

Parámetros seminales en el conejo de monte criado en cautividad

M. Dávila, S. Badia y P.G. Rebollar

Dávila M.; Badía S.; Rebollar P.G.*

*Dpto. de Producción Animal. Ciudad Universitaria s/n. 28041 Madrid
Granja Cinegética Cunicinca. C/ Santa Quiteria nº52, 22520 Fraga (Huesca).

Resumen

En este estudio se utilizaron 10 conejos de monte, machos, de 6 meses de edad con un peso aproximado de 1kg que estaban iniciando su actividad reproductiva. Cada macho fue sometido a dos intentos de recogida de semen con vagina artificial una vez a la semana y con un intervalo de 20-30 minutos. Todas las medidas fueron realizadas por el mismo técnico a lo largo de todo el experimento. Los parámetros macroscópicos que se analizaron fueron el color (gris, blanco y crema), la presencia o ausencia de gel (% de saltos que presentaron gel) y el volumen en ausencia de gel. Los parámetros microscópicos fueron la concentración (nº de espermatozoides/ml) y la motilidad según una escala de 1 a 4 basada en el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva.

El volumen medio de los eyaculados obtenidos fue de 0.22 ± 0.006 ml y la presencia de gel se detectó en el 30% de los eyaculados. En ambos casos no se encontraron diferencias significativas entre el primer y segundo salto. En cuanto al color, la motilidad y la concentración, el segundo eyaculado fue significativamente mejor que el primero. La concentración media obtenida con cámara de Bürker fue de 618 ± 81.3 millones de espermatozoides por mililitro, obteniéndose eyaculados más concentrados significativamente en el segundo salto que en el primero ($p < 0.0001$).

Tras la valoración de los eyaculados se realizó un pool de semen en un diluyente inorgánico y se inseminaron 242 conejas receptoras, 130 eran nulíparas y 112 primíparas (lactantes y no lactantes), con dosis seminales de entre 10 y 20 millones de espermatozoides. En cuanto a la fertilidad y la prolificidad, no se obtuvieron diferencias entre las conejas nulíparas y primíparas, (80% y 75% respectivamente). Tampoco se observaron diferencias entre las conejas lactantes y las no lactantes, (75% y 74% respectivamente). Con independencia del estado fisiológico de la coneja, los nacidos totales fueron $4,5 \pm 0,35$ y los nacidos muertos $0,4 \pm 0,2$ gazapos/parto. Estos resultados son satisfactorios teniendo en cuenta que todas las conejas que se inseminaron eran receptoras, independientemente de su estado fisiológico.

Los resultados preliminares obtenidos, muestran la posibilidad de transferir la técnica de la inseminación artificial a granjas cinegéticas destinadas a la producción y repoblación del conejo de monte.

Abstract

This study was performed to evaluate the seminal parameters of 10 young wild rabbit males, aged 6 months. The semen was collected with an artificial vagina once a

week, trying to obtain two ejaculates per male with an interval of 20-30 minutes. All the measurements were made by the same expert technician during the whole experiment.

The macroscopic parameters analyzed were the color (gray, white and cream), the gel presence or absence (expressed as % of ejaculates showing gel) and the volume in gel absence. The mean semen volume was $0,22 \pm 0,006$ ml and the gel presence was detected in 30% of the ejaculates. The microscopic parameters considered were the concentration (number of espermatozoa/ml) and the motility using an arbitrary scale of 1-4 based on the ratio of sperm cells with progressive movement.

The mean concentration was $618 \pm 81,3$ millions esp/ml. Order of collection influenced colour, motility and concentration. Second ejaculates had more cream colour and more motility than first. In addition, the highest concentration was observed in the second ejaculate (827 ± 78.49 vs 450.8 ± 63.32 , millions esp./ml, respectively) and the concentration and colour were significantly correlated ($r: 0.75$; $p < 0.001$).

After semen evaluation, pool of semen was made in an inorganic extender to obtain doses of 15-20 millions of spermatozoa. A total of 242 artificial inseminations were made in receptive doe rabbits (130 nulliparous and 112 primiparous lactating or not). Mean fertility and prolificacy obtained were 78% and 4.5 ± 0.35 pups per litter. As only receptive does were inseminated, similar fertility and prolificacy results were obtained in nuliparous and primiparous does and identical results were obtained between lactating and non lactating does.

The results obtained during the experimental period are considered similar to meat rabbit ones. So, in future studies, the possibility of transferring non hormonal synchronization methods and extender more effective for dilution and storage in order to improve the appeal of using artificial insemination technique in wild rabbit farms, it must be considered.

Introducción

En las actuales granjas cinegéticas destinadas a la producción de conejo de monte, el manejo y control reproductivo de las hembras y machos utilizados como núcleo de producción controlado genética y sanitariamente, es similar al aplicado en las granjas industriales de producción de conejo de carne, salvo modificaciones en cuanto a la fase postdestete (Roca, 1994). Debido a la creciente dificultad para la captura en fincas de esta especie y a la demanda creciente por conseguir ejemplares se consideran de extraordinaria importancia las granjas de conejos para repoblación (Mena y Molera, 1997). El conejo silvestre se ha cruzado con razas domésticas tanto en España como en Francia, ya que el manejo del conejo de monte genéticamente puro es muy difícil en jaula (González, 2001). No obstante, existen diferencias fisiológicas (estacionalidad, baja prolificidad, susceptibilidad al estrés, etc.), entre este tipo de animales y el conejo doméstico que es preciso definir.

En cualquier explotación es necesario determinar qué condiciones medioambientales, qué necesidades nutritivas y qué manejo reproductivo son adecuados, para optimizar la producción. Dada la aceptable mejora de los parámetros reproductivos que se están obteniendo actualmente en el conejo doméstico mediante técnicas asistidas como la inseminación artificial, nos parece de interés poder transferir este tipo de métodos a las granjas cinegéticas dedicadas a la repoblación y recuperación de esta especie. Para aplicar correctamente la técnica de inseminación artificial y poder asegurar un buen resultado de

fertilidad, dos de los aspectos claves son la calidad del semen y el estado fisiológico de la hembra.

El objetivo de este estudio ha sido estudiar los parámetros fisiológicos seminales del conejo de monte criado en cautividad y la fertilidad obtenida al aplicar la técnica de inseminación artificial tal y como se realiza en el conejo doméstico.

Material y métodos

Este estudio se desarrolló desde noviembre del 2002 hasta enero del 2003, en la granja cinegética CUNICINCA de Fraga (Huesca). Se utilizaron 10 machos de 6 meses de edad con un peso aproximado de 1kg que estaban iniciando su actividad reproductiva. Los conejos, una vez destetados, se alojaron en el interior de una nave, en jaulas individuales y sometidos a un fotoperiodo de 15 horas de luz y 9 de oscuridad. La ventilación de la nave era natural y la temperatura se determinó diariamente oscilando entre valores mínimos de 0-5 °C y máximos de 7-15 °C.

Todos los animales fueron sometidos a dos intentos de recogida de semen con vagina artificial una vez a la semana y con un intervalo de 20-30 minutos. La recogida se realizaba en la jaula del macho utilizando una hembra como maniquí tal y como se describe por Rebollar (1993). Una vez recogidos los eyaculados fueron valorados por el mismo técnico. Los parámetros macroscópicos que se analizaron fueron el color (gris, blanco y crema), desechándose los eyaculados con coloraciones anormales (rojiza, amarillenta o marrón), la presencia o ausencia de gel (% de saltos que presentaron gel) y el volumen en ausencia de gel.

Los parámetros microscópicos fueron la concentración y la motilidad masal. La concentración espermática (nº de espermatozoides/ml) fue determinada con cámara de Bürker, calculándose más tarde el número de espermatozoides por eyaculado. La motilidad fue observada inmediatamente después de la recogida y por el mismo operador a 100 aumentos, asignándole un valor entre 1-4 (1 (0-25%), 2 (26-50%), 3 (51-75%) y 4 (76-100%) (Rebollar, 1993).

Una vez terminada la valoración se realizó un pool de semen en un diluyente inorgánico para inseminación en fresco. Las dosis se mantuvieron a temperatura ambiente evitando cambios bruscos de temperatura y se realizaron con concentraciones comprendidas entre 10 y 20 millones de espermatozoides por coneja y en un volumen de 0,5 ml.

El mismo técnico realizó un total de 242 inseminaciones en conejas nulíparas y primíparas que no habían recibido ningún tratamiento de sincronización de celo. Estas últimas se encontraban aproximadamente en el día 18 post-parto. Antes de la inseminación se determinó el estado fisiológico de la hembra (lactante o no) y el grado de receptividad sexual de manera que sólo fueron inseminadas las conejas que presentaban la vulva rojiza. La deposición vaginal profunda del semen se realizó con cánulas de plástico de un solo uso introducidas por el mismo operador que sujetaba a la coneja. Para la inducción de ovulación se empleó un análogo sintético de GnRH (Buserelina 1mg por coneja vía i.m.) inmediatamente después de la inseminación.

Todos los animales fueron alimentados ad libitum, con un pienso comercial (17,5% PB, 2,5% materia grasa, 17% FB y 8% de cenizas) y los machos recibieron un aporte vitamínico-mineral.

Todos los datos fueron analizados utilizando el programa estadístico SAS (Statistical

Analysis System, 1993). La concentración y el volumen fueron analizadas con el procedimiento GLM (proc GLM), y la motilidad, la presencia de gel y el color del semen con el procedimiento CATMOD (Categorical Model), tomando el número de salto como principal fuente de variación. La fertilidad también se analizó como una variable discreta, estudiando el efecto de la edad (núlpara y primípara) y del estado fisiológico de la coneja (lactantes y no lactantes).

Resultados

En total se analizaron 104 eyaculados recogidos de los 10 machos. No todos los animales eyacularon en todos los intentos de recogida y sólo en el 61% de las ocasiones se recogió el segundo eyaculado.

Los resultados medios se muestran en la tabla 1.

Tabla-1

Parámetros seminales de conejos de monte en cautividad				
	1º eyaculado	2º eyaculado	E.E.M.	P
Volumen (ml)	0,23	0,21	0,006	0.0865
Presencia de gel (%)	30	30	4.41	0.8877
Motilidad (1-4)	1.91 ^a	2.45 ^b	0,094	0.0062
Concentración (esp/ml)	450.8±63.32 ^a	827±78.49 ^b	49.28	0.0001

Los eyaculados se recogían una vez a la semana y el tiempo transcurrido entre los dos saltos fue de 20-30 minutos.
EMM: Error estándar de la media (n=104).

Las medias seguidas de letras distintas son estadísticamente diferentes.

El volumen medio de los eyaculados obtenidos fue de 0.22 ± 0.006 ml y no se observaron diferencias significativas entre el primer y el segundo salto. La presencia de gel se detectó en el 30% de los eyaculados y no hubo diferencias significativas entre machos ni entre saltos.

La motilidad media observada subjetivamente con una escala de 1 a 4 fue de 2.28. A pesar de existir una elevada variabilidad individual, la motilidad espermática en el segundo salto fue siempre superior a la del primero ($p < 0.006$).

La concentración media obtenida fue de $618 \pm 81,3$ millones de espermatozoides por ml. La concentración espermática del segundo eyaculado fue significativamente superior a la del primero ($p < 0.0001$), a pesar de existir una elevada variabilidad individual. En el cálculo del número de espermatozoides por eyaculado influyó la concentración, que mejoró también en el segundo salto. Así los primeros saltos presentaron una media de 93.7 ± 13.27 millones de espermatozoides, mientras que los segundos ascendieron a 174.85 ± 16.6 millones de espermatozoides ($p < 0.001$).

Los eyaculados recogidos en segundo lugar presentaron colores más cremosos o blancos que los recogidos los primeros ($p < 0.007$). La distribución del total de los eyaculados según el color queda representada en la figura 1.

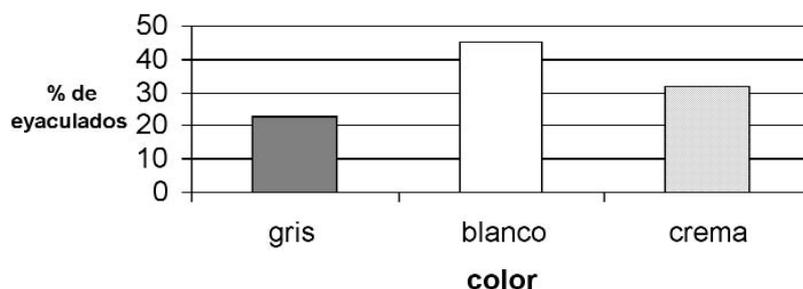


Figura 1. Porcentaje de eyaculados que presentaron un color gris, blanco o crema.

Sólo un 3.8 % de los 104 eyaculados presentaron una coloración anormal. Estos eyaculados pertenecían a machos distintos, y la causa de estas coloraciones fue accidental, es decir, hubo una contaminación con heces u orina. En el caso de la orina se observó un claro aumento del volumen y no fueron valorados. En la siguiente figura se muestra la importante variabilidad individual entre cada uno de los machos del experimento en cuanto al color de los eyaculados.

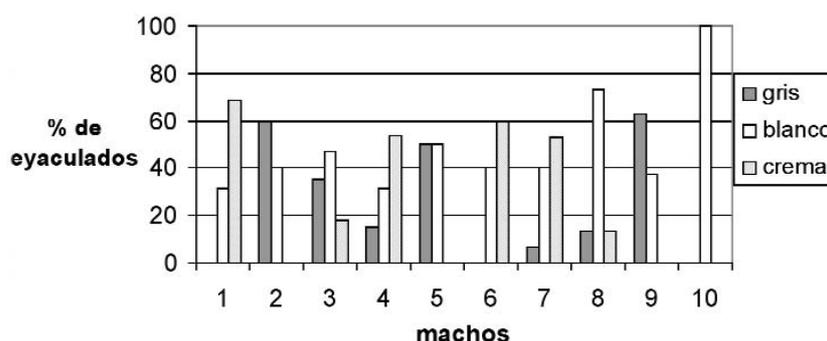


Figura 2. Porcentaje de eyaculados que presentaron una coloración gris (1), blanca (2) o crema (3), pertenecientes a 10 conejos de monte cuyo semen fue recogido semanalmente durante tres meses.

Se observó una correlación significativa ($p < 0.001$) entre el color y la concentración ($r = 0.75$), de tal forma que a medida que aumenta el color (gris < blanco < crema), aumenta la concentración espermática (tabla 2).

Tabla-2

Relación entre el color del eyaculado y la concentración (millones/ml)			
Color	n	Concentración	EMM
Gris	23	215.2 ^a	96.31
Blanco	45	504.8 ^b	68.86
Crema	32	1091.5 ^c	81.65

n: número de observaciones. EMM, error estándar medio. a, b, c: $p < 0,05$

La fertilidad media obtenida en el total de inseminaciones artificiales realizadas fue del 78% (tabla 3). No se han encontrado diferencias significativas entre las conejas lactantes y no lactantes, ni en función del número de gazapos lactantes. Tampoco se han observado diferencias entre las hembras nulíparas (130 conejas) y primíparas (112 conejas).

Tabla-3

Fertilidad y prolificidad de las conejas de monte inseminadas.			
Efecto de la edad (nulíparas y primíparas) y del estado fisiológico (lactantes y no lactantes)			
Primíparas			
	Nulíparas	Lactantes	No lactantes
Fertilidad (%)	80	75	74
NT±s.e.m	4.4±0.32	4.8±0.28	4.5±0.49
NM±s.e.m	0.4±0.22	0.14±0.13	0.59±0.23

NT: Nacidos totales; NM: Nacidos muertos; n=242 inseminaciones.

Discusión

La posibilidad de recoger el semen en el conejo de monte criado en cautividad y alojado en jaulas individuales ha resultado satisfactoria. Ahora bien, hay que indicar que la destreza y la práctica en este tipo de técnicas hace este trabajo más fácil para una persona experimentada y acostumbrada a trabajar con esta clase de animales huidizos y fácilmente estresables. El estudio de los parámetros seminales del conejo de monte cruzado criado en cautividad ha ofrecido resultados en algunos casos similares a las observaciones y datos que se conocen en el conejo doméstico.

Dado que se trataba de machos de 6 meses de edad que iniciaban su actividad reproductiva, no todos ellos empezaron a saltar la misma semana y no siempre fue posible la obtención de un eyaculado. No obstante, el fotoperiodo de días largos (15 horas de luz/9 horas de oscuridad) al que estaban sometidos desde el destete probablemente facilitó el inicio de la actividad sexual. Estos resultados concuerdan con otros autores (Boyd 1985) y confirman que en el conejo de monte de las regiones continentales, la actividad testicular y el nivel de testosterona se incrementan durante la época de cría, es decir, en fotoperiodos largos.

El volumen de los eyaculados recogidos en este tipo de animales ha resultado ser inferior al descrito por otros autores en el conejo doméstico (Rebollar et al., 1998; Castellini et al., 1999; Lavara et al. 2000; Arroita et al. 2000), en los que se suelen superar los 0.5 ml. En cuanto a la coloración de los eyaculados se observa una variación individual importante y un claro efecto de la concentración espermática similar al descrito por otros autores en el conejo de carne (Costantini, 1989).

La concentración espermática media es similar a la descrita en otros trabajos con conejos de carne (Brun et al., 2002; Mocé et al.2000, Arroita et al. 2000). Teniendo en cuenta el volumen y la concentración observadas podemos decir que el semen de los conejos estudiados en este trabajo es mucho más concentrado que en el conejo doméstico. Las diferencias tan elevadas, observadas entre valores máximos y mínimos de concentración para cada macho pudieron deberse a las variaciones climáticas (temperatura especialmente), presentes en la zona a finales de diciembre, observándose el 60% de los valores mínimos en estas fechas.

La fertilidad obtenida en las conejas inseminadas es similar a la que se observa en las conejas domésticas receptivas. En conejas nulíparas de edad y peso adecuados la inducción de ovulación con buserelina no ha presentado problemas ya que en los ovarios de

este tipo de animales siempre existen un número elevado de folículos capaces de ovular (Molina et al. 1987). El hecho de inseminar solamente a las conejas de vulvas rojizas eliminó del experimento a las que en condiciones normales no hubieran aceptado la monta. La lactación es un estado fisiológico que en estas hembras podría tener el mismo efecto negativo sobre los resultados de fertilidad (Rebollar et al. 1992). Sin embargo, como ocurre en la coneja doméstica hay un porcentaje de conejas que aún siendo lactantes son receptivas al macho pudiéndose obtener resultados de fertilidad similares a los obtenidos en las conejas no lactantes. Además la influencia de la lactación se ve disminuida por el hecho de que las conejas inseminadas se encontraban en un estado de lactación avanzado nunca inferior a los 18 días post-parto.

En conclusión podemos decir que los resultados preliminares obtenidos en el conejo de monte en cuanto a su productividad espermática son satisfactorios y probablemente puedan ser mejorados en animales con una rutina de recogida definida y con una mayor edad. En cuanto a los resultados de fertilidad son también satisfactorios, teniendo en cuenta que la dosis seminal fue similar a la que se utiliza en conejas de carne y que todas las conejas inseminadas eran receptivas. A la hora de plantear la inseminación artificial como manejo reproductivo, serán necesarios más estudios sobre el empleo de métodos de sincronización de celo no hormonales que permitan disponer de más conejas receptivas y de diluyentes que favorezcan la conservación del semen a largo plazo.

Agradecimientos

Agradecemos la colaboración del personal de la Granja Cinegética CUNICINCA en la puesta en marcha de este proyecto, que ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología mediante el proyecto PTR95- 0567-OP.

Bibliografía

- ABDEL-GHAFFAR, A.E, EL-AZAB, A.I, EL-DAWY, K.H, (1994). Rabbit semen metabolism. *Cahiers Options Mediterraneennes* 8, 305-312.
- ARROITA, Z, FALCETO, M.V, MARTÍN RILLO, S., DE ALBA, C, MORENO, C, CIUDAD, M.J, (2000). Effect of collection frequency on production, quality and storage of young bucks semen. *7th World Rabbit Congress*, vol A, 81-95.
- BRUN J.M.; THEAU-CLÈMENT M.; BOLET G. (2002). The relationship between rabbit semen characteristics and reproductive performance after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, 70, 139-149.
- CASTELLINI C.; LATTAIOLI P. (1999). Effect of number of motile sperms inseminated on reproductive performance of rabbit does. *Animal Reproduction Science*, 57,111-120.
- COSTANTINI F. (1989). Fecondazione artificiale nel coniglio, sistemi di conservazione dello sperma. *Rivista di Coniglicoltura*, 4, 14-18.
- GONZÁLEZ P. (2001). Producción del conejo silvestre en cautividad. *II Jornadas Internacionales de Cunicultura*. Associação Portuguesa dos Engenheiros Zootécnicos (APEZ). 111-128.
- BOYD IL.(1985). Effect of photoperiod and melatonin on testis development and regression in wild european rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Biology of Reproduction*, 33, 21-29.
- MENA Y. Y MOLERA M. (1997). Repoblaciones de conejo y liebre. En : *Bases fisiológicas y gestión de especies cinegéticas en Andalucía*. Universidad de Córdoba.

MOCÉ, E., LAVARA, R., LAVARA, F., VICENTE, J.S., (2000). Effect of reproductive rhythm on seminal parameters from a rabbit line with high growth rate. 7th World Rabbit Congress, vol A, 197-201.

MOLINA I.; PLA M. Y GARCÍA F. (1987). Inducción de la ovulación por HCG en el conejo doméstico. XII Symposium de Cunicultura, 145-155.

REBOLLAR P.G.(1993). Inseminación artificial. En: Alvariño J.MR. Control de la reproducción en el conejo. Ed. Mundiprensa y Ministerio de Agricultura, Pesca y alimentación 65-87.

REBOLLAR P.G.; UBILLA E.; RODRÍGUEZ J.M. (1992). Influence of the parturition-insemination interval on the conception rate in rabbits artificially inseminated with fresh semen. J. Appl. Rabbit Res., 15, 407-411.

REBOLLAR P.G.; UBILLA E.; ALVARIÑO J.M.R.; LORENZO P.L.; SILVÁN G. Y ILERA J.C. (1998). Effects of HCG or gonadoreline on seminal parameters and plasma testosterone levels in young male rabbits. J. Physiol. Biochem., 54, 161-168.

ROCA T. (1994). Rentabilidad de la explotación del conejo de monte. Cunicultura, 108, 105-108.

SAS, (1993). SAS/STAT User's Guide (Release 6.08). SAS Inst. INC., Cary, NC.