

## PARÁMETROS GENÉTICOS PARA CARACTERES DE MORFOMETRÍA ESPERMÁTICA EN MACHOS DE RAZA OVINA MANCHEGA

Jiménez-Rabadán<sup>a1</sup>, P., Pérez-Guzmán<sup>a</sup>, MD., Garde<sup>b</sup>, JJ., García-Alvarez<sup>b</sup>, O., Maroto-Morales<sup>b</sup>, A., Soler<sup>b</sup>, A.J., Fernández-Santos<sup>b</sup>, MR. y Ramón<sup>a</sup>, M.  
<sup>a</sup>CERSYRA; <sup>b</sup>SABIO-IREC

<sup>1</sup>CERSYRA. Av. Del Vino 10. 13300. Valdepeñas (Ciudad Real), pijimenez@jccm.es

### INTRODUCCIÓN

Dentro del contexto de los programas de mejora genética, la inseminación artificial (IA) es probablemente la técnica de reproducción asistida más importante como herramienta para la difusión de la mejora genética. El uso generalizado de la IA ha hecho que el rendimiento reproductivo de los animales adquiera mayor importancia, especialmente en el caso de los machos, pues un solo macho puede inseminar a un gran número de hembras. Los avances conseguidos en el campo de la valoración seminal, en especial los sistemas CASA (*Computer-Assisted Semen Analysis*), han permitido obtener gran cantidad de información sobre las características estructurales y funcionales del espermatozoide, y podrían resultar útiles para determinar la fertilidad de un macho (Casey *et al.*, 1997). El presente trabajo aborda la estima de parámetros genéticos para cinco caracteres de morfometría de la cabeza del espermatozoide en machos de raza ovina Manchega. Este trabajo ya ha sido llevado a cabo en otras especies (Lavara *et al.*, 2013) con resultados variables. Nuestro objetivo ha sido estimar los parámetros genéticos en esta raza y compararlos con los descritos en otras razas.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 375 machos de raza ovina Manchega pertenecientes al Centro Regional de Selección y Reproducción Animal (CERSYRA) de Valdepeñas. Estos machos participan en el programa de mejora genética de la raza ovina Manchega, y son usados para la difusión de dicha mejora por inseminación artificial (IA). La toma de muestras seminales para este trabajo se llevó a cabo entre los años 2008 a 2014, realizándose al menos 2 colectas por macho en los meses de septiembre a noviembre. Así, coincidiendo con la recogida (por vagina artificial) y preparación de las dosis seminales para IA, se tomó una muestra de cada eyaculado para su análisis y se evaluaron parámetros rutinarios como el volumen (ml), la concentración (SPZ/ml) y la motilidad subjetiva (%). A continuación, las muestras fueron procesadas para la evaluación de la morfometría de la cabeza de los espermatozoides. Así, las muestras espermáticas fueron diluidas (1:300) en PBS con BSA (6 mg/mL). Se usaron alícuotas de 5  $\mu$ L de las muestras previamente diluidas para realizar frotis, los cuales se secaron al aire y se tiñeron siguiendo el protocolo de la tinción Hemacolor<sup>®</sup> descrita previamente para esta raza (Maroto-Morales *et al.*, 2010). Posteriormente, se realizó el montaje de los frotis colocando un cubre con dibutyl phthalate xylene (DPX) para ser analizados mediante el módulo de morfometría del software comercial Sperm-Class Analyser (SCA<sup>®</sup>, Microptic, Barcelona, España). Se obtuvieron las dimensiones morfométricas de la cabeza del espermatozoide para la longitud (L;  $\mu$ m), anchura (W;  $\mu$ m), área (A;  $\mu$ m<sup>2</sup>), perímetro (P;  $\mu$ m), y para un parámetro derivado como es el p2a (*perimeter to area*:  $P^2/4\pi A$ ) para un total de 150 espermatozoides de cada muestra. El parámetro p2a compara el perímetro de un objeto con su área (Sailer *et al.*, 1996), tomando un valor mínimo de 1 para un círculo y aumentando a medida que la forma se hace más elongada.

El modelo usado para la estima de componentes de varianza fue el siguiente:

$$y_{ijkmn} = \mu + \text{AÑO-MES}_i + \text{EDAD}_j + \text{CLASE}_k + a_m + p_n + e_{ijkmn}$$

donde,  $y_{ijkmn}$  es el carácter de morfometría espermática;  $\text{AÑO-MES}_i$  el efecto fijo año-mes de recogida (20 niveles);  $\text{EDAD}_j$  el efecto fijo edad del macho en el momento de la recogida (5 niveles);  $\text{CLASE}_k$  el efecto fijo clase del macho (3 niveles: machos en prueba, machos en prueba con pedigrí alto y machos probados mejorantes),  $a_m$  es el valor genético aditivo del animal  $i$ ;  $p_n$  el efecto de ambiente permanente del macho  $k$ ; y  $e_{ijkmn}$  el efecto residual. El factor  $\text{CLASE}_k$  fue incluido para tener en cuenta las diferencias en el régimen de salto (periodicidad) entre animales. Los análisis se realizaron con el paquete MCMCglmm (Jarrod, 2010) de R (R Core Team, 2014). Se corrieron un total de 50.000 iteraciones por análisis,

descartándose las 10.000 primeras (burn-in) en los análisis.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra un resumen de las características de morfometría de la cabeza de los espermatozoides para los 375 machos usados en este estudio. Los valores medios obtenidos se encuentran dentro del rango descrito para la raza (Maroto-Morales et al., 2010).

**Tabla 1.** Resumen de las características de longitud (L), anchura (W), área (A), perímetro (P) y p2a de la cabeza de los espermatozoides para los 375 machos usados en este estudio

	L ( $\mu\text{m}$ )	W ( $\mu\text{m}$ )	A ( $\mu\text{m}^2$ )	P ( $\mu\text{m}$ )	p2a
<b>Media</b>	8,82	4,81	34,97	25,24	1,35
<b>SD</b>	0,24	0,17	1,89	1,67	0,28
<b>Rango</b>	8,00 – 9,48	4,32 – 5,33	29,48 – 40,24	22,44 – 30,12	1,03 – 1,89

La Tabla 2 muestra las estimas de heredabilidad ( $h^2$ ) y repetibilidad ( $p^2 = (\sigma_a^2 + \sigma_{pe}^2) / \sigma_p^2$ ) para los caracteres de morfometría de la cabeza de los espermatozoides. Las estimas de heredabilidad obtenidas fueron de moderadas-altas, con valores de 0,23, 0,29, 0,25, 0,22 y 0,26 para los caracteres longitud, anchura, área, perímetro y p2a, respectivamente. Estas estimas se encuentran dentro del rango de valores descrito por otros autores en conejos (Lavara et al., 2013). El carácter anchura de la cabeza (W) ha resultado ser el más heredable, coincidiendo con los resultados obtenidos en el trabajo de Lavara y colaboradores. Por contra, en machos de raza ovina la estima obtenida para el carácter p2a ha sido de 0,25, un valor muy superior a la estima de 0,07 observada en conejos (medida como Fun4, la inversa del p2a). Otros estudios han mostrado una alta correlación de este parámetro con la motilidad espermática y la fertilidad (Ramón et al., 2014). Estos autores observaron como aquellos machos con un mayor porcentaje de espermatozoides con cabezas más elongadas (mayores valores de p2a) eran más fértiles. Basándonos en los resultados obtenidos en ambos estudios, resultará interesante evaluar el interés del carácter p2a como criterio de selección para obtener machos más fértiles.

**Tabla 2.** Estimas de heredabilidad ( $h^2$ ) y repetibilidad ( $p^2$ ) para las características de longitud (L), anchura (W), área (A), perímetro (P) y p2a de la cabeza de los espermatozoides en machos de raza ovina Manchega.

	L ( $\mu\text{m}$ )	W ( $\mu\text{m}$ )	A ( $\mu\text{m}^2$ )	P ( $\mu\text{m}$ )	p2a
$h^2$	0,23 $\pm$ 0,11	0,29 $\pm$ 0,10	0,24 $\pm$ 0,09	0,22 $\pm$ 0,07	0,26 $\pm$ 0,07
$p^2$	0,56 $\pm$ 0,08	0,51 $\pm$ 0,09	0,45 $\pm$ 0,09	0,44 $\pm$ 0,08	0,51 $\pm$ 0,06

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Casey et al., 1997. *Theriogenology* 47, 575-582. • Jarrod, 2010. *J Statistical Software* 33, 1-22. • Lavara et al., 2013. *Theriogenology* 80, 313-8. • Maroto-Morales et al., 2010. *Theriogenology* 73, 437-448. • R Core Team 2014. R Foundation for Statistical Computing. • Ramón et al., 2014. *Biol. Rep.* 89, 110-117. • Sailer et al., 1996. *Cytometry* 24, 167-173.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto RTA2012-00017-00. MR está financiado por una ayuda del programa DOC-INIA. Agradecemos a la asociación AGRAMA la cesión de datos de genealogía.

## GENETIC PARAMETERS FOR SPERM MORPHOMETRIC TRAITS IN RAMS OF MANCHEGO SHEEP

**ABSTRACT:** Artificial insemination (AI) is an important tool within breeding programs allowing the dissemination of genetic gain. Given the widespread use of AI, reproductive efficiency has become an important trait since a single male is able to inseminate several females. Therefore, an improvement of reproductive success could result in a higher genetic progress. Sperm morphology has been identified as a characteristic that can be useful in the prediction of fertilizing capacity. Therefore, the present study aimed to estimate genetic parameters for morphometric head dimensions such as area ( $A$ ,  $\mu\text{m}^2$ ), perimeter ( $P$ ;  $\mu\text{m}$ ), length ( $L$ ;  $\mu\text{m}$ ), width ( $W$ ;  $\mu\text{m}$ ) and  $p2a$  (*perimeter to area*:  $P^2/4\pi A$ ). A total of 375 Manchego rams were used for this study and at least 150 spermatozoa per ejaculate were evaluated by CASA analysis. Estimates of heritability ( $h^2$ ) were medium to high with values of 0.23, 0.29, 0.25, 0.22 y 0.26 for length, width, area, perimeter and  $p2a$ , respectively. The latter has been reported to be higher correlated with sperm velocity and male fertility, and therefore, it would be of interest the study of this trait as a selection criterion to improve male fertility.

**Keywords:** sperm morphometry, genetic parameters, rams