

PARÁMETROS SEMINALES DEL ESPERMA DE ARRUI (*Ammotragus lervia*) OBTENIDO MEDIANTE ELECTROEYACULACIÓN.

SS. Pérez-Garnelo¹, M. Oter¹, M. Delclaux², C. Talavera², M. López² y J. De la Fuente¹.

¹ INIA. Dpto de Reproducción Animal y Conservación de Recursos Zoogenéticos.
Crta de La Coruña, km, 5,9. 28080 - Madrid. e-mail: sgarnelo@inia.es

² Zoo-Aquarium de Madrid.

INTRODUCCIÓN

La aplicación de técnicas de reproducción asistida en animales silvestres es de gran importancia y en ocasiones, la única alternativa posible para evitar tanto la extinción de un considerable número de especies como la elevada consanguinidad presente en las poblaciones de los núcleos zoológicos.

En el caso concreto del Arrui, la destrucción de su hábitat natural y sobretodo la caza, ha llevado a esta especie cerca de la extinción (1), estando considerada actualmente como vulnerable (2). Por ello, la puesta a punto de técnicas de obtención de semen por electroeyaculación y la crioconservación del material seminal, permitiría la instauración de bancos de germoplasma para poder preservar la diversidad genética de estos animales y en un futuro, la producción de animales y la repoblación del hábitat natural de la especie.

En términos generales, salvo información un poco más detallada de algunas especies que se encuentran en Zoos o Parques de Rescate de Fauna y que se ha utilizado para instaurar programas de conservación de recursos genéticos, existe escasa información sobre parámetros reproductivos de machos y hembras de ungulados salvajes. La mayor parte de información proviene de trabajos de campo y de análisis de material recolectado de animales muertos. Por ello, el objetivo del presente trabajo, ha sido la adecuación de la técnica de electroeyaculación en el Arrui y el análisis de los parámetros seminales del esperma así obtenido en esta especie.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y Obtención de semen

Se han utilizado 2 machos adultos ubicados en el Zoológico de la Casa de Campo de Madrid, con las siguientes edades: **A)** 3 años y 7 meses y **B)** 9 años y 8 meses (macho dominante).

Para la obtención del eyaculado, se procedió a anestesiarse a los animales administrando con rifle Tiletamina + Zolazepan (2,5+2,5mg/Kg peso vivo) vía intramuscular. Tras la colocación del animal en decúbito prono sobre una camilla, se procedió al lavado e higienización de la zona prepucial y vaciado de las heces de la ampolla rectal. Utilizando una sonda de 2,5 cm de diámetro y 3 electrodos longitudinales, se siguió un protocolo estándar de electroeyaculación, aplicando estímulos de forma alternante y de intensidad creciente, hasta obtener el eyaculado en un colector de vidrio graduado y atemperado.

El ensayo fue realizado en 6 ocasiones en el caso del macho A y 11 veces en el B.

Caracterización de los parámetros seminales

Obtenido el eyaculado, fue trasladado al laboratorio donde se valoró el volumen, por simple apreciación visual del colector graduado (**Vol**) y la concentración (**espz/mL** y **espz totales**), mediante recuento en cámara (Bürker).

La movilidad masal (**MM**) o valoración de la calidad de las ondas que produce la masa espermática en movimiento en una escala de 0 a 5 (3), fue estimada por microscopía óptica de contraste de fases (100x). La movilidad individual (**MI%**) o porcentaje de células móviles, fue valorada mediante estimación visual microscópica (200x), valorando así mismo, la calidad de movimiento (**Cal.**), también en una escala de 0 (acinesis total) a 5 (movimiento progresivo rápido) (4).

El porcentaje de espermatozoides normales (**%Nor**), se valoró mediante microscopía óptica de contraste de fases (400x), previa inclusión de las muestras en una solución de glutaraldehído al 2% (5). El estado del acrosoma (**%NAR**), se valoró mediante microscopía óptica de contraste de fases (1000x), también previa inclusión de la muestra en solución de glutaraldehído (5).

Para valorar la integridad de la membrana se efectuó un test de endósmosis (**%E+**), sometiendo a los espermatozoides a una presión de 100 mOsm/Kg durante 30 minutos a temperatura ambiente, fijando con solución de glutaraldehído y valorando en microscopía óptica de contraste de fases (400x)(6,7).

Por último, para valorar la viabilidad espermática, se efectuó una tinción con Eosina-Nigrosina (**%V**), efectuándose el recuento del número de espermatozoides vivos mediante microscopio óptico de campo claro (400x) (7,8).

Análisis estadístico

El estudio comparativo entre ambos machos de los parámetros seminales analizados se realizó mediante T de Student.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del total de las colectas efectuadas, hubo que eliminar del estudio dos eyaculados del macho A, por presentar contaminación con orina. Los valores medios obtenidos en los dos machos utilizados para cada uno de los parámetros seminales analizados, aparecen reflejados en la tabla 1.

El volumen medio de eyaculado fue de $2,7 \pm 1,6$ mL en el macho más joven (A) y de $5,3 \pm 1,7$ mL en el dominante (B), existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos ($p < 0,05$).

La concentración obtenida tanto en el número de espermatozoides por mL como en el número de espermatozoides totales del eyaculado, fue también más elevada en el caso del macho B aunque en este caso, la diferencia no alcanzó significación estadística debido a la variabilidad existente entre las observaciones.

En cuanto a los parámetros cualitativos estudiados, los mejores resultados de movilidad también correspondieron al macho dominante, existiendo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$) en la movilidad masal ($2,8 \pm 1,1$ vs $3,9 \pm 0,5$), porcentual ($62,5 \pm 12,5$ vs $83,5 \pm 7,4$) y en la calidad de movimiento ($3,7 \pm 0,2$ vs $4,4 \pm 0,2$).

Los valores correspondientes a normalidad, integridad acrosómica y viabilidad, fueron muy similares entre ambos machos y superaron el 80% (salvo en el porcentaje de espermatozoides normales del macho más joven).

Tabla 1. Resultados medios de los parámetros analizados en los 2 machos de Arrui electroeyaculados.

Parámetros	♂ A	♂ B
Volumen	2,7±1,6 ^a	5,3±1,7 ^b
Espz./mL	51,4±39,0	412,9±354,2
Espz. Totales	91,7±85,5	1949,7±115
MM	2,8±1,1 ^c	3,9±0,5 ^d
MI%	62,5±12,5 ^c	83,5±7,4 ^d
Cal	3,7±0,2 ^c	4,4±0,2 ^d
%Nor	78±25	90,3±4,4
%NAR	82±5,5	84,7±8,7
%E+	50±15,5	58±14,9
%V	81,3±4,2	85±4,3

Superíndices entre columnas, indican diferencias estadísticamente significativas: a-b, p<0,05; c-d, p<0,01

Los valores obtenidos en los parámetros seminales analizados en este estudio son bastante homogéneos, sobre todo en el caso del macho dominante. Sin embargo, el test de endósomosis empleado en las especies domésticas, proporcionó en ambos animales valores en torno al 50%, lo que sugiere que es necesario realizar ensayos encaminados a adecuar este test para la especie en cuestión.

Las características seminales de los eyaculados de Arrui empleados en este estudio son similares a las de ovino y bovino cuando las muestras se obtienen mediante electroeyaculación (3,4,9) y coinciden con lo descrito por otros autores para esta especie (10), incluso en la diferencia de calidad de los eyaculados entre machos.

Los resultados de este estudio muestran que en esta especie, se pueden obtener mediante el empleo de la electroeyaculación, eyaculados de calidad suficiente tanto para realizar ensayos de fertilidad mediante el empleo de inseminación artificial como para criopreservar el material seminal así obtenido, teniendo esta observación implicaciones muy importantes de cara a la conservación de especies salvajes en peligro de extinción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1)- Haas G (1990). Barbary Sheep (Genus *Ammotragus*). In: Grzimek's Encyclopedia of Mammals. New York: McGraw-Hill Publishing Co, Vol., 5:538-440
- (2)- IUCN (1996). The Red List of Threatened Animals. IUCN Publications Service, Cambridge.
- (3)- Evans G and Maxwell WCM (1987). Inseminación artificial de ovejas y cabras. ISBN:84-200-0675-0. pg 97.
- (4)- Fiser PS and Fairfull RW (1989). Cryobiology, 26: 64-69.
- (5)- Pursel VG and Johnson LA (1974). *Theriogenology* 1, 63-68.
- (6)- Jeyendran RS, Van der Ven HH, Pérez-Peláez M, Crabo, BG, Zaneveld LJD (1984). *J. Reprod. Fertil.* 70: 219-228.
- (7)- Pérez-Garnelo SS, Gutiérrez-Adán A, Romero A, Delclaux M, López M and De la Fuente J (2000). *Theriogenology*, 53(1):342.
- (8)- Tamuli MK, Watson PF (1994). *Anim. Reprod. Sci.* 35: 247-254.
- (9)- Hulet CV, Foote WC, Blackwell RL (1964). *J. Anim. Sci.*, 23:418-424.
- (10)- Crenshaw CC, Martin LM, Mains CR, Wright RD, Dart MG, Perkins RM, Purdy PH and Ericsson SA (2000). *Theriogenology*, 54 (1):39-45