

EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LA EDAD COMO FACTOR DE VARIACIÓN EN LA ELECTROEYACULACIÓN DEL CIERVO IBÉRICO (*Cervus elaphus hispanicus*)

Anel, L; García, AJ***; Martínez, AF; Soler, AJ*; Anel, E; López, A*;
Álvarez, M; Boixo, JC**; Paz, P y Garde, J***

Reproducción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

Campus de Vegazana s/n. 24071 e-mail: dsalar@isidoro.unileon.es

*Dpto. Ciencia y Tecnología Agroforestal. ETSIA Albacete. Univ. Castilla-La Mancha.

CENSYRA. León. *IREC, Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos.

INTRODUCCIÓN

La introducción de criterios objetivos en la gestión y manejo de determinadas poblaciones de especies silvestres, ha incrementado el interés por el empleo de diversas tecnologías utilizadas de forma rutinaria en especies domésticas. Un ejemplo demostrativo lo constituye el desarrollo de las técnicas de reproducción asistida (TRA) en especies cinegéticas, con el fin de aplicar programas de mejora que incrementen el rendimiento de su explotación (mejora de la calidad de los trofeos obtenidos). Las técnicas de obtención, valoración, conservación y aplicación de espermatozoides en estas especies, carecen de datos fundamentales para adaptar las metodologías clásicas (especies domésticas). Todo esto nos plantea la necesidad de profundizar en el conocimiento de los parámetros de aplicación de las TRA en especies silvestres. En el presente estudio, hacemos una valoración preliminar del efecto de la edad del macho donante sobre algunos parámetros básicos de eyaculados obtenidos mediante electroeyaculación en el ciervo ibérico (*Cervus elaphus hispanicus*).

MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente trabajo se han empleado 10 machos de ciervo ibérico, de entre 15 y 51 meses de edad, mantenidos en un sistema de parques. Los animales se agruparon según tres clases de edad (Tabla 1). Los datos presentados corresponden a un periodo de dos años (1998-2000), en el que dichos animales fueron sometidos a varias electroeyaculaciones (n total=27), en periodos que abarcan desde Octubre (post-berrea) a Febrero.

Tabla 1. Ficha técnica de la experiencia: valores medios (media±ESM) agrupados según las clases de edad.

	1-2 años	2-3 años	3-4 años
Nº electroeyaculaciones	8	7	12
Peso ciervos (kg)	91,76±4,99	108,60±1,48	124,66±1,71
Edad ciervos (meses)	17,25±0,44	29,71±0,60	41,83±0,37
Circunferencia escrotal (cm)	16,94±0,27	18,64±0,23	20,59±0,27

La contención de los animales se realizó en un inmovilizador de la nave de manejo de rumiantes salvajes de la ETSIA de Albacete. A los machos se les inyectó una mezcla anestésica (Xilacina + Ketamina) para realizar la electroeyaculación en el plano anestésico adecuado. Previo rasurado y lavado de la zona prepucial, se realizó la electroeyaculación mediante una sonda bipolar (tres electrodos) de 19 mm

de diámetro y un equipo de doble registro para voltaje y miliamperaje (PT-Electronics®). El protocolo empleado (estímulos de intensidad creciente aplicados en secuencias alternantes estímulo-descanso) se aplicó bajo criterios de dosis-efecto. Los eyaculados se recogieron sobre un colector de vidrio a 37°C y se trasladaron al laboratorio, manteniéndose en un baño maría (30°C) mientras se realizan las pruebas de valoración. Una vez finalizada la electroeyaculación, se empleó un protocolo de reversión anestésica (Clorhidrato de yohimbina). Los datos estudiados respecto al umbral de respuesta fueron los parámetros del electroeyaculador en el momento de iniciarse la eyaculación (**voltios** y **miliamperios**) así como el **tiempo** transcurrido desde el inicio del protocolo de electroestimulación. También se determinó de número de **espermatozoides totales** (cámara de Bürker) obtenidos por cada eyaculación. Con relación a los aspectos cualitativos básicos de los eyaculados obtenidos se cuantificaron la **movilidad individual** (%) y la **calidad de movimiento** (0-5) [400xCF, platina termostatazada a 37°C] por un lado, y los **acrosomas normales** (%) **formas anormales** (%), excluidas gotas citoplasmáticas, y **gotas citoplasmáticas** (%) [previa fijación en una solución de glutaraldehído al 2%, a 400xCF] por otro. El estudio estadístico de los resultados obtenidos se realizó mediante un análisis de varianza y comparación de medias por el método de mínimos cuadrados (LSM), con el programa estadístico SAS™.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados expresados en las tablas 2 y 3 muestran la existencia de un agrupamiento homogéneo entre las clases 2-3 y 3-4 para todos los parámetros estudiados, que las diferencia de la clase 1-2, aunque el análisis estadístico solo demuestra diferencias significativas para el caso de las gotas citoplasmáticas ($p < 0,05$). Es decir que a priori, y considerando los parámetros básicos estudiados en referencia a la edad del macho donante, a partir de los dos años existiría una producción espermática homogénea.

Tabla 2. Valores medios (media±ESM) de los parámetros aplicados en el momento del inicio del eyaculado y del rendimiento de la técnica (espermatozoides totales), agrupados según clases de edad.

	1-2	2-3	3-4
Voltios	3,51±0,53	4,44±0,75	4,25±0,53
Miliamperios	65,63±9,42	80,83±4,96	73,75±9,30
Tiempo de respuesta (segundos)	178,25±34,88	212,43±48,90	196,83±43,09
Espermatozoides totales ($\times 10^6$)	1218,86±462,11	2179,24±502,65	2256,24±418,05

En la misma fila, distintos superíndices indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Este hecho estaría en discordancia aparente con la evidente progresión de los parámetros fenotípicos (generales y genitales) que aparecen en la tabla 1, en la que se muestran tres grupos bien diferenciados en función de las clase de edad prefijadas en el presente estudio. Las tendencias de los datos que se muestran en la tabla 2, indican que los animales más jóvenes, tienen una mayor sensibilidad a los estímulos eléctricos hecho patente no sólo en los parámetros eléctricos, sino también en el tiempo de respuesta a la estimulación. Estos hechos son difícilmente discutibles por la falta de información al respecto; además; el modelo de electroeyaculación aplicado (a dosis efecto en una sola serie de estímulos de intensidad creciente) no ha sido descrito por ningún autor. A este respecto, señalar

que los parámetros empleados por otros autores coinciden con los valores medios utilizados por nosotros en todo el protocolo de electroeyaculación (en el presente trabajo se aportan los valores al inicio de la eyaculación como valor de sensibilidad, dato que no es aportado por ningún autor).

Tabla 3. Parámetros cualitativos (media±ESM) de los eyaculados agrupados según las clases de edad).

	1-2	2-3	3-4
Movilidad individual (%)	73,13±5,82	79,29±3,52	76,67±2,56
Calidad de movimiento (1-5)	3,94±0,08	3,57±0,20	3,60±0,16
Acrosomas normales (%)	88,63±1,99	89,00±1,15	84,25±3,08
Formas anormales (%)	31,62±4,72	24,43±3,66	21,42±6,54
Gotas citoplasmáticas (totales) (%)	8,80±1,98 ^a	5,83±0,96 ^{ab}	4,43±1,04 ^b

En la misma fila, distintos superíndices indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Las diferencias en función de la edad del ciervo sobre diversos parámetros indicativos de la calidad seminal (movilidad y anormalidades), han sido descritas por algunos autores como Haig et al (1984) en el wapiti (*Cervus elaphus nelsoni*) o Lincoln (1981) en el ciervo rojo (*Cervus elaphus*); en ambos casos, comunican que existen diferencias en función de la edad, marcadas fundamentalmente con respecto a los animales de menor edad (alrededor de los dos años), hecho que coincide con las tendencias de los datos que aportamos en el presente trabajo. Garde et al (1999) trabajando con muestras epididimarias de ciervo ibérico comprueban igualmente que en los ciervos de menor edad (entre dos y tres años) de las clases estudiadas se obtienen las muestras espermáticas con peores resultados de evaluación "in vitro" (movilidad individual; acrosomas normales y test de endósmosis celular); la comparación directa con nuestros resultados es complicada debido a las distintas clases de edad establecidas en ambas experiencias, y sobre todo habría que considerar las diferencias generadas por la distinta fuente de obtención de los espermatozoides. En cualquier caso y según nuestros resultados, todo parece indicar que existe una maduración aparente de la producción espermática a partir de los dos años de edad, patente en la disminución de las formas anormales y del % de gotas citoplasmáticas de los espermatozoides recogidos. En consecuencia, los ciervos ibéricos seleccionados como donantes de semen deberían emplearse en los programas de recogida seminal a partir de los dos años.

Los autores agradecen su colaboración a: Camino Guerra Ortiz, Mohamed Kaabi, Roberto del Moral, Giovanna González, Patri Martínez, Marta Fernández, Isidoro Cambronerero, Fulgencio Cebrián y Bernardo Albiñana.

Este trabajo ha sido financiado en parte por: **Junta de Castilla y León (LE32/99)**, **Universidad de Castilla-La Mancha** y **Universidad de León**.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Garde, JJ; García-Díaz; AJ; Ortiz, N; López-Sáez, A; Soler, AJ y Gallego, L. (1999). Técnicas de reproducción asistida aplicadas a poblaciones cinegéticas de cérvidos. En: Proc. II Congreso Ibérico de Reproducción (Lugo) pp 419-428.
- Haig, JC; Cates, WF; Glover, GJ and Rawlings; NC. (1984). Relationships between seasonal changes in serum testosterone concentrations, scrotal circumference and sperm morphology of male wapiti (*Cervus elaphus*) J.Reprod. Fert. 70 413-418.
- Lincoln, GA. (1981) Seasonal aspects of testicular function. In: The Testis, Eds H. Burger & D. de Kretser. Raven Press. New York. pp 255-302.