

PARÁMETROS GENÉTICOS DEL SEMEN DESCONGELADO DE CONEJO. RESULTADOS PRELIMINARES.

Lavara R., Mocé E., García M.L., Vicente J.S. y Baselga M.
ICTA, Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n
Valencia. rlavara@dca.upv.es

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la mayoría de las inseminaciones en cunicultura, se realizan con semen refrigerado a falta de un procedimiento de congelación eficaz. El semen congelado podría aportar en un futuro una mejor gestión de los machos y centros de inseminación y, una mayor seguridad biológica de las muestras seminales (Mocé y Vicente, 2009), ya que podrían almacenarse las pajuelas durante el tiempo necesario en bancos de nitrógeno para poder realizar las pruebas serológicas y bacteriológicas pertinentes.

El objetivo del estudio es estimar el determinismo genético del semen congelado de una línea paternal de conejos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras: Se utilizaron para el estudio 1660 eyaculados de un total de 315 machos adultos pertenecientes a una línea paternal de conejos seleccionada durante 25 generaciones por velocidad de crecimiento durante el periodo de engorde. Todos los eyaculados fueron recuperados mediante el uso de una vagina artificial, el ritmo de recuperación fue de dos eyaculados por semana con un intervalo de tiempo entre recuperaciones de 20 minutos. Los machos estaban alojados en 3 núcleos de selección-multiplicación pertenecientes a la red UPV, situados en las provincias de Valencia y Murcia. De cada uno de los eyaculados se analizaron los daños en el acrosoma y el porcentaje de motilidad individual con la ayuda de un software específico para el análisis de la motilidad espermática (Sperm Class Analyzer, S.C.A., Microptic, Barcelona, España). Para ello, una vez recuperado el eyaculado y realizado un primer análisis macroscópico, con el objetivo de eliminar aquellos eyaculados que presentaban una apariencia anómala (coloración diferente de blanco-nacarado, o presencia de precipitados), se procedió a la fijación de una primera muestra de 50 µl de semen con 950 µl de glutaraldehído al 0,25% para determinar los daños en acrosomas, y una segunda muestra de 50 µl de semen con 950 µl de diluyente de semen de conejo para determinar el porcentaje de motilidad.

Posteriormente a la toma de muestras, se congeló cada uno de los eyaculados basándose en el procedimiento descrito por Mocé et al. (2003) con ligeras modificaciones. En este trabajo preliminar se han descongelado un total de 680 pajuelas. De cada una de las pajuelas descongeladas se tomaron los datos de normalidad acrosómica y porcentaje de motilidad individual mediante el procedimiento descrito anteriormente para la valoración de semen fresco. Además se analizó el porcentaje de espermatozoides vivos tras la descongelación mediante el uso de citometría de flujo.

Variables analizadas:

Se analizaron 5 variables dependientes: motilidad del semen fresco, motilidad del semen descongelado, normalidad acrosómica del semen fresco, normalidad acrosómica del semen descongelado y el porcentaje de espermatozoides vivos tras la descongelación. Para normalizar los datos se procedió a la transformación arcoseno de las variables motilidad en fresco y descongelado y normalidad acrosómica en fresco y descongelado.

Análisis estadísticos:

Se utilizó un modelo animal bivalente para las variables motilidad y normalidad acrosómica en fresco y descongelado. Mientras que para la variable porcentaje de vivos tras la descongelación se utilizó un modelo univariante. El modelo mixto utilizado para todas las variables seminales propuestas fue el siguiente:

$$y_{ijhokmn} = \mu + S_i + O_j + N_h + P_o + a_k + p_m + e_{ijhokmn}$$

donde $y_{ijhokmn}$ es la variable seminal, S_i es el efecto sistemático año estación con 64 niveles, O_j es el efecto sistemático orden de eyaculado con 2 niveles (primero o segundo eyaculado), N_h es el efecto sistemático núcleo de selección con 3 niveles, P_o es el efecto sistemático

edad del macho (6 meses, 6-8 meses, 8 meses), a_k es el valor genético aditivo del macho, p_m es el efecto aleatorio permanente del macho k sobre todos sus eyaculados, y $e_{ijhokmn}$ es el residual.

Las componentes de varianza y covarianza fueron estimadas utilizando el programa informático TM desarrollado por Legarra et al. (2008), para hallar las soluciones REML de las componentes de varianza. Para los modelos bivariantes se realizaron un total de 800.000 iteraciones con un periodo de quemado de 30000 iteraciones, y para el univariante se realizaron un total de 200.000 iteraciones con un periodo de quemado de 10.000. Se tomó una muestra de cada 100 iteraciones, para evitar la alta correlación entre muestras consecutivas. La convergencia se comprobó para cada cadena separadamente usando el criterio Z de Geweke.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros de las distribuciones marginales posteriores estimadas de la h^2 , de los efectos p^2 , de las correlaciones genéticas y los efectos permanentes entre los caracteres frescos y descongelados, para los caracteres seminales estudiados se muestran en las Tablas 1 y 2. Las distribuciones marginales posteriores tuvieron un error de Monte Carlo pequeño y el test Z de Geweke no detectó falta de convergencia (resultados no mostrados en tablas).

Las estimas de h^2 para los caracteres en fresco son diferentes de cero, mostrando el porcentaje de normalidad acrosómica una h^2 intermedia ($0,239 \pm 0,085$; Tabla 1), sin embargo, los caracteres del semen descongelado no muestran la misma pauta ya que únicamente el porcentaje de vivos tras la descongelación muestra una h^2 media ($0,208 \pm 0,077$; Tabla 1). Los resultados obtenidos para el porcentaje de normalidad acrosómica y de motilidad individual en fresco son semejantes a los observados anteriormente para la misma línea, utilizando un modelo animal bivalente para el carácter seminal y la ganancia diaria de peso entre los 28 y los 53 días de vida ($0,247 \pm 0,069$, y $0,156 \pm 0,041$, para la NAR% y la MOT% respectivamente, Lavara et al., 2008a, Lavara et al., 2008b), pero inferiores a los obtenidos por otros autores en diferentes especies como por ejemplo porcino, donde las h^2 del porcentaje de motilidad se sitúan entre 0,38-0,44 (Smital et al., 2005, Oh et al., 2003). De los resultados obtenidos para las características del semen descongelado, se puede observar que las estimas de los efectos p^2 son superiores a las estimas de la h^2 (Tabla 1). La motilidad en las muestras de semen descongelado muestra una h^2 no diferente de cero y similar a la obtenida por Furstoss et al. (2009) en cabras ($0,03 \pm 0,02$ y $0,05 \pm 0,03$ para las razas Saanen y Alpina, respectivamente). Cabe destacar que el porcentaje de espermatozoides vivos muestra una repetibilidad cercana al 0,5 (Tabla 1). Por otro lado, los caracteres porcentaje de motilidad en fresco y descongelado, presentan una correlación entre efectos permanentes elevada ($0,770 \pm 0,253$; Tabla 2). Del resto de correlaciones genéticas y permanentes, su interés y su precisión se reducen conforme las heredabilidades o los efectos permanentes se aproximan a cero (Tabla 1 y Tabla 2).

CONCLUSIONES

En nuestro experimento, la motilidad y normalidad acrosómica del semen descongelado de conejo presentan heredabilidades próximas a cero, sin embargo el porcentaje de espermatozoides vivos tras la descongelación, presenta una heredabilidad intermedia y una repetibilidad cercana al 0,5.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Furstoss, V., David, I., Leboeuf, B., Guillouet, P., Boué, P. & Bodin, L. 2009. Anim Rep Sci 110: 25-36.
- Lavara, R., García, M.L., Torres, C., Vicente, J.S. & Baselga, M. 2008a. 9th World Rabbit Congress 425-429.
- Lavara, R., García, M.L., Torres, C., Vicente, J.S. & Baselga, M. 2008b. 9th World Rabbit Congress 430-434.
- Legarra, A., Varona, L. & López de Maturana, E. 2008. <http://cat.toulouse.inra.fr/~alegarra>
- Mocé, E., Vicente, J.S. & Lavara, R. 2003. Theriogenology 60: 115-123
- Mocé, E. & Vicente, J.S. 2009. Anim Rep Sci. 110: 1-

24 • Oh, S.H., See, M.T., Long, T.E. & Glavin, J.M. 2003. J. Anim. Sci. 81 (Suppl.1), 317. • Smital, J., Wolf, J. & De Sousa, LL. 2003. Anim. Rep. Sci. 86, 119-130.

Tabla 1. Análisis descriptivos de las características seminales. Parámetros de las distribuciones marginales posteriores de la heredabilidad (h^2) y de los efectos permanentes no aditivos (p^2) con sus desviaciones estándar para las características seminales.

	MOT(%)	MOTD(%)	NAR(%)	NARD(%)	VIVOSD(%)
Media	61,93	10,83	87,62	13,94	18,48
Desviación	27,43	12,42	15,98	17,34	12,29
h^2	0,121±0,046	0,062±0,037	0,239±0,085	0,067±0,039	0,208±0,077
p^2	0,113±0,044	0,126±0,046	0,181±0,075	0,070±0,036	0,257±0,067

MOT (%): porcentaje de espermatozoides móviles en fresco MOTD(%): porcentaje de espermatozoides móviles en descongelado; NAR (%): porcentaje de acrosomas no dañados del semen fresco; NARD(%): porcentaje de acrosomas no dañados del semen descongelado; VIVOSD(%): porcentaje de espermatozoides vivos del semen descongelado.

Tabla 2. Parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las correlaciones genéticas (rg) y de los efectos permanentes (rp) con sus desviaciones estándar para los caracteres en fresco y descongelado.

	MOT-MOTD	NAR-NARD
rg	0,507±0,446	-0,456±0,379
rp	0,770±0,253	0,693±0,274

MOT (%): porcentaje de espermatozoides móviles totales en fresco MOTD(%): porcentaje de espermatozoides móviles totales en descongelado; NAR (%): porcentaje de acrosomas no dañados del semen fresco; NARD(%): porcentaje de acrosomas no dañados del semen descongelado;

Agradecimientos: Este trabajo ha sido cofinanciado por los proyectos (CICYT AGL2004-02710/GAN y AGL2008-03274), y con una beca F.P.U. para R. Lavara (Ministerio de Ciencia e Innovación).

GENETIC PARAMETERS OF CRYOPRESERVED RABBIT SPERM. PRELIMINARY RESULTS

ABSTRACT: The objective of this study was to estimate the genetic parameters of frozen-thawed sperm from a rabbit line selected for increased growth rate in the fattening period during 25 generations. The traits studied were: percentage of spermatozoa with normal apical rigide in fresh and cryopreserved semen [NAR (%), NARD (%)], total motile sperm in fresh and cryopreserved semen [MOT (%), MOTD (%)], and percentage of live sperm in cryopreserved semen [LIVED(%)]. Equal model equations for all semen traits included the artificial insemination station, the period, the year-season and the order of ejaculate as fixed effects; the animal, the permanent environmental and non-additive genetic effect of the male, and the residual as random effects.

Estimates of heritability, permanent effect and genetic correlation between fresh and cryopreserved sperm characteristic were obtained from the solutions of a bivariate animal model. In cryopreserved sperm, estimates of the permanent effect were higher than estimates of heritability. The heritabilities for MOTD and NARD were not different from zero, but LIVED showed an intermediate heritability (0.208±0.077). The genetic correlations between fresh and cryopreserved semen characteristics were not different from zero, but high permanent environmental and non-additive correlation was observed between MOT and MOTD (0.770±0.253).

Keywords: genetic parameters, fresh sperm, rabbit, frozen-thawed sperm.