 0,77 ±0,8 vs. VA: 0,98 ±0,16; *P*>0,05), el porcentaje de espermatozoides móviles (DIV: 73,8 ±5,2 vs. VA: 70,0 ±8,9; *P*>0,05), el porcentaje de espermatozoides con el acrosoma íntegro (DIV: 63,0 ±16,8 vs. VA: 61,5 ±15,5; *P*>0,05) o la calidad de movimiento (DIV: 3,1 ±0,2 vs. VA: 3,3 ±0,3; *P*>0,05) después de 3 horas de incubación.

CONCLUSIÓN

Teniendo en cuenta estos resultados, se puede concluir que el dispositivo desarrollado en el presente estudio es inocuo y fácil de utilizar, no afecta al comportamiento de los machos utilizados para monta natural, ni las hembras en las que se coloca el DIV, ni a la calidad seminal de los eyaculados recogidos. El DIV permitió la recogida de eyaculados de todos los machos que mostraron actividad sexual de una forma muy rápida. Estos resultados indican que el DIV es un método potencialmente aplicable en las ganaderías para la evaluación seminal de los machos, y que podría ser empleado también para la recogida de semen y su posterior utilización en biotecnología con fines científicos, de transferencia o de conservación de material genético. Además, es probable que pequeñas modificaciones del tamaño del dispositivo permitan su utilización en otras especies tanto domésticas como silvestres, lo que podría facilitar los protocolos de recogida de semen en determinados programas de conservación y mejora genética.

Tabla 1. *Número de montas realizado por cada macho antes de la cubrición, el tiempo hasta la cubrición y eficacia para la recogida de eyaculados en función de las condiciones de cubrición (Control y DIV).*

Método	Machos	ET	Machos activos*	ER	NM	TC (min)
	n	(%)	n	(%)	Media ±EEM	Media ±EEM
Control	15	80,0	12	100,0	0,2 ±0,1	0,6 ±0,1
DIV	15	80,0	12	100,0	0,8 ±0,4	1,3 ±0,6

** Solo se incluyen aquellos individuos que mostraron actividad sexual. Machos sexualmente activos, son los machos que realizan una monta dentro de los 10 minutos.*

DIV: dispositivo intravaginal; ET: efectividad total; ER: efectividad relativa; NM: número de montas previas a la cubrición; TC: tiempo invertido por el macho hasta que realiza una cubrición.

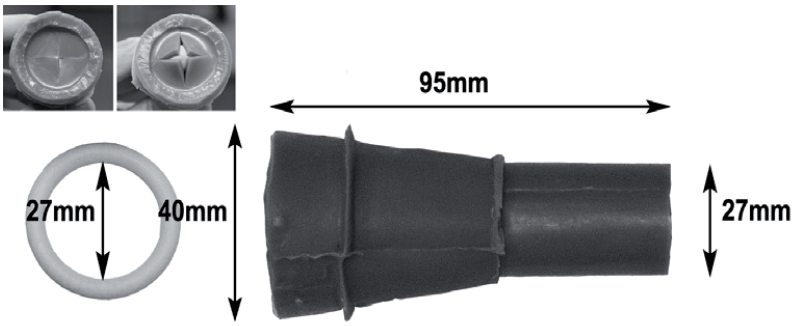


Figura 1. *Diseño definitivo del DIV empleado en el experimento.*

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•Barth, A.D., Arteaga, A.A., Brito, L.F.C., Palmer, C.W., 2004. Anim Reprod Sci 84, 315-325 • Cruz, F.B., Lohn, L., Marinho, L.S.R., Mezzalira, J.C., Neto, S.G., Martins, L.T., Vieira, A.D., Barth, A., Mezzalira, A., 2011. Anim Reprod Sci 126, 157-161 • Jiménez-Rabadán, P., Ramón, M., García-Álvarez, O., Maroto-Morales, A., del Olmo, E., Pérez-Guzmán, M.D., Bisbal, A., Fernández-Santos, M.R., Garde, J.J., Soler, A.J., 2012. Anim Reprod Sci 132, 88-95 • Marco-Jiménez, F., Vicente, J.S., Viudes-de-Castro, M.P., 2008. Reprod Domest Anim 43, 403-408 • Palmer, C.W., 2005. Theriogenology 64, 469-479 • Synnott, A.L., Fulkerson, W.J., Lindsay, D.R., 1981. J Reprod Fertil 61, 355-361 • Whitlock, B.K., Coffman, E.A., Coetzee, J.F., Daniel, J.A., 2012. Theriogenology 78, 737-746 • Wulster-Radcliffe, M.C., Williams, M.A., Stellflug, J.N., Lewis, G.S., 2001. J Anim Sci 79, 2964-2967.

DEVELOPMENT OF AN INTRA-VAGINAL DEVICE FOR SEMEN COLLECTION IN SHEEP

ABSTRACT: A new intravaginal device (IVD) was developed for semen collection in commercial farms. Two experiments were conducted to determine whether the IVD affected either the breeding behaviour during mating or the quality of the semen collected. In experiment 1, fifteen artificial vagina (AV) untrained rams were used for assessing the effect of IVD on breeding behaviour compared to natural mating. The results showed that the IVD did not affect ram breeding behaviour during mating. Rams collected in relation to rams evaluated was 80% and rams collected in relation to rams performing mating was 100%. The mean time required for semen collection was 1.3 ± 0.6 min. In experiment 2, two rams trained for artificial vagina were used for assessing semen quality of ejaculates collected with IVD or AV (n=8). The quality of semen samples was assessed after incubation at 37ºC in water bath for 0, 1 and 3 hours. Volume, percentage of motile spermatozoa, movement quality, and percentage of spermatozoa with normal apical ridge (NAR) were determined. After three hours of incubation, there were not found significant differences in the semen quality parameters between samples collected with AV or IVD. In conclusion, the IVD described here is a suitable method that allows semen collection of a high percentage of AV-untrained rams in a short period of time.

Keywords: semen collection, semen evaluation, ram, breeding soundness evaluation