

## EFFECTO DEL SEMENTAL SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS SEMINALES DEL CABALLO DE LAS RETUERTAS

### STUDY OF SPERM PARAMETERS IN THE RETUERTAS HORSE

Miró-Arias, M.<sup>1\*</sup>, Vallecillo, A.<sup>1</sup>, León J.M.<sup>1</sup> y Vega-Pla, J.L.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. Edificio C5. Campus Rabanales. Carretera Madrid-Cádiz, km. 396. 14014 Córdoba. España. mmiro81@hotmail.com

<sup>2</sup>Delegación de Medio Ambiente y Promoción Agropecuario. Diputación de Córdoba. España.

<sup>3</sup>Laboratorio de Investigación Aplicada. Servicio de Cría Caballar y Remonta. Córdoba. España.

#### PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Recursos zoogenéticos. Evaluación seminal.

#### ADDITIONAL KEYWORDS

Zoogenetic resources. Seminal valuation.

#### RESUMEN

La concentración geográfica y el reducido censo del Caballo de las Retuertas obligaron a diseñar un Plan de Conservación integral. Una de las herramientas para la conservación *ex situ* fue la creación de un banco de germoplasma. Previamente, se estudió la calidad seminal y aptitud para congelación. Los resultados obtenidos fueron: volumen 23,25±12,72 ml, concentración 335,83±135,60x10<sup>6</sup> espermatozoides/ml; motilidad masal 3,83±0,98 (1-5) y motilidad progresiva 60,42±15,42 (0-100%), mostrando todas diferencias significativas en relación al semental.

#### SUMMARY

Geographical concentration and scarce census of the Retuertas horse force to design a complete conservation plan. One of the used tools as a mean of *ex situ* conservation was the creation of a germplasm bank. Previously, a study of the seminal quality and its aptitude for freezing was developed. Results were: volume 23,25±12,72 ml; concentration 335,83±135,60x10<sup>6</sup> spermatozoa/ml; basal motility 3,83±0,98 (1-5) and progressive motility 60,42±15,42 (0-100%); all of them shown significant differences among stallions.

#### INTRODUCCIÓN

El Caballo de Las Retuertas consta de una población de 150 ejemplares ubicados

Presentado al Congreso SERGA (2010, Asturias).

en la Reserva Biológica de Doñana (Huelva, España). Los primeros estudios genéticos indicaron que se trataba de una población extremadamente singular que debería ser conservada para evitar su extinción (Vega-Pla *et al.*, 2006). Dentro del proyecto de investigación Caracterización y Conservación de Germoplasma del Caballo de las Retuertas (INIA RZ2007-00015-00-00), se incluye la creación de un banco de germoplasma como parte de la estrategia de conservación *ex situ* (Vallecillo *et al.*, 2008a) y se está llevando a cabo un control genético basado en microsatélites y un control genealógico basado en identificación individual y en control de filiación (Miró-Arias *et al.*, 2009). Se ha realizado un tratamiento estadístico de los datos procedentes de 94 eyaculados de 4 sementales de Caballo de las Retuertas, para detectar diferencias entre los valores medios del volumen, concentración seminal, motilidad progresiva y motilidad masal de cada semental.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Se han estudiado 94 eyaculados de 4 sementales de Caballo de Las Retuertas, los cuales fueron trasladados desde la Reserva Biológica de Doñana al Centro Agropecua-

**Tabla I.** Estadísticos descriptivos y dispersión de las variables seminales para el conjunto de sementales. (Descriptive statistics and dispersion for all the stallions).

Fuentes de variación	N	Media	Máximo	Mínimo	CV	DE	EE
Volumen	94	23,25	53,00	5,00	54,70	12,72	1,31
Concentración	79	335,83	659,00	58,20	40,37	135,60	15,25
Espermatozoides totales	79	7148,61	17440,00	525,00	56,35	4028	453,23
Motilidad masal	40	3,83	5,00	1,00	25,61	0,98	0,15
Motilidad progresiva	82	60,42	90,00	15,00	25,51	15,42	1,70

N: número de observaciones; CV: coeficiente de variación (%); DE: desviación estándar; EE: Error estándar; Volumen: volumen de semen (ml); Concentración: número de espermatozoides x 10<sup>9</sup>/ml de semen; E. totales: número de espermatozoides x 10<sup>9</sup>/eyaculado; Motilidad masal: (1-5); Motilidad progresiva: (0-100%).

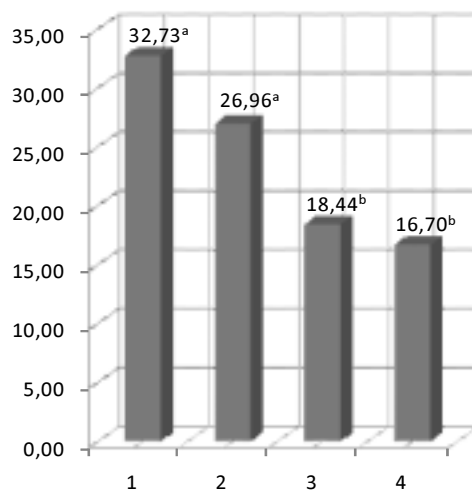
rio Provincial de la Diputación de Córdoba. Tras un periodo de adaptación y de domesticación, ya que son animales asilvestrados, se les realizaron dos extracciones seminales por semana empleando una vagina artificial tipo Missouri y yegua en celo. Previo a la operación de extracción seminal se siguieron los siguientes pasos: Sujeción de una yegua en celo o estrogenizada mediante trabones. Enfundado de la cola. Lavado de la vulva y partes perianales con abundante agua y jabón y secado con papel absorben-

te. A continuación se lava el pene del caballo y se seca con papel absorbente. Se acerca el semental y cuando el grado de excitación es el adecuado se le permite montar a la yegua desviando el pene hacia la vagina artificial donde realiza el eyaculado.

**Tabla II.** Análisis unifactorial simple del factor semental sobre las variables seminales estudiadas. (Single unifactorial analysis of the factor Stallion over the studied seminal variables).

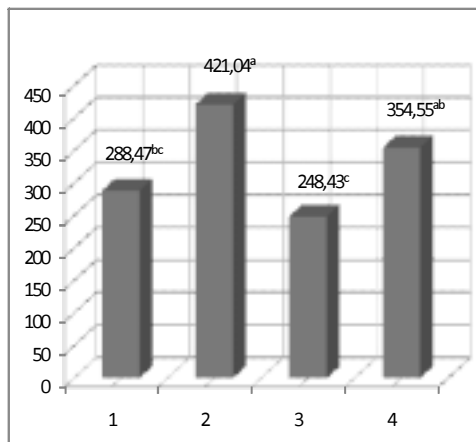
F. variación	GL	F	Pr>F	R <sup>2</sup>
Volumen	3	9,47	<0,0001	0,24
Concentración	3	8,18	<0,0001	0,25
E. totales	3	8,88	<0,0001	0,26
Motilidad masal	3	8,94	0,0001	0,43
Motilidad progresiva	3	6,01	0,0010	0,19

GL: grados de libertad; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación; Volumen: volumen de semen (ml); Concentración: número de espermatozoides x 10<sup>9</sup>/ml de semen; E. totales: N° de espermatozoides totales x 10<sup>9</sup>/eyaculado; Motilidad masal: (1-5); Motilidad progresiva: (0-100%).



Con la misma letra las medias no son significativamente diferentes. Los números del eje de abscisas (1-4) indican el semental.

**Figura 1.** Separación de medias a posteriori para el volumen. (Mean homogeneity a posteriori for the volume).



Con la misma letra las medias no son significativamente diferentes. Los números del eje de abscisas (1-4) indican el semental.

**Figura 2.** Separación de medias a posteriori para la concentración. (Mean homogeneity a posteriori for the concentration).

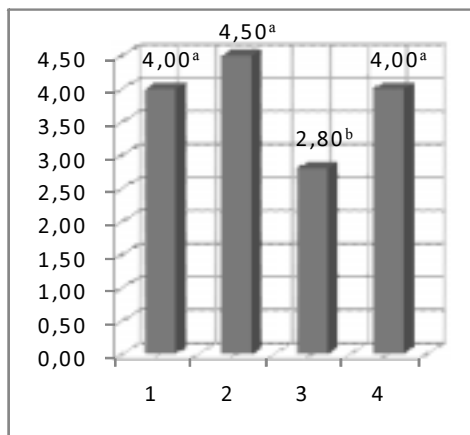
Se analizan una serie de parámetros seminales para considerar el semen de calidad aceptable para su congelación: motilidad masal mayor de 2,5 (escala 1-5), motilidad individual mayor de 60, porcentaje de vivos muertos mayor del 50 % (tinción vital eosina/nigrosina), concentración de espermatozoides superior a 250 x106 (Vallecillo *et al.* 2008 b). De cada eyaculado se han estudiado el volumen (tubo colector graduado); concentración, con espectrofotómetro (Accu Read®, IMV) y motilidad masal y progresiva, mediante la valoración con microscopio óptico a 10X. Los datos se recogieron en fichas de hoja Excel para realizarles un tratamiento estadístico y analizar los valores descriptivos y de dispersión de los datos. Después se realizó un análisis de varianza con el modelo GLM (modelo general lineal) y, posteriormente, su respectiva separación de medias con el método de Duncan. Finalmente, los datos obtenidos se han estudiado con el paquete estadístico SAS versión 9.0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el análisis estadístico descriptivo de las variables seminales para el conjunto de sementales (**tabla I**), el valor medio (media±desviación estándar) del volumen fue 23,25±12,72 ml; de la concentración 335,83±135,60 x106 espermatozoides/ml; de la motilidad progresiva, 60,42±15,42 (0-100%) y de la motilidad masal, 3,83±0,98 (1-5). El coeficiente de variación para el volumen fue 54,70%; de la concentración, 40,37%; de la motilidad masal, 25,61%; y de la motilidad progresiva, 25,51%.

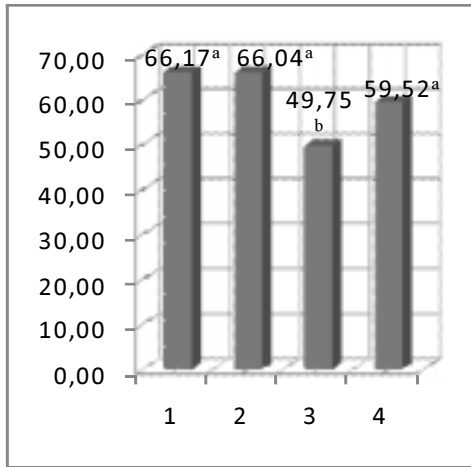
Al realizar el análisis unifactorial simple del factor semental sobre las variables (**tabla II**), obtenemos que, para el volumen y concentración, Pr>F es <0,0001; mientras que para la motilidad masal, Pr>F es 0,0001 y 0,0010 para la motilidad progresiva.

Se han estudiado las separaciones de media *a posteriori* para cada variable y se ha representado en un gráfico donde cada columna corresponde a un semental. Para el volumen (**figura 1**), hay dos grupos de



Con la misma letra las medias no son significativamente diferentes. Los números del eje de abscisas (1-4) indican el semental.

**Figura 3.** Separación de medias a posteriori para la motilidad masal. (Mean homogeneity a posteriori for the basal motility).



Con la misma letra las medias no son significativamente diferentes. Los números del eje de abscisas (1-4) indican el semental.

**Figura 4.** Separación de medias a posteriori para la motilidad progresiva. (Mean homogeneity a posteriori for the progressive motility).

homogeneidad: uno para los sementales 1 y 2 y otro para el 3 y el 4. Para la concentración seminal (**figura 2**), existen tres grupos de homogeneidad escalonados y diferenciados: en el primero, incluye a los sementales 2 y 4; el segundo, al 1 y al 4; y el tercer grupo,

## BIBLIOGRAFÍA

- Miró-Arias, M., Santiago, A. de, Alvarado, C., Vallecillo, A., Crespo, F. y Vega-Pla, J.L. 2009. Situación actual del banco de germoplasma del Caballo de las Retuertas. Memorias del X Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos. Palmira. Colombia. pp. 507-509.
- Vallecillo, A., Miró-Arias, M., Vega-Pla, J.L., Cabello, A. y Calderón, J. 2008a. Caracterización y conservación del Caballo de Las Retuertas. VI Congreso Ibérico sobre Recursos Genéticos Animais. Lisboa. Portugal. p. 40.
- Vallecillo, A., Miró-Arias, M., Cabello, A. y Vega-Pla, J.L. 2008b. Creación de un banco de germoplasma en el caballo de las retuertas. Una estrategia de conservación. Memorias IX Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos. Mar del Plata. Argentina. Tomo II: 501-503.
- Vega-Pla, J.L., Calderón, J., Rodríguez-Gallardo, P.P., Martínez, A. y Rico, C. 2006. Saving feral horse populations: does it really matter? A case study of wild horses from Doñana National Park in southern Spain. *Anim. Genet.*, 37: 571-578.

a los individuos 1 y 3. Para la motilidad masal (**figura 3**) y progresiva (**figura 4**), existe un grupo de homogeneidad entre los sementales 1, 2 y 4, quedando el 3 fuera de ese grupo.

## CONCLUSIONES

Tras el análisis de estadísticos descriptivos y dispersión de las variables seminales para el conjunto de sementales, se puede concluir que los valores se ajustan a los obtenidos en otras razas equinas locales, siendo algo inferiores a los de razas más seleccionadas genéticamente. Por otro lado, el análisis unifactorial simple del factor semental sobre las variables seminales estudiadas, desvela que existe diferencia significativa en la motilidad masal y progresiva; y altamente significativa en relación al semental para el volumen y concentración. En relación a la separación de medias, se observa que existen distintos grupos de homogeneidad para cada variable.

## AGRADECIMIENTOS

Parcialmente financiado con fondos del Proyecto de Investigación del INIA RZ2007-00015-00-00. Se agradece a la Diputación de Córdoba el apoyo prestado.