

Reproducción

Inseminación artificial: sistemas de conservación del esperma

D. Constantini

(*Cuniculture*, 1989. 86: 100-103)

La difusión de la inseminación artificial en los conejos depende básicamente de la selección de los machos y del sistema de conservación del esperma. Esta técnica, independientemente del sistema de conservación que se utilice, significa realizar los siguientes pasos:

- Recogida del semen.
- Valoración microscópica de la calidad del esperma.
- Dilución y refrigeración del semen.
- Inducción de la ovulación en las conejas e inseminación.

La recogida del esperma se efectúa mediante una vagina artificial adecuada, limpia y

con un recipiente de recogida, mantenidos todos ellos a una temperatura entre 38 y 40° C, realizándose un salto sobre una hembra a modo de base.

La recogida del esperma es seguida habitualmente por la inspección del mismo, valorándose el pH y examinándose al microscopio. La valoración visual viene recogida en la tabla 1, en que se precisan datos acerca de la densidad, volumen, color, presencia o no de sedimento, etc.

La inspección microscópica con 600 aumentos permite descubrir la densidad, motilidad y número de formas anormales o muertas. Una vez realizadas las valoraciones se

Tabla 1. Características del esperma en función de la estación
(valores medios de los conejares)

| Estación | Granja A | | | | Granja B | | | |
|-------------|----------------|------------------------------|------------------------------------|-----------|---------------|-----------------------------|------------------------------------|-----------|
| | Volumen ml. | N.º x 10 ⁶ ml. | N.º x 10 ⁶ eyaculado | Motilidad | Volumen ml | N.º x 10 ⁶ ml | N.º x 10 ⁶ eyaculado | Motilidad |
| Primavera | 0,74 | 199,30 | 192,07 | 47,60 | 0,61 | 125,64 | 64,73 | 33,36 |
| Verano | 0,65 | 165,06 | 118,46 | 46,58 | 0,65 | 126,97 | 86,26 | 38,00 |
| Otoño | 0,77 | 184,86 | 142,20 | 48,10 | 0,58 | 157,75 | 93,44 | 37,88 |
| Invierno | 0,74 | 233,23 | 169,26 | 57,55 | 0,55 | 130,52 | 77,15 | 22,55 |
| Media anual | 0,71 | 193,52 | 156,26 | 49,70 | 0,60 | 132,99 | 78,14 | 38,72 |

Tabla 2. Diluyente del esperma (Tris buffer) de Constantini

| | |
|-------------------------------------|------------|
| Tris (hidroximetilamino metano) ... | 3,028 |
| Acido cítrico monohidrato | 1,675 |
| D-glucosa monohidrato | 1,250 |
| Estreptomicina sulfato | 0,100 |
| Penicilina G sódica | 100.000 UI |
| Agua bidestilada | 85 |
| DMSO, ml | 15 |
| Relación tris-buffer/yema de huevo | 80/20 |
| pH | 6,7 |

Tabla 3. Índice de supervivencia de los espermatozoides según el sistema de conservación y tiempo (%).

| Diluyente | Fresco | Refrigerado | | | | | | Congelado -193° C (1 año) |
|---------------------|--------|-------------|-------|-------|-------|-------|--------|------------------------------|
| | | 5 h. | 24 h. | 48 h. | 72 h. | 96 h. | 120 h. | |
| TRIS-DMSO (1) | 75-80 | 70-75 | 65-70 | 55-60 | 48-50 | 35-40 | 15-20 | - |
| (1) + fructosa | 70-75 | 60-65 | 50-55 | 45-50 | 30-35 | 20-25 | 10-15 | - |
| (1) + glicerol 0,5% | 60-65 | 45-50 | 40-42 | 25-30 | 20-25 | 15-20 | 10-15 | 35-40 |
| (1) + glicerol 1% | 60-65 | 45-50 | 40-45 | 30-35 | 25-30 | 20-25 | 10-15 | 35-40 |
| (1) + glicerol 1,52 | 45-50 | 40-45 | 35-38 | 20-25 | 18-20 | 10-15 | 10-15 | 30-35 |
| (1) + PEG 0,5% | 65-70 | 60-65 | 50-55 | 50-55 | 45-50 | 38-40 | 12-15 | -- |
| (1) + PEG 1% | 65-70 | 60-65 | 50-55 | 50-55 | 48-50 | 35-40 | 15-20 | -- |
| (1) + PEG 3% | 60-65 | 60-65 | 50-55 | 50-52 | 42-45 | 32-35 | 15-18 | -- |
| (1) + PEG 5% | 58-60 | 55-60 | 50-55 | 48-50 | 40-45 | 30-35 | 15-20 | - |

PEG = propilenglicol.

Tabla 4. Porcentaje medio de partos y nacidos vivos en función del momento del ciclo estral del sistema de conservación del esperma y modalidades de inducción a la ovulación.

| | Coloración vulvar | | | | | Nacidos vivos |
|-----------------------------------|-------------------|------|------|--------|-------|---------------|
| | blanca | rosa | roja | morada | media | |
| Fresco | 17,5 | 66,4 | 76,6 | 31,5 | 69,4 | 8,01 |
| Refrigerado | 22,3 | 53,5 | 74,2 | 50,3 | 60,9 | 7,85 |
| Congelado | 31,6 | 48,7 | 64,6 | 42,5 | 45,2 | 6,89 |
| Congelado (prostaglandinas) . . . | 30,8 | 46,9 | 62,6 | 40,5 | 46,4 | |
| Congelado (GnRH) | 28,6 | 47,8 | 63,9 | 39,5 | 47,2 | |

Constantini, 1988.

procede a su dilución entre 1/8 y 1/20 en función de los criterios de utilización o de conservación (fresco, congelado o refrigerado). En la tabla 2 se anota la composición de una fórmula de diluyente.

El esperma diluido que se destina a refrigeración tras permanecer breve tiempo a temperatura se introduce en un refrigerador, en el que se mantendrá a + 5° C hasta el momento de ser utilizado. Para la congelación se realiza una predilución con un diluyente que contenga yema de huevo, pasando al refrigerador a +5° C durante 5-8 horas tras las que se añade un crioprotector (glicerina o propilenglicol). Antes de su congelación se dosifica en cánulas de 0,5 ml, realizándose un último examen microscópico para estudiar posibles acciones tóxicas del crioprotector. La congelación se realiza en nitrógeno líquido con muestras con un mínimo de supervivencia espermática del 50%.

La descongelación se realiza inmediatamente antes de la inseminación, sumergiendo la cánula con agua a 35-37° C durante 15-20 segundos.

La inseminación se verifica con la ayuda de una jeringuilla metálica adaptada a la forma vaginal de la coneja, la cual es inducida para la ovulación con hormona GnRH antes de ser inseminada. Para una mejor programación del ritmo de reproducción, se pueden administrar las gonadotropinas o prostaglandinas por vía parenteral 40 o 60 horas antes de la inseminación artificial.

La tabla 3 señala cómo el crioprotector ejerce una acción tóxica sobre los espermatozoides, en forma independiente del tiempo y del sistema de conservación que se seleccione.

La refrigeración a + 5° C permite una supervivencia del esperma durante las 72 horas que sigue a su extracción, mientras que

(Continúa en página 114)