



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

MÁSTER EN PRODUCCIÓN ANIMAL

**ESTUDIO DE LA METODOLOGÍA DE
TRABAJO EN UN CENTRO DE
INSEMINACIÓN CUNÍCOLA**

Trabajo fin de Máster

Valencia, Septiembre 2012

Elvira Martín Lorente

Director académico: Juan José Pascual Amorós

Directora experimental: Cristina Fabre Castellano

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| 1. DESCRIPCIÓN DE LA ESTANCIA..... | 3 |
| 1.1. Grupo Arcoiris y SAT GUCO..... | 3 |
| 1.2 Entorno de actividad..... | 4 |
| 1.3 Distribución de la plantilla de empleados..... | 5 |
| 1.4 Trazabilidad..... | 5 |
| 1.5 Tareas realizadas durante la estancia..... | 6 |
| 2. LA INSEMINACIÓN ARITIFICIAL (IA) EN CUNICULTURA..... | 9 |
| 2.1. Difusión del material genético..... | 9 |
| 2.2. Factores de variabilidad en la obtención de dosis de inseminación..... | 11 |
| 2.3. Métodos de contrastación seminal..... | 11 |
| 3. ESTUDIO DE LA PRODUCCIÓN SEMINAL EN EL CENTRO DE INSEMINACIÓN CUNÍCOLA..... | 16 |
| 3.1. Objetivo..... | 16 |
| 3.2. Material y métodos..... | 16 |
| 3.3. Resultados y discusión..... | 20 |
| 3.4. Conclusiones..... | 24 |
| 3.5. Propuestas de mejora..... | 24 |
| 4. BIBLIOGRAFÍA..... | 26 |

1. DESCRIPCIÓN DE LA ESTANCIA

1.1. Grupo Arcoíris y SAT GUCO

La empresa en la cual he realizado las prácticas se denomina SAT GUCO (Imagen 1) y pertenece a la Agrupación de Sociedades Agrarias de Transformación ARCOÍRIS. El nombre de GUCO es el acrónimo de Ganadería Unida Comarcal, y dicha empresa se dedica a la fabricación de piensos, de aporta a los ganaderos además un servicio técnico veterinario (Imagen 2). La empresa se encuentra situada en el municipio de Valderrobres, Teruel.



Imagen1: Imagen corporativa de SAT GUCO

Fue la primera empresa creada por el grupo Arcoíris en 1978 cuando 52 ganaderos de la comarca del Matarraña (Teruel) decidieron fabricar piensos conjuntamente. Cuenta con 627 socios de las provincias de Teruel, Zaragoza, Castellón y Tarragona, y elaboran piensos para todo tipo de ganado, con una producción anual que ronda las 100.000 toneladas.



Imagen 2: Fábrica de piensos SAT GUCO.

El mencionado servicio técnico veterinario está especializado en las distintas especies de ganado y ofrece un servicio integral, es decir, los veterinarios proporcionan a los ganaderos todas aquellas herramientas tanto materiales (pienso o material genético) como técnicas, asesorando en el uso de los productos o en la aplicación de sistemas que agilizan y rentabilizan las explotaciones. Además, asesoran a los socios en cuestiones de patología médica y también técnica, organizando foros y encuentros entre ganaderos con la finalidad de lograr mejores resultados.

El grupo Arcoíris está formado por cinco Sociedades Agrarias de Transformación (Imagen 3):

- GUCO: Fábrica de piensos y servicios
- SOINCAR: Industrialización del cerdo
- CIAR: Centro de inseminación del porcino
- INCO: Industrialización del conejo
- AVIVA: Producción y comercialización de pollos de engorde.

Así como por otras tantas empresas participadas como el matadero comarcal, el servicio de recogida de estiércoles y purines, gestorías, correduría de seguros, tiendas, transportes, servicio informático, etc.



Imagen 3: Sociedades agrarias de transformación pertenecientes al Grupo Arcoíris

1.2 Entorno de actividad



Imagen 4: Mapa de la comarca del Mararraña

La comarca del Matarraña está situada al noreste de la provincia de Teruel, lindando con las provincias de Castellón y Tarragona. Está conformada por 18 municipios, con capital administrativa en Valderrobres y cultural en Calaceite (Imagen 4).

Esta comarca se caracteriza por el predominio del sector ganadero (más del 67% de su producción final agraria) y la agricultura de secano con grandes extensiones de olivar y almendro, y en menor medida de cereal y vid. El regadío tiene carácter residual con un 4% de su superficie agrícola útil.

Los procesos de industrialización se desarrollan, básicamente, a través de estructuras asociativas de filosofía cooperativa, convirtiéndose en una alternativa de futuro con la generación de valor añadido y empleo.

1.3 Distribución de la plantilla de empleados

El grupo ARCOÍRIS cuenta con 312 trabajadores (a fecha de 30/09/2011) distribuidos de la siguiente forma: GUCO (23), Ciar (11), Soincar (28), Inco (36); y el resto en las diferentes empresas participadas (gestorías, seguros, tiendas, energía, servicios de limpieza, transporte...).

El porcentaje de inmigración extracomunitaria es del 33%, y la distribución por sexos es del 34% de mujeres frente al 66% de hombres.

1.4 Trazabilidad

Al ser todos los procesos de producción propios se controla perfectamente la trazabilidad del producto como se observa en la Imagen 5. Se realiza el seguimiento completo al animal a partir de la selección genética, y siguiendo la alimentación, cría y cuidados veterinarios que se le aplican. También se cuenta con matadero, sala de despiece y secadero propio.

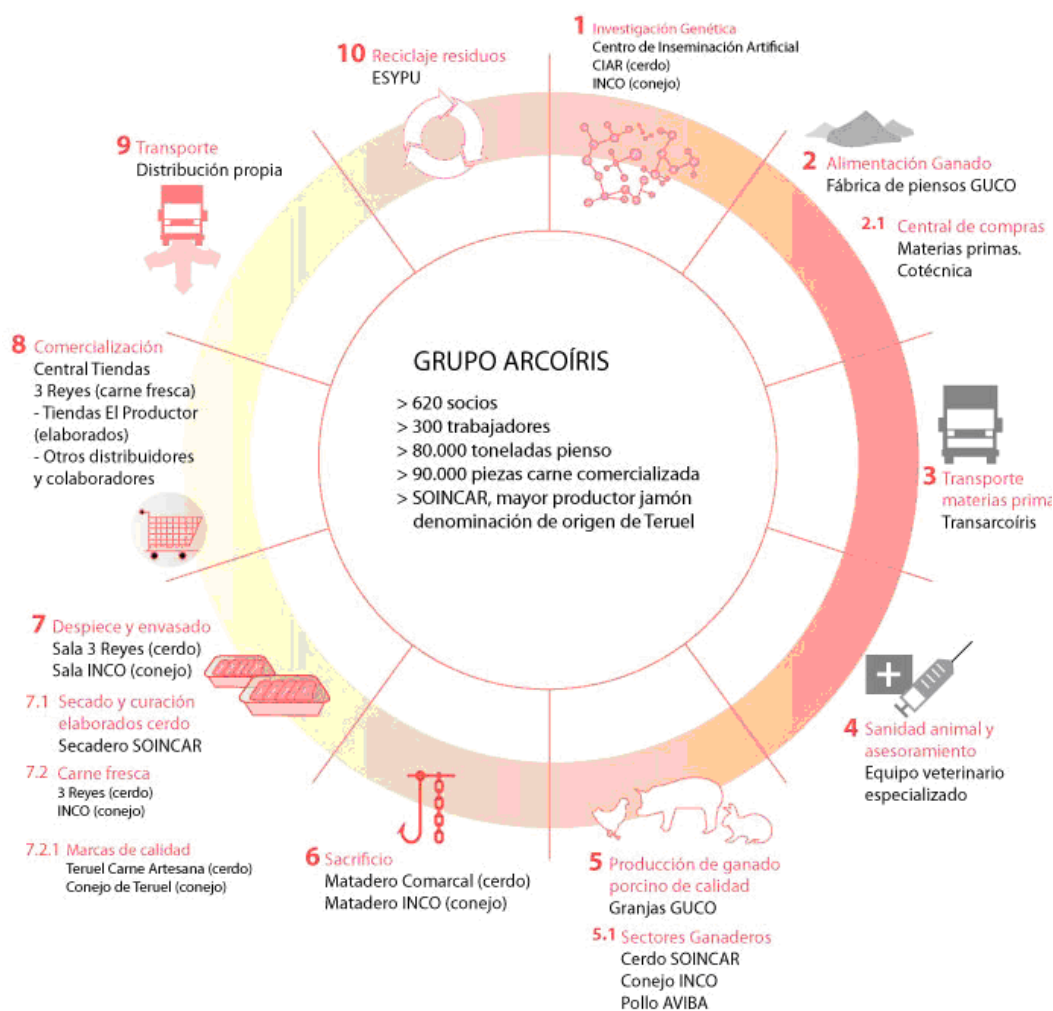


Imagen 5: Esquema de trazabilidad Grupo ARCOÍRIS.

1.5 Tareas realizadas durante la estancia

Al pertenecer la empresa SAT GUCO al Grupo ARCOÍRIS he podido realizar mis prácticas en varias de las empresas que lo conforman.

Prácticas de asistencia veterinaria

Durante dos meses he estado acompañando a los veterinarios de GUCO en sus tareas diarias:

- *Cunicultura*: La actividad ha consistido en acompañar a la veterinaria Cristina Fabre en las visitas técnicas a los diferentes clientes de explotaciones cunícolas asesorando y dando solución a todo tipo de problemas que hayan podido surgir, tanto de alimentación, como de instalaciones, patología...

Las principales patologías observadas han sido: enteropatía epizoótica, pasterelosis, mixomatosis y algún caso aislado de enfermedad vírica hemorrágica.

- *Ovino*: Visitas técnicas junto a Nuria Lahoz, veterinaria del ADS Turolense Matarraña, a las diferentes explotaciones para el asesoramiento técnico y para la realización de los sangrados del rebaño para las campañas de saneamiento de brucelosis, vacunación frente a enterotoxemia (basquilla), desparasitación, e identificación individual mediante crotalado y bolo ruminal con transponder.
- *Porcino*: Visitas técnicas junto con Mikel Izaguirre a clientes y también a explotaciones integradas.

Prácticas en el Centro de Inseminación Artificial Porcino (CIAR)

También he participado durante dos semanas en la empresa CIAR situada en las localidades de Peñarroya de Tastavins (Teruel) y Herbés (Castellón).

Mi actividad durante dicha estancia consistió en la extracción de sangre de cada verraco para realizar analíticas y controlar que no presenten enfermedades que puedan transmitirse por el semen, como por ejemplo el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino. Después se observaban en el microscopio las distintas dosis almacenadas con fecha de caducidad de ese día para corroborar que tuvieran motilidad. Durante el resto de la jornada se observaban los eyaculados microscópicamente con el mediante el Integrated Semen Analysis System (ISAS[®]) para calcular el número de dosis de inseminación que se podían realizar y valorar si el semen estaba en perfectas condiciones. Para ello se valoraba la motilidad, concentración, formas anormales y aglutinación. Con todos estos parámetros se calculaba el número de dosis, se le añadía el diluyente que fuera necesario y para acabar, se envasaban las dosis y se almacenaban a una temperatura de 15°C hasta su recogida por los clientes.

Prácticas en INCO

Durante tres semanas estuve en el centro de inseminación cunícola INCO. Este centro suministra aproximadamente unas 300.000 dosis anuales a explotaciones de

toda España, aunque principalmente a las provincias de Teruel, Tarragona y Castellón.

En el centro existen tres líneas genéticas seleccionadas:

- IRTA paternal, línea Caldes seleccionada por velocidad de crecimiento en engorde.
- IRTA maternal, línea Prat seleccionada por tamaño de camada al destete.
- HYPLUS, línea PS40 seleccionada por velocidad de crecimiento en engorde.

Procedimiento de obtención de dosis: Primero se procede a la recogida del semen mediante una vagina artificial que está mantenida a temperatura de 55-60°C. Los eyaculados son valorados macro y microscópicamente, y se eliminan aquellos que no cumplan las características deseadas. Durante el mes de julio se comenzó a utilizar el sistema CASA (Computer Assisted Sperm Análisis), cuyo interés se describe más adelante. Una vez realizado el pool se proceden a envasar las dosis según los pedidos de los clientes. El sistema de envasado más frecuente es el AFIS (Assisted Fertilization Individual System), aunque también se utilizan el método tradicional en pool, y el sistema en pool con análogos de hormona GnRH incorporada. Gracias a este sistema es posible la administración vía intravaginal de la hormona que desencadena la ovulación, en vez de la parenteral que se ha utilizado hasta ahora. Una vez envasadas las dosis, se almacenan a una temperatura de 18 °C hasta su utilización.

La entrega de las dosis varía en función del tipo de cliente:

- Clientes que se inseminan sus propias conejas: Las dosis se sirven en la puerta de la explotación junto con las agujas y jeringas que necesiten. Las dosis y el resto de material se encuentran dentro de la caja aislante de transporte a 18°C.
- Clientes que no inseminan sus propias conejas: El personal del centro transporta las dosis hasta la explotación e insemina las conejas, aportando todo el material que sea necesario.

La técnica de inseminación artificial (IA) en la coneja es vaginal profunda, ya que al poseer el útero de esta especie una morfología especial (útero doble o didelfo) es muy difícil la deposición del semen a nivel del cérvix o del útero. El método de sujeción utilizado es en el que la coneja se sitúa en posición inversa como se muestra en la Imagen 6. Consiste en inmovilizar a la coneja en decúbito supino sobre el brazo de un ayudante, quien la sujeta por las orejas y la piel de la región cervical con una mano, empleando la otra para agarrar la cola y la piel de la región lumbar. La ventaja de esta posición es que la coneja no adopta ninguna posición de defensa por lo que la inseminación es más rápida y cómoda. Seguidamente el inseminador abre los labios de la vulva e



Imagen 6: Método de sujeción de la coneja para inseminación

introduce el catéter en la vagina, cuando el extremo del catéter esta próximo al cuello del útero, se presiona el émbolo de la jeringuilla y se deposita el semen. Inmediatamente después de la inseminación, se procede a la inyección vía intramuscular de la hormona que desencadenará la ovulación.

Sistema CASA para la valoración del semen de conejo: El análisis objetivo, riguroso y simultáneo, de varios parámetros relativos a las características funcionales y morfológicas de los espermatozoides, permite estimar razonablemente el potencial fecundante de una muestra de semen (Amann, 1989). Por ello, se han desarrollado nuevas tecnologías in vitro, como los sistemas CASA, que permiten el estudio de múltiples características funcionales y morfológicas de los espermatozoides, para intentar predecir la capacidad fecundante del semen de la forma más objetiva posible. El uso de los sistemas CASA proporciona toda una serie de datos relativos a la velocidad y trayectoria de cada espermatozoide individual, lo cual es una visión más real que la motilidad media de la muestra (Davis et al., 1995; Holt, 1996; Abaigar et al., 1999). Desde que se introdujeron en el mercado a principios de los años 80, los sistemas CASA se han ido perfeccionando y modernizando, y en consecuencia, comenzaron a utilizarse cada vez con más frecuencia en los centros de IA, especialmente en la especie bovina y porcina. El uso de sistemas CASA para la contrastación rutinaria de las dosis seminales ofrece notables ventajas pero también posee algunos inconvenientes. Uno de los principales es que no existe una estandarización y optimización de los equipos y de los procedimientos empleados en los análisis (Verstegen et al., 2002). En el análisis espermático en conejo, esto se complica mucho más ante las características peculiares de sus eyaculados, que presentan un alto nivel de "suciedad y restos". De hecho la empresa se encuentra inmersa en el desarrollo de un protocolo del sistema CASA para que sea capaz de adaptarse a estas características del semen del conejo.

Al finalizar mi periodo de prácticas en empresa he podido continuar mi formación durante tres meses más en el centro de inseminación cunícola INCO. En todo ese tiempo he aprendido mucho más sobre cunicultura y en especial sobre inseminación artificial.

Gracias a ello, he podido trabajar directamente con muchos cunicultores y conocer de primera mano el trabajo que ellos desempeñan, pudiendo intercambiar impresiones, formas de trabajo y opiniones diferentes.

En el propio centro de inseminación también he formado parte activa de su equipo de trabajo y he participado en todas las tareas que se desarrollan, lo que me ha ayudado a conocer cómo está estructurado y la labor que desarrollan a diario.

Por todo esto, mi trabajo de fin de máster está enfocado a la inseminación artificial en conejos y a la producción seminal en el centro de inseminación INCO.

2. LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (IA) EN CUNICULTURA

La IA es un método muy utilizado en los sistemas de producción actuales, aunque en cada especie comenzó a ser ampliamente utilizada en una determinada época. Su uso en cunicultura es muy reciente, aproximadamente a finales de los años 80, aunque a partir de aquí ha aumentado de forma muy rápida hasta hoy en día. Según la encuesta del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, en 2007 el porcentaje de granjas que utilizan la IA es del 51.3%, frente al 44.9% con monta natural. Este bajo porcentaje viene dado porque la mayor parte de las granjas de menos de 20 conejas, o familiares, realizan monta natural. Si analizamos el porcentaje de gazapos nacidos mediante uno u otro método se observa que el 81.2% provienen de la IA, mientras que sólo el 18.8% de la monta natural. Si comparamos estos resultados con los de la encuesta de 2004 se observa que la IA ha superado a la monta natural ya que entonces sólo se utilizaba en un 33.3% frente al 62.5% del sistema tradicional. De igual forma, el manejo en bandas también ha aumentado de un 39.4% en 2003 hasta el 57.6% en 2007. Este aumento viene dado por la relación existente entre ambas, ya que una de las principales ventajas de la IA se derivan del empleo del manejo en bandas, y más concretamente del uso de la banda única que supone el 40.6% del total. Las principales ventajas de la IA junto con el manejo en banda única son (Quintela *et al.* 2007):

- Ahorro de tiempo y mano de obra, en el propio proceso de inseminación, y en el manejo en maternidad y engorde al ser todos los gazapos de la misma edad.
- Mayor aprovechamiento de la superficie de la explotación, ya que al eliminar las jaulas destinadas a machos se pueden alojar hasta un 15% de conejas en producción y aumentar así la productividad.
- Mayor uniformidad y lotes más homogéneos, lo que facilita la venta y la matanza.
- Mejores condiciones higiénico-sanitarias ya que se elimina el contacto entre animales que existe en la monta natural.
- Y, por último, la difusión de la mejora genética a través del semen, de gran importancia y que se describe a continuación.

2.1. Difusión del material genético

La mejora genética es un proceso que nos permite aumentar la capacidad productiva de los animales (García, J. 2009). El principal objetivo de la mejora genética en cunicultura del conejo de carne es la mayor producción posible de conejos para matadero con un peso elevado en el menor número de días. Mediante la realización de cruzamientos entre líneas podemos aprovechar los avances que han resultado de esta selección.

La mayoría de esquemas de mejora en cunicultura utilizan cruzamientos a tres vías. En este tipo de cruzamiento intervienen dos líneas maternas (normalmente seleccionadas por tamaño de camada al destete) para dar como resultado la hembra

cruzada, que se cruza con una línea paternal (macho terminal), seleccionada por caracteres ligados al crecimiento (Lavara *et al.* 2010). Dicho cruce nos permite obtener muchos gazapos que muestran una elevada velocidad de crecimiento. Para obtener la hembra híbrida se utilizan dos líneas para aprovechar la heterosis y el valor híbrido para los caracteres reproductivos. En el caso del macho terminal no se utilizan dos vías porque los caracteres de crecimiento no presentan una heterosis muy importante, y aunque la presentasen, la expresaría el macho terminal y no su descendencia (gazapos de engorde); además del aumento del coste que conllevaría mantener una línea más.

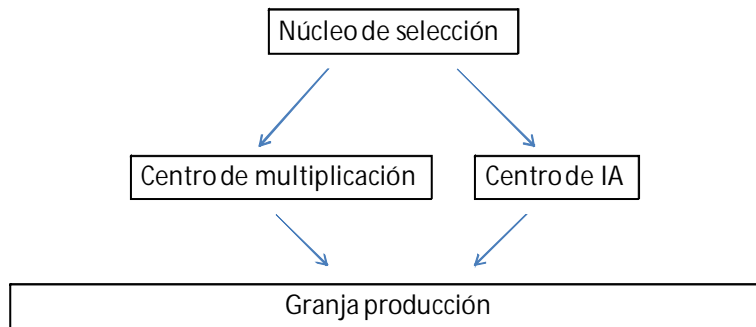


Figura 1: Esquema de difusión del progreso genético.

La difusión del progreso genético se basa en un sistema piramidal dividido en tres niveles como indica la Figura 1:

- *Núcleo de selección:* Es el lugar donde se realiza la selección genética, ya que es donde se encuentran las líneas que son seleccionadas. Es una población cerrada en la que no se introducen animales del exterior y cuentan con unos sistemas de bioseguridad elevados. Los apareamientos son controlados para conocer las genealogías y evitar al máximo la consanguinidad. El núcleo sirve a los multiplicadores animales seleccionados (abuelos) para caracteres reproductivos.
- *Multiplicación:* Obtiene las hembras híbridas como producto del cruce de los abuelos. Estas hembras son ofrecidas al productor. Facilita al núcleo toda la información productiva de los animales para que mejore la precisión de las estimaciones genéticas. El macho terminal también proviene de granjas de multiplicación que disponen de animales facilitados por el núcleo, o de un Centro de IA que distribuye su genética a través del semen (también pueden servir semen de líneas maternas, aunque es menos importante).
- *Producción:* El productor adquiere las hembras híbridas y los machos terminales a la granja de multiplicación o las hembras a la granja de multiplicación y el semen al centro de inseminación, para obtener los conejos para comercializar. Con este último cruzamiento se consigue complementar los caracteres maternos y paternos. En algunas granjas de producción suele ser habitual que adquieran

directamente las abuelas y creen ellos mismos las hembras híbridas (Lavara, 2009), aunque esto sólo es aconsejable cuando la explotación posee más de 100 hembras.

La principal ventaja de este tipo de estructura piramidal es que la mejora genética sólo es aplicada a un número pequeño de animales, pero al difundirse hacia los estratos inferiores incide sobre un número mucho más elevado de éstos.

2.2. Factores de variabilidad en la obtención de dosis de inseminación

Individuales

- *Raza, edad, línea...*

Ambientales

- *Temperatura:* la temperatura es uno de los factores que más afecta a la calidad seminal. Las altas temperaturas, alrededor de los 30°C producen una disminución del volumen de eyaculado, de la velocidad progresiva y de la producción de espermatozoides, así como un aumento del porcentaje de espermatozoides muertos (Marai et al., 2002).
- *Humedad relativa:* el rango óptimo de humedad se encuentra entre el 60-70%, por encima de ésta también se puede observar un descenso en la concentración y la motilidad.
- *Alimentación:* el nivel nutritivo del pienso afecta a la producción seminal ya que piensos con alto valor nutritivo conllevan mayor concentración de espermatozoides por eyaculado y menor porcentaje de formas inmaduras y morfonomalías (Pascual, 2002). Lo mismo ocurre con la suplementación con vitamina E en el agua de bebida a razón de 1g/L (Yousef et al., 2002).
- *Ritmo de producción:* el ritmo más propicio para conseguir los mejores resultados en calidad seminal es el de dos eyaculados sucesivos con un intervalo menor de 15 minutos entre ellos una vez por semana (Bencheikh, 1995).

2.3. Métodos de contrastación seminal

Macroscópica:

- *Aspecto:* El eyaculado puede contener el tapón mucoso que no influye en la calidad seminal y es retirado; o sangre, orina o precipitados de carbonato cálcico, siendo éstos desechados.
- *Color:* El color puede variar desde un blanco nacarado, lo más deseable, hasta blanco lechoso o blanquecino transparente. También puede adquirir colores no deseados por contaminación con sangre u orina.
- *Olor:* No tiene que existir olor desagradable.

- *Volumen*: Se obtiene después de retirar el tapón mucoso.

Microscópica:

- A. **Concentración**: La concentración se puede determinar por diferentes métodos que a continuación se detallan:
- Cámaras de recuento celular (Bürker, Neubauer, Thoma). Este tipo de cámaras de conteo se constan de un portaobjetos que tiene dos zonas con unas pequeñas depresiones y en el fondo de las cuales están marcadas unas cuadrículas de unas dimensiones conocidas. El cubreobjetos se adhiere a la cámara por tensión superficial. Seguidamente se introduce la muestra, que debe ser líquida, con las células que deseamos contar en suspensión y por capilaridad penetra en el espacio que queda entre la cámara y el cubreobjetos. Se contabilizarán aquellos espermatozoides cuyas cabezas se encuentren dentro de las cuadrículas y las que estén situadas sobre los bordes superior o derecho. Una vez realizado el conteo y conociendo el volumen de líquido que presenta cada campo del retículo, se calcula la concentración de espermatozoides por unidad de volumen de la muestra líquida inicial.
 - Espectrofotometría: De una forma indirecta mediante la medición de la absorbancia a 540nm de la muestra, nos permite conocer la concentración de la misma interpolando nuestro dato en una recta de regresión realizada con diferentes concentraciones de espermatozoides. En cunicultura este método no es muy fiable ya que puede inducir a error debido al gran número de impurezas que presenta el semen de conejo (González-Urdiales, 2002).
 - Técnica de análisis de imagen asistido por ordenador: Sistema CASA (Computer assisted semen analysis): Este sistema nos permite conocer tanto la concentración, como la motilidad, normalidad y subpoblaciones espermáticas. El sistema CASA consta de varias unidades independientes, un microscopio de contraste de fases el cual está conectado a una cámara de vídeo que envía las imágenes a un monitor. Posteriormente esta imagen es enviada a un ordenador, donde un analizador digital de imagen captura varias fotografías seriadas de cada campo microscópico seleccionado (Muiño *et al.* 2005). El software discrimina a los espermatozoides de otras partículas que no lo son, por su tamaño y analiza la trayectoria recorrida por cada espermatozoide individual. El uso de diferentes métodos en diferentes laboratorios hace que la comparación entre los datos de todos ellos sea difícil (Seed *et al.* 1996).
 - Citometría de flujo: La citometría de flujo es una técnica que permite identificar, cuantificar y separar las distintas subpoblaciones espermáticas en una muestra, en función de los distintos patrones de tinción adquiridos tras el marcaje con diferentes colorantes fluorescentes, que se unen a estructuras celulares específicas o se acumulan selectivamente en algunos compartimentos intracelulares.

B. Motilidad. Las características de motilidad de los espermatozoides se pueden determinar mediante:

- Motilidad masal: Indica la proporción de espermatozoides que presentan algún tipo de movimiento, valorándose en conjunto. Para poder determinarla se deposita una gota de semen, normalmente sin diluir, en un portaobjetos y se observa en un microscopio a 40x aumentos. Se valoran las ondas o remolinos que se forman en la superficie de la gota y se le asigna una valoración subjetiva de 0 a 5 (Tabla 1), siendo descartados los eyaculados que presentan una motilidad masal menor de 4.

Tabla 1: Motilidad masal en semen sin diluir según Evans y Maxwell, 1987.

| Grado | Clave | Descripción |
|-------|-----------|--|
| 5 | Muy bueno | Ondas rápidas. El 90% de los espermatozoides tienen actividad. |
| 4 | Bueno | Movimiento vigoroso. El 70-85% de los espermatozoides tiene actividad. |
| 3 | Regular | Bajo movimiento de ondas. 45-65% de actividad espermática. |
| 2 | Pobre | Ausencia de ondas. Actividad espermática del 20-40% |
| 1 | Muy pobre | Sólo el 10% de los espermatozoides muestra signo de vitalidad. |
| 0 | Muertos | No existe actividad en ningún espermatozoide |

- Motilidad individual: Para estimarla sí que se necesita una dilución previa del eyaculado para poder observar los espermatozoides individualmente. Depositaremos una gota en un portaobjetos atemperado a 37°C y colocaremos un cubreobjetos; seguidamente lo observamos en un microscopio a 40x aumentos valorando el porcentaje de espermatozoides que presentan un movimiento rectilíneo y progresivo que es el deseable. Todo espermatozoide que no posea movimiento o éste sea circular, no será contabilizado.
- Técnica de análisis de imagen asistido por ordenador: Tal y como hemos mencionado anteriormente, también podemos determinar la motilidad por el sistema CASA. Los programas asociados incluyen una serie de parámetros descriptores del movimiento comunes a todos los CASA, como son:
 - VCL: velocidad curvilínea, distancia recorrida por el espermatozoide a lo largo de su trayectoria real por unidad de tiempo.
 - VSL: velocidad rectilínea, distancia recorrida por el espermatozoide entre el primer punto y el último de su trayectoria por unidad de tiempo.
 - VAP: velocidad media, distancia recorrida por el espermatozoide a lo largo de su trayectoria media.
 - LIN: índice de linealidad, es la relación porcentual entre la VSL y la VCL.
 - STR: índice de rectitud, es la relación porcentual entre la VSL y la VAP.
 - WOB: índice de oscilación, es la relación porcentual entre la VAP y la VCL.

C. Morfología. El eyaculado contiene cierto porcentaje de espermatozoides con algún tipo de morfoanomalía, que cuando supera ciertos niveles puede relacionarse con una disminución de la fertilidad. Las posibles formas anormales pueden afectar a las diferentes partes del espermatozoide, tanto a la cabeza, acrosoma, tracto intermedio o cola:

- Cabeza: macro/microcabeza, doble, suelta, protuberancia acrosómica.
- Tracto intermedio: enroscado, doble, engrosado, excéntrico, presencia de gota citoplasmática.
- Cola: en ovillo, en látigo, dobles, flexionadas.

Ya que el acrosoma tiene un papel fundamental en la fecundación, es importante realizar una valoración de su estado e integridad. Dentro de las tinciones para su valoración, destaca la triple tinción que utiliza azul tripán, marrón bismark y rosa de bengala, con la cual es posible estudiar la morfología espermática antes y después de la capacitación y de la reacción acrosómica.

D. Otras pruebas:

- Prueba de endósmosis celular (HOST- Hypo-Osmotic Swelling Test). Es una prueba ampliamente difundida desde que Jeyendran y sus colaboradores lo desarrollase para la evaluación del semen humano en 1984 y permite evaluar la funcionalidad de la membrana espermática. Está basado en la capacidad de la membrana del espermatozoide para responder a cambios osmóticos del medio extracelular, relacionada a su vez con la capacidad funcional (funcionamiento de los canales iónicos, intercambiador Na^+/H^+). Cuando un espermatozoide se encuentra en un medio hipoosmótico incorporan agua para conseguir un equilibrio hídrico, mientras que si el medio es hiperosmótico liberan agua al medio extracelular. Este comportamiento se producirá siempre que la membrana no esté dañada. En conejo la prueba consiste en someter a los espermatozoides a un medio hipoosmótico de 60 mOsm/Kg, si la membrana de la célula está en perfectas condiciones se producirá una entrada de agua desde el medio extracelular al intracelular que quedará incorporada en la cola, quedando ésta hinchada y enroscada. El resultado de este test se basa en la proporción de espermatozoides con la cola enrollada (funcionales) respecto al total de espermatozoides contabilizados.
- Test de resistencia osmótica (ORT). También es un test de funcionalidad espermática y se basa en el análisis de la integridad del acrosoma al someter a los espermatozoides a un medio hipoosmótico, de forma que aquellos que tengan la membrana citoplasmática íntegra no mostrarán alteraciones a nivel acrosómico, a diferencia de los que sí muestren soluciones de continuidad en la membrana (Rubio-Guillén *et al.*, 2007). Para realizar esta técnica primero se somete una parte de la muestra a un diluyente isoosmótico, y otra parte a una hipoosmótica. Después se fijan ambas muestras y se observan con el microscopio óptico contabilizando el porcentaje de anomalías acrosómicas. Después, se realiza

la media de ambas muestras y clasifica las dosis seminales en cinco categorías en función de su calidad como indica la Tabla 2:

Tabla 2: Categorías según resultado Test de Resistencia Osmótica (ORT)

| | |
|------------|---------|
| Muy buenos | > 71 % |
| Buenos | 64-71 % |
| Regulares | 54-63 % |
| Malos | 46-53 % |
| Muy malos | < 45 % |

- Tinciones vitales. Es importante conocer la relación de espermatozoides vivos/muertos, en especial para conservación del semen. Cuando un espermatozoide muere libera al medio extracelular sustancias y enzimas, entre las que se encuentran las del acrosoma, que pueden producir daños en las membranas de los viables, lo que provocará a su vez un mayor número de espermatozoides dañados y una pérdida de calidad de las dosis seminales. Para calcular esta relación se suelen utilizar una serie de tinciones, por ejemplo la de eosina-nigrosina, yoduro de propidio o la de tripán azul. Cualquiera de estas tinciones se basan en la capacidad del espermatozoide en evitar la penetración de determinados colorantes a su interior cuando su membrana citoplasmática se encuentra intacta ya que ejerce un efecto de barrera.

3. ESTUDIO DE LA PRODUCCIÓN SEMINAL EN EL CENTRO DE INSEMINACIÓN CUNÍCOLA

3.1. Objetivo

Conocer, valorar e interpretar los parámetros obtenidos después del análisis de eyaculados de las tres líneas genéticas presentes en el centro de inseminación cunícola durante los dos meses de estancia, para tratar de mejorar el proceso de elaboración de dosis seminales hasta su óptimo.

3.2. Material y métodos

Material animal

Los machos utilizados en este estudio pertenecen a tres líneas seleccionadas. La población estaba constituida por un total de 80 machos de origen IRTA de la línea Caldes (paternal) seleccionados por velocidad de crecimiento durante la fase de engorde, 55 machos también de origen IRTA, pero de la línea Prat (maternal), seleccionados por tamaño de camada al destete. El resto de machos, aproximadamente 310, eran machos de la línea Hyplus PS40 (paternal), seleccionados por velocidad de crecimiento en la fase de engorde.

Estos animales llegaron al centro de inseminación con una edad de 2 a 3 meses, pasaron a una nave de cuarentena donde permanecieron hasta los 4.5-5 meses de vida, momento en el que entraron en producción trasladándolos a la nave destinada a ello.

Los eyaculados examinados en este estudio pertenecen a animales de entre 5 meses y 3 años, momento en que son eliminados. La recogida del semen se realiza por orden correlativo dentro de los animales de la misma línea, dependiendo de las demandas de dosis de los clientes.

La rutina de recogida del eyaculado difiere dependiendo de las líneas. Los machos Hyplus son estimulados 10 minutos antes del salto con otro macho o con un maniquí, y a los machos IRTA se les recogen dos eyaculados en el mismo día con un intervalo entre ellos de 15 minutos.

Los datos recogidos corresponden a los eyaculados obtenidos desde el 12 de julio hasta el 21 de agosto de 2012.

Alojamiento

Todos los machos se encuentran alojados en el centro de inseminación SAT INCO ubicado en la población de Beceite (Teruel). El centro cuenta con dos naves, una con capacidad para 60 machos, utilizada para los animales jóvenes en cuarentena y la otra con capacidad para 450 machos en producción.

Las dos naves son de ambiente controlado y cuentan con un sistema de ventilación forzada por depresión mediante extractores, sistemas de refrigeración con cooling, y de calefacción mediante generadores de aire caliente para que la temperatura no sobrepase los 26°C ni descienda de los 13°C. El fotoperiodo es de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad.

Las jaulas tienen unas dimensiones de 0.5 x 0.6 x 0.3 m con comedero tipo tolva y bebedero de cazoleta. La alimentación es a base de pienso comercial y son suplementados cada 15 días con vitamina E en el agua de bebida con tal de mejorar los parámetros cinéticos espermáticos (Castellini *et al.* 2000). Tanto la alimentación como el agua de bebida es *ad libitum*.

Obtención del semen

El uso de vagina artificial es el método utilizado para la recogida del semen en conejo. La vagina artificial propuesta por Bredderman *et al.* (1964) es la que aún se utiliza hoy en día debido a su facilidad de uso, mínima pérdida de semen y bajo coste (Vega *et al.* 2012). La recogida se realiza en la jaula del macho donde se lleva a otro macho para que actúe de potro o bien un maniquí. Cuando el macho intenta el salto se coloca la vagina artificial en el pene del animal para la recogida del semen.

La vagina artificial cuenta con varios elementos:

- Cuerpo semi-rígido
- Revestimiento interno o camisa
- Tubo colector del eyaculado

El cuerpo presenta dos aberturas en la parte inferior, la más grande se utiliza para colocar el tubo colector de eyaculado y la más pequeña para poder rellenar de líquido la vagina y cerrarlo con un tapón. En nuestro caso las vaginas se rellenan con diluyente seminal para que en el caso de que hubiera una fuga y no se observase, no dañase el semen. La abertura superior que es del diámetro del cuerpo permite la entrada del pene del animal para la recogida.

La camisa es un cilindro de látex o goma de mayor longitud que el cuerpo que se introduce en el cuerpo y se revierten los bordes. Entre el cuerpo y la camisa queda un espacio que es donde se introduce el líquido.

Para estimular la eyaculación se necesitan dos factores: temperatura y presión. La presión simulará la de la vagina de la coneja y la temperatura óptima para la colección de semen es de 45-50°C. Para conseguir ambas se necesita que el líquido introducido en la vagina sea suficiente y posteriormente se almacenan las vaginas en un horno o estufa a 60°C antes de su uso, ya que en el transcurso desde que se saca la vagina del horno hasta que el macho eyacula desciende su temperatura en unos 10°C. Si la temperatura es menor el macho rechaza la monta y si es mayor pueden existir problemas de choque térmico con los espermatozoides, balanitis por quemadura o contaminación del semen con orina.

Una vez el semen está dentro del tubo colector éste se retira de la vagina y se coloca en una gradilla adaptada con aislante para protegerlo de la luz y de la temperatura ambiente. Si el eyaculado contiene gel (tapón mucoso) se retira con unas pinzas limpias. Antes de que los tubos lleguen al laboratorio se realiza una predilución del semen con una relación aproximada de 1/5 con diluyente comercial (Cunigel, IMV Technologies) atemperado a 38°C.

En este momento son registrados los machos que no montan o los que no obtienen eyaculado después de la monta para el control del centro de inseminación.

Durante el período experimental se generaron un total de 90 pools de semen de las diferentes líneas del centro (55 de la línea Hyplus, 4 de línea Caldes IRTA y 31 de la línea Prat IRTA), que fueron sometidas a valoración en el presente trabajo.

Valoración del semen

Los tubos con las muestras de semen son trasladados inmediatamente al laboratorio adyacente para su evaluación macro y microscópica.

Cada eyaculado individual se analiza macroscópicamente y microscópicamente con valoraciones subjetivas de concentración, motilidad y morfología. Ya que la IA en cunicultura se realiza con mezclas heterospérmicas, una vez que los eyaculados son evaluados y aptos pasan a formar parte de un pool seminal, el cual sí sufre una serie de análisis más exhaustivos mediante el sistema CASA (de reciente implantación en el núcleo), que permite obtener el ratio de dilución para la elaboración de las dosis seminales.

Evaluación macroscópica:

- Aspecto: El eyaculado puede contener el tapón mucoso, que no influye en la calidad seminal y es retirado, o sangre, orina o precipitados de carbonato cálcico, siendo éstos desechados.
- Color: El color puede variar desde un blanco nacarado, lo más deseable, hasta blanco lechoso o blanquecino transparente. También puede adquirir colores no deseados por contaminación con sangre u orina.
- Olor: No tiene que existir olor desagradable.
- Volumen: Se obtiene del propio tubo de recolección graduado después de retirar el tapón mucoso. En el presente estudio no ha podido controlarse debido a su predilución tras colecta.

Evaluación microscópica:

Para el análisis microscópico del pool se utilizó el Integrated Semen Analysis System (ISAS[®]). Después de que el pool se homogeneiza con el diluyente se toma una cantidad con una micropipeta. Este líquido, por capilaridad penetra en la cámara de contaje, y se realiza una captura por cada campo. El volumen de cada campo es conocido, por lo que el programa informático calcula la concentración, motilidad y demás parámetros espermáticos del eyaculado.

La cámara de conteo debe estar a una temperatura de 37°C y esto se consigue gracias a una pletina termostataada. Los campos se observan a 100x aumentos y con contraste de fases, y el microscopio está conectado a una cámara que envía la señal al software para el análisis. De cada muestra se tomaron mínimo cinco campos para su conteo.

Para realizar el análisis el software está configurado de la siguiente manera:

- Espermatozoides totales: Todos los espermatozoides del eyaculado.
- Espermatozoide estático: Su velocidad es menor de 5 $\mu\text{m/s}$.
- Espermatozoide móvil:
 - o Lento: velocidad entre 5-50 $\mu\text{m/s}$.
 - o Medio: velocidad entre 50-90 $\mu\text{m/s}$.
 - o Rápido: velocidad mayor de 90 $\mu\text{m/s}$.
- Espermatozoide normal: No presenta morfoanomalías.
- Espermatozoide útil: Es el parámetro que utiliza el sistema para calcular el número de dosis posibles, y son los considerados con capacidad fecundante. Engloba los espermatozoides:
 - o Lentos progresivos normales
 - o Medios, progresivos o no, normales
 - o Rápidos, progresivos o no, normales o no.
- Dosis seminal: tiene un volumen de 0.5 mL con una concentración de 15 millones de espermatozoides útiles.

A partir de los 90 pools generados durante el período experimental, en el presente trabajo se ha controlado:

- Número de dosis por eyaculado: Al no disponer de datos objetivos de los eyaculados individuales se realizó el estudio del pool y se dividieron los resultados obtenidos por el número de eyaculados que lo componían. Este parámetro indica el número de dosis que se podrían realizar con un único eyaculado, conteniendo cada dosis 15 millones de espermatozoides útiles.
- Número de espermatozoides por eyaculado: Número de espermatozoides totales en un eyaculado expresado en millones.
- Espermatozoides móviles: Todos aquellos que poseen una velocidad mayor de 5 $\mu\text{m/s}$. Expresado en porcentaje.
- Espermatozoides normales: Todos aquellos que no presentan morfoanomalías. Expresado en porcentaje.
- Espermatozoides móviles y normales: Todos aquellos que cumplen ambas características, expresado en porcentaje.
- Espermatozoides útiles: De acuerdo al “set up” del software son todos aquellos que cumplen los requisitos de “espermatozoide útil”, expresado en porcentaje.

Análisis estadístico

A los datos procedentes de los pools seminales se les realizó inicialmente un análisis descriptivo a través del procedimiento PROC MEANS del Statistical Analyse System (SAS, 2010). Los datos fueron posteriormente sometidos a un análisis de la varianza mediante un PROC GLM de SAS (2010). El modelo incluyó a la línea genética (Hyplus, Prat, Caldes) y el mes del año (julio, agosto), así como su interacción.

3.3. Resultados y discusión

Características de los pools

Dado que los datos obtenidos en la empresa no fueron recogidos tras un diseño experimental (se trata de datos procedentes de la información de rutina obtenidas durante el periodo de estancia en prácticas), existen numerosas faltas o defectos en el diseño experimental que hace difícil la interpretación los resultados obtenidos. Sin embargo, puede considerarse como un primer estudio tentativo para proponer medidas correctoras, o para proponer un diseño experimental adecuado que confirme algunas de las sospechas que pudiesen derivarse del presente trabajo.

Al realizar las comparaciones entre diferentes estudios debe tenerse en cuenta que cada laboratorio trabaja con distintos equipos y los “set up” son diferentes, por lo que los resultados obtenidos para los mismos parámetros son muy dispares. Otro factor que no se ha estudiado y puede tener efecto es el operador o técnico. Al llevar poco tiempo utilizando el sistema CASA en el laboratorio del centro de inseminación es posible que existan diferencias en los análisis realizados por un técnico u otro.

La Tabla 3 recoge los resultados del análisis descriptivo del pool de las tres líneas y de la aproximación a los datos por individuo o eyaculado.

Tabla 3: Análisis descriptivo de las características de los pools.

| | Nº casos | Media | Mínimo | Máximo | CV |
|-----------------|----------|-------|--------|--------|-------|
| Dosis/eyaculado | 90 | 39,07 | 8,33 | 109,84 | 55,31 |
| Sperm/eyaculado | 90 | 1030 | 325 | 2449 | 47,31 |
| Móviles, % | 90 | 89,94 | 56,97 | 97,75 | 7,61 |
| Normales, % | 90 | 67,60 | 48,53 | 80,85 | 8,31 |
| MN, % | 90 | 61,11 | 40,74 | 75,67 | 11,35 |
| Útiles, % | 90 | 55,26 | 17,60 | 75,15 | 16,43 |

Dosis/eyaculado: Número de dosis por eyaculado. Sperm/eyaculado: Número de espermatozoides por eyaculado ($\times 10^6$). Móviles: Porcentaje de espermatozoides móviles. Normales: Porcentaje de espermatozoides normales. MN: Porcentaje de espermatozoides móviles y normales. Útiles: Porcentaje de espermatozoides útiles. CV: coeficiente de variación.

El número de dosis producida por individuo es un parámetro muy importante ya que cuanto mayor sea la calidad seminal de un individuo mayor número de dosis podremos elaborar con su eyaculado. La media es de 39,07 dosis por individuo o eyaculado, aunque el coeficiente de variación es muy alto (55,31), pudiendo existir una gran variabilidad entre pools para este parámetro en función de la línea o época de colecta.

El número medio de espermatozoides por eyaculado es de 1030×10^6 , muy por encima del obtenido por Mocé *et al.*, (2000) con 125×10^6 espermatozoides/eyaculado, a la observada por Quintero-Moreno *et al.*, (2007) con 363×10^6 espermatozoides/eyaculado y a la de 442×10^6 espermatozoides/eyaculado de Brun *et al.*, (2006). Esta gran diferencia entre los datos obtenidos y la bibliografía puede ser debida a que los diferentes equipos de contrastación no están estandarizados. El coeficiente de variación también es muy alto (42,82), lo que indica que el número de espermatozoides por eyaculado de los diferentes pools es también un parámetro muy variable como ya había observado Brun *et al.*

El porcentaje medio de motilidad de este estudio es de 89,94% y es un parámetro menos variable ya que el coeficiente de variación es de 7,61. En comparación con otros estudios, este dato es bastante elevado ya que al ser un pool destinado a inseminación ya se ha realizado una selección previa y los eyaculados que lo componen tienen unas características mínimas exigibles, como la motilidad. El porcentaje medio de normalidad es del 67,60%, relativamente bajo en comparación con Quintero-Moreno *et al.* (2007) 76%, y bastante más bajo en comparación con otros autores: 89 (García *et al.*, 2004), o 88% (Viudes de Castro *et al.*, 2004). La comparación debe ser realizada con cuidado ya que las líneas estudiadas no son las mismas en todos los casos. El 61,11% de los espermatozoides cumple ambos requisitos, es móvil y presenta normalidad morfológica.

El porcentaje de espermatozoides útiles son los que en este estudio se considera que tienen capacidad fecundante y de media existe un 55,26% en los pools. Este dato no es comparable ya que en cada estudio se describen unos parámetros diferentes para describir “espermatozoide útil”.

En la Tabla 4 se muestran los mismos parámetros seminales controlados (media±error estándar) en función de la línea genética y el mes de extracción.

El número de dosis obtenidas por eyaculado fue claramente mayor para la línea Hyplus respecto a ambas líneas IRTA (de media +28 dosis/eyaculado; $P < 0.001$). Esto puede ser debido al que el ritmo de recogida de cada línea difiere, ya que se realiza correlativamente según el pedido de dosis por los clientes. De hecho, es reconocido que a los animales IRTA se les realiza un ritmo de extracción bastante menor al óptimo. También puede deberse a que la rutina de extracción es diferente, a los machos IRTA se les realizan dos extracciones con 15 minutos de intervalo entre ellas, y a los Hyplus sólo una con una estimulación previa (siguiendo las recomendaciones de extracción dadas para cada una de las líneas). Por otra parte, también puede que la producción de dosis en este caso tenga relación con el tipo genético y su selección a lo largo de los años. De hecho, recientemente Piles y Baselga (2012) observan

importantes diferencias en la producción y calidad del semen entre las principales líneas genéticas utilizadas en cunicultura.

Tabla 4: Efecto de la línea y el mes de colecta en las características de los pools (media±error estándar).

| | Línea | | | P-valor |
|-----------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------|
| | Hyplus | Caldes IRTA | Prat IRTA | |
| Nº de pools | 55 | 4 | 31 | |
| Dosis/eyaculado | 50,91 ± 2,18 ^b | 24,54 ± 8,07 ^a | 20,60 ± 2,91 ^a | 0,0001 |
| Sperm/eyaculado | 1289±50 ^b | 654±186 ^a | 641±67 ^a | 0,0001 |
| Móviles % | 91,96 ± 0,88 ^b | 89,50 ± 3,23 ^{ab} | 86,30 ± 1,17 ^a | 0,001 |
| Normales % | 68,29 ± 0,77 | 68,34 ± 2,83 | 66,16 ± 1,02 | 0,2431 |
| MN % | 63,07±0,88 ^b | 61,48±3,26 ^{ab} | 57,39±1,18 ^a | 0,0012 |
| Útiles % * | 58,40 ± 1,07 ^b | 56,19 ± 3,95 ^{ab} | 49,19 ± 1,42 ^a | 0,0001 |

| | Mes | | P-valor |
|-----------------|--------------|--------------|---------|
| | Julio | Agosto | |
| Nº de pools | 41 | 49 | |
| Dosis/eyaculado | 32,65 ± 4,21 | 31,38 ± 4,41 | 0,8292 |
| Sperm/eyaculado | 894±97 | 829±95 | 0,6341 |
| Móviles % | 88,57 ± 1,69 | 89,93 ± 1,66 | 0,5664 |
| Normales % | 66,71 ± 1,48 | 68,48 ± 1,45 | 0,3947 |
| MN % | 59,32±1,70 | 61,97±1,67 | 0,2697 |
| Útiles % * | 53,44 ± 2,06 | 55,75 ± 2,82 | 0,4249 |

Dosis/eyaculado: Número de dosis por eyaculado. Sperm/eyaculado: Número de espermatozoides por eyaculado ($\times 10^6$). Móviles %: Espermatozoides móviles. Normales %: Espermatozoides normales. MN%: Espermatozoides móviles y normales. Útiles%: Espermatozoides útiles.

^{a,b} medias con letras diferentes presentan diferencias significativas a $P < 0.05$.

En el caso del porcentaje de espermatozoides móviles se encontraron diferencias significativas entre las líneas Hyplus y Prat IRTA (-5 puntos de porcentaje; $P < 0.001$), mostrando Caldes IRTA valores intermedios, aunque esta última comparación es pobre debido al bajo número de pools procedentes de esta línea. En cuanto al porcentaje de espermatozoides normales, no se encontraron diferencias significativas entre las líneas. De esta forma, para el porcentaje de espermatozoides móviles y normales ocurre algo similar a lo observado para el porcentaje de móviles, sí se observan diferencias entre Hyplus y Prat IRTA (ligeramente mayor en Hyplus), pero no entre ambas y Caldes IRTA.

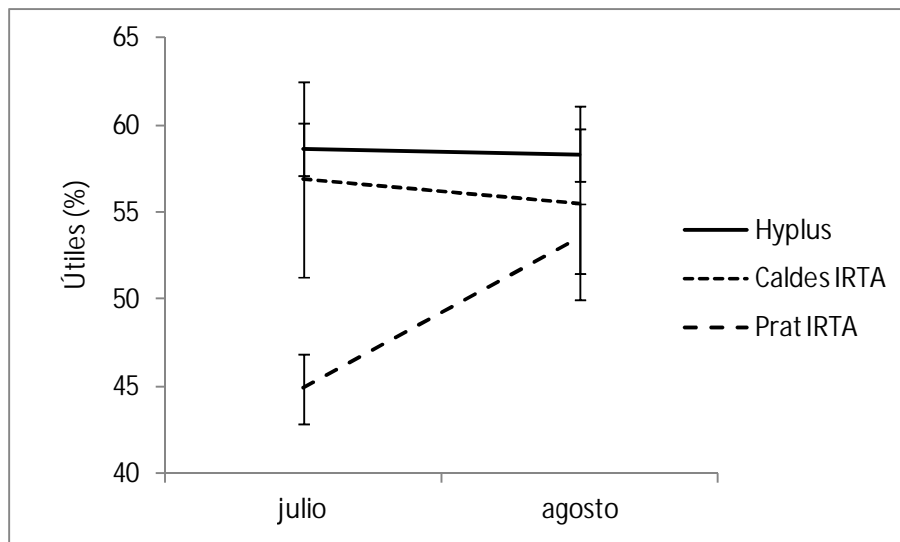
Por último, porcentaje de espermatozoides útiles fue mayor en la línea Hyplus que en la IRTA, pero sólo encontramos diferencias significativas entre éste y el Prat IRTA, debido seguramente a los escasos datos de Caldes IRTA paternal. Ya que el número de dosis producidas por individuo está ligado al porcentaje de espermatozoides útiles y

al número de eyaculados que componen el pool, los motivos por los cuales es mayor en Hyplus podrían ser los mismos que en el número de dosis por individuo.

No se han observado diferencias para ninguno de los parámetros estudiados debidas al mes de extracción (julio o agosto). Este dato es positivo para la explotación porque podría poner de manifiesto que los animales no hayan sufrido estrés térmico por calor, ya que debido a la duración de la espermatogénesis (unos 42 días) en julio recogemos el efecto de los meses de mayo a junio, mientras que en agosto el efecto de junio y julio. Sin embargo, para poder afirmarlo con más seguridad convendría realizar un estudio de mayor duración incluyendo datos de más meses y de diferentes épocas o estaciones.

No existen interacciones entre los efectos de línea y mes, excepto en el porcentaje de espermatozoides útiles ($P < 0.01$). Como se observa en el Figura 2, el menor porcentaje de espermatozoides útiles observados para la línea maternal del IRTA (Prat) fue debido al menor valor obtenido en el mes de julio (-14 puntos porcentuales; $P < 0.001$) para estos animales respecto a las otras dos líneas, siendo similar el valor obtenido para las 3 líneas en el mes de agosto. Esto puede ser debido a que en el mes de julio se introdujeron animales jóvenes (especialmente de la línea Prat IRTA), a los cuales se les realizaban las primeras extracciones y a pesar de que son eyaculados que pueden formar parte del pool para realizar dosis, suelen tener una menor calidad seminal. Al estar las tres líneas alojadas en la misma nave están sometidas a las mismas condiciones ambientales, no debería relacionarse el ambiente con dicha diferente respuesta.

Figura 2: Interacción línea-mes para el porcentaje de espermatozoides útiles.



Por otra parte, al realizar el pool y posteriormente las dosis seminales, queda constancia de qué eyaculados forman parte de él, por lo que sería de gran utilidad

recibir los datos de fertilidad obtenidos en las diferentes explotaciones que inseminan con las dosis del centro. De esta forma se podría valorar si realmente los datos que aporta el sistema CASA se corresponden con la realidad y se podría realizar un análisis mucho más completo.

3.4. Conclusiones

- Para todos los parámetros estudiados, excepto el porcentaje de espermatozoides normales, la línea Hyplus obtiene mayores valores que la Prat IRTA.
- En el mes de julio se produjo un descenso en el porcentaje de espermatozoides útiles en la línea Prat IRTA, que aún no sabiendo con certeza el motivo, suponemos que se debe a la inclusión de eyaculados en el pool de animales jóvenes.

3.5. Propuestas de mejora

- Sería interesante para la empresa realizar un control más exhaustivo de los animales jóvenes para evaluar su eyaculado, y así evitar descensos en un momento en concreto de la calidad del pool.
- Es recomendable realizar protocolos de trabajo para evitar el efecto “operador” e intentar estandarizar los equipos de contrastación seminal para poder realizar comparaciones con otros laboratorios.
- Es importante la comunicación entre el centro de inseminación y los cunicultores para poder poner en común todos los datos obtenidos y realizar buenos estudios que puedan ayudar a mejorar las metodologías de trabajo en ambas direcciones.
- El grupo está finalizando la construcción de un nuevo centro de inseminación. Para una optimización de la productividad en dicho centro sería recomendable:
 1. Trabajar en la adaptación y aplicación del sistema CASA al semen de conejo. Como hemos indicado debido a las particularidades de éste, sería necesario desarrollar un protocolo de los sistemas CASA que sea capaz de adaptarse a estas características y por tanto hacer aplicables estos sistemas a esta especie.
 2. Desarrollar de un sistema de alimentación y manejo adecuado para estos animales con el objetivo de:
 - a) Cubrir de forma adecuada sus necesidades nutritivas (energía, proteína, vitaminas, ...), tanto durante su desarrollo, como a lo largo de su vida productiva.
 - b) Evitar si es posible el sobrepeso, especialmente en aquellos seleccionados por velocidad de crecimiento, ya que una de las principales razones de eliminación de estos animales es por aparición del llamado “mal de patas”.

- c) Aumentar la longevidad de los machos (mayor relación de vida productiva/total).
- d) Y por último, pero no menos importante, mejorar la cantidad y calidad del semen producido, ya que con ello conseguiremos una mayor difusión de los mejores animales, así como un abaratamiento del precio de la dosis (más dosis por animal).

4. BIBLIOGRAFÍA

Abaigar, T., Holt, W.V., Harrison, R.A.P., Del Barrio, G. 1999. Sperm subpopulations in boar (*Sus scrofa*) and gazelle (*Gazella dama mhorr*) semen as revealed by pattern análisis of computer-assited motility assessments. *Biol. Reprod.*, 60, 32-41.

Amann, R.P. 1989. Can fertility potential of a seminal sample be predicted accurately? *J. Androl*, 2, 89-98.

Bencheikh, N. 1995. Effet de la fréquence de collecte de la semence sur les carastéristiques du serme et des spermatozoïdes récoltés chez le lapin. *Ann Zootech*, 44, 263-279.

Bredderman, P.J., Foote, R.H., Yassen, AM. 1964. An improved artificial vagina for collecting rabbit semen. *J. Reprod. Fertil.*, 7, 401-403.

Brun, J.,Theau-Clement, M., Esparbié, J., Falieres, J., Saleil, G., Larzul, C. 2006. Semen production in two lines divergently selected for 63-d body weight. *Theriogenology*, 66, 2165-2172.

Castellini, C.; Lattaioli, P. 1999. Effect of number of motile sperms inseminated on reproducitve performance of rabbit does. *Anim. Reprod. Sci.*, 57, 111-120.

Castellini, C., Lattaioli, P., Bernardini, M., Dal Bosco, A. 2000. Effect of dietary a-tocopheryl acetate and ascorbic acid on rabbit semen stored at 5°C. *Theriogenology*, 54, 523-533.

Davis, R.O., Drobnis, E.Z., Overstreet, J.W. 1995. Applications of multivariate cluster, discriminant function and stepwise regression to variable selection and predictive modelling of sperm crysurvival. *Fertil. Steril*, 63, 1051-1057.

Evans, G., Maxwell, WMC. 1987. Salamon's artificial insemination of sheep and goats. Butterworth and company.

García, J. 2009. La mejora genética en conejos: descripción de la difusión del progreso genético. *Lagomorpha*, 104, 52-56.

García, M., Piles, M., Sanchez, J., Rafel, O., Ramon, J. 2004. Heterosis, direct and maternal genetic effect on semen quality traits of rabbits. 8th World Rabbit Congress, Mexico. 57-62.

Gonzales-Urdiales R. 2002. Contrastación seminal. *Cunicultura*, 160: 394-399.

Holt, W.V. 1996. Can we predict fertility rates? Making sense of sperm motility. *Reprod. Dom. Anim.*, 31, 17-24.

Jeyendran, RS., Van Der Ven, HH., Perez-pelaez, M., Crabo, BG., Zaneveld, LJ. 1984. Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm

membrane and its relationship to other semen characteristics. *J. Reprod. Fertil.*, 70, 219-28.

Lavara, R. 2009. Estimación de los parámetros genéticos de producción y calidad seminal en una línea paternal de conejos. Tesis de Máster.

Lavara, R., Vicente, JS., Baselga, M. 2010. Genetic parameter estimates for semen production traits and growth rate of a paternal rabbit line. *J. Anim. Breed. Genet.*, 128, 44-51.

Marai, IFM., Habeeb, AAM., Gad, AE. 2002. Rabbits' productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *Livest. Prod. Sci.*, 78, 71-90.

Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. 2009. Encuesta nacional de cunicultura 2008.

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. In Proc.: 7th World Rabbit Congress, Valencia, Vol. A: 197-201.

Muiño, R., Fernández, M., Areán, H., Viana, JL., López, M., Fernández, A., Peña, A. 2005. Nuevas tecnologías aplicadas al procesado y evaluación del semen bovino en centros de inseminación artificial. *ITEA*, 101, 175-191.

Pascual, JJ. 2002. Nutrición de machos destinados a inseminación artificial. In Proc.: II Jornadas Interaccionáis de Cunicultura. Associação dos Engenheiros Zootécnicos, 197-212.

Piles, M., Baselga, M. 2012. Breeding programs for improving male reproductive performance and efficiency of AI dose production in paternal lines: feasibility and limitation. In Proc.: 10th World rabbit Congress, Sharm El-Sheikh, Egypt, 3-6 September, 1-2.

Quintela, LA., Vega, D., Peña, AI., Becerra, JJ., Gullón, J., Prieto, C., Herradón, PG. 2007. Inseminación artificial en cunicultura. *Cogal*, 5-16.

Quintero-Moreno, A., Rigau, T., Rodríguez-Gil, J., 2007. Multivariate Cluster Analysis Regression Procedures as Tools to Identify Motile Sperm Subpopulations in Rabbit Semen and to Predict Semen Fertility and Litter Size. *Reprod. Dom. Anim.*, 42, 312-319.

Rubio-Guillén, J., Quintero-Moreno, A. 2008. Uso de las pruebas de resistencia osmótica para valorar la funcionalidad espermática en toros. *Desarrollo Sostenible de la Ganadería de Doble Propósito*. 617-627.

SAS Institute Inc. 2010. SAS/STAT © 9.2 User's Guide, Second Edition. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Seed, J., Chapin, R., Clegg, E., Dostal, L., Foote, R., Hurtt, M., Klinefelter, G., Makris, S. 1996. Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog: a consensus report. *Reprod. Toxicol.*, 10, 237-244.

Vega, MD., Barrio, M., Quintela, LA., Becerra, JJ., Cainzos, J., Prieto, A., Rodríguez-Zamora, A., Herradón, PG. 2012. Evaluación del manejo reproductivo en cunicultura. *Información técnica económica agraria*, 108, 172-190.

Verstegen, J., Iguer-Ouada, M., Onclin, K. 2002. Computer assisted semen analyzer in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology*, 57, 149-179.

Viudes de Castro, E., Mocé, JS., Vicente, F., Jimenez, M., Lavara, R. 2005. In vitro Evaluation of in vivo Fertilizing Ability of Frozen Rabbit Semen. *Reprod. Dom. Anim.*, 40, 136-140.

Yousef. Ml., Abdallah, GA., Kamelb, KI. 2002. Effect of ascorbic acid and Vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits. *Anim. Reprod. Sci.*, 76, 99-111.