

Inseminación artificial en cunicultura

FRANCISCO JAVIER LÓPEZ. INGENIERO AGRÓNOMO. DPTO. DE PRODUCCIÓN ANIMAL, E.T.S.I.A. MADRID.

El sector cunícola español ha iniciado un proceso de tecnificación basado en la incorporación de la técnica de la Inseminación Artificial (I.A.) a los conejares industriales. La tecnificación pretende sincronizar las operaciones relacionadas con la reproducción (cubriciones, partos, destetes), de modo similar a como se realizan en otras especies zootécnicas, al objeto de rentabilizar al máximo la mano de obra cualificada y mejorar los rendimientos globales de las explotaciones.

La mayoría de las empresas con núcleos de hembras reproductoras superior a 500 conejas se han planteado o introducido la rutina de la I.A. en parte por su propia iniciativa en parte llevados por empresas de fabricación de piensos o de empresas que ofertan el servicio de la I.A. Con ello, España se ha incorporado a la corriente europea, desarrollada anteriormente en Italia y Francia de modo especial.

Las ventajas más importantes que proporciona la I.A. al manejo conjunto de la explotación son:

- Control de la calidad del semen.
- Disminución del número de machos en la granja.
- Selección de machos y mejora genética de la raza.
- Creación de centros de testaje y distribución de semen.
- Sincronización de nacimientos y planificación de las operaciones, optimizando de esta forma el trabajo de la mano de obra.



España se ha incorporado a la I.A. cunícola.

- Control de enfermedades transmisibles por vía genital debido a la falta de contacto entre machos y hembras.

Sin embargo, existen una serie de factores que limitan su utilización a escala masiva como son:

- Necesidad de inducir la ovulación a la hembra con distintos métodos artificiales.
- Cierta complejidad en la técnica de dilución y conservación del semen que presenta una elevada sensibilidad ante los agentes físicos y químicos.
- Influencia del estado fisiológico de la hembra sobre los resultados de la inseminación, dando lugar a resultados variables sujetos a factores aún no bien controlados.

A medida que estos problemas sean mejor estudiados y obtengamos las soluciones, la técnica de la I.A. tendrá una más amplia y rápida implantación en los conejares españoles.

En el presente trabajo vamos a realizar un repaso de los factores que pueden afectar los resultados reproductivos divididos en tres grandes puntos:

- Factores referentes a la hembra.
- Factores referentes al macho.
- Aspectos tecnológicos.

Factores referentes a la hembra

La coneja presenta características reproductivas diferentes a los de otras especies zootécnicas, derivadas de la ausencia de un ciclo estral definido y regular, y de mecanismos reflejos que dan lugar a una ovulación inducida.

Uno de los aspectos más importantes que presenta la inseminación artificial es la posibilidad de cubrir a la hembra independientemente de su ciclo sexual. Este hecho, que en principio puede considerarse como un aspecto muy positivo, debe ser tratado con precaución, ya que un mal manejo de la coneja puede ocasionar una respuesta muy baja de la I.A.

Cuando se utiliza la I.A. existen una serie de factores que deben ser controlados, con el fin de asegurar unos resultados buenos y repetibles en los parámetros reproductivos.

Edad de la hembra

Podemos establecer tres categorías en función de la respuesta reproductiva que

CUADRO I. Efecto dosificación, vía de administración (subcutánea o intramuscular) y momento de administración anterior a la I.A., sobre la fertilidad y prolificidad, según autores.

Autor	Dosis U.I.	Vía	Horas pre-I.A.	Fertilidad %	Nacidos Vivos	Nacidos Muertos
Theau C. y Lebas, (1994)	25	s.c.	48	79,9	-	-
Theau C. y Lebas, (1996)	25	s.c.	48	71,9	9,37	0,87
Facchin et al. (1992)	20	s.c.	96	76,0	7,30	-
Boiti et al. (1995)	20	i.m.	72	65,8	-	-
Maertens y Luzzi (1995)	30	i.m.	48	-	8,27	0,46
Rebollar et al. (1995)	25	i.m.	48	77,5	7,2	1,0
Bonnano et al. (1993)	20	i.m.	72	59,8	6,4	0,5
Armero et al. (1994)	25	s.c.	48	67,1	8,1	-

presentan las conejas: nulíparas, primíparas y múltiparas.

Aunque la pubertad se alcanza en torno a las diez semanas de vida, no es aconsejable iniciar la vida reproductiva hasta un período más avanzado, con objeto de alcanzar un desarrollo óptimo de su sistema reproductor, así como un peso de la coneja del orden del 80% del peso adulto, de modo que la gestación no interfiera en su desarrollo corporal y su fertilidad en partos sucesivos.

La edad más indicada para la primera cubrición es objeto de permanente controversia ya que el cunicultor tiende a integrar a la hembra en el ciclo productivo lo antes posible, aunque hay que tener en cuenta que si se produce excesivamente pronto, puede provocar consecuencias negativas en el futuro rendimiento de la hembra. Un retraso implica un aumento en los gastos y una tendencia al engrasamiento que provocará malos resultados reproductivos. Nuestro consejo es establecer una relación de peso aproximadamente el 80% de peso vivo adulto y edad no inferior a las 16-18 semanas de vida (Díaz, 1987; Lebas y Coudert, 1986).

En cuanto a los aspectos reproductivos,

existen trabajos (Sinkovics et al., 1983, Bourdillon et al., 1992; Theau y Lebas, 1994) que indican que mientras las nulíparas muestran generalmente buenos resultados (alta tasa de fertilidad y tamaño de la camada media), las primíparas, cuando son inseminadas durante la lactación, presentan unos resultados más bajos. Este efecto es debido a un antagonismo hormonal entre lactación y reproducción y a un déficit energético, particularmente importante para hembras primíparas que simultáneamente tienen elevadas necesidades de energía para producir leche, completar su crecimiento corporal y desarrollar una gestación (Parigi Bini y Xiccato, 1993, Fortun y Lebas, 1994). Por esta razones es tan importante el que la coneja nulípara entre en producción con un peso y edad adecuado.

Los resultados que presentan las hembras múltiparas lactantes con un buen manejo, se acercan bastante a los obtenidos con hembras nulíparas en lo referente a fertilidad, pero son mejores en cuanto se refiere a tamaño de la camada.

Estado fisiológico (lactantes o no)

Las conejas pueden ser inseminadas a

los pocos días después del parto (o incluso en el mismo día), siendo capaces de soportar al mismo tiempo la lactación y gestación. Sin embargo, se ha observado una significativa modificación de los resultados de fertilidad en conejas inseminadas cuando se agrupan, según su estado fisiológico, en lactantes y no lactantes. La lactación afecta negativamente a los parámetros reproductivos de las hembras, disminuyendo la receptividad sexual, tasa de ovulación (Theau y Poujardieu, 1994; Fortun y Bolet, 1995) fertilidad y desarrollo embrionario. La principal responsable de este efecto parece ser la hormona prolactina que, aparte de otros efectos, reduce la acción de las hormonas exógenas utilizadas para sincronizar las inseminaciones.

Receptividad sexual

Una hembra se puede definir como receptiva si en presencia de un macho se inmoviliza voluntariamente y adopta una postura adecuada para la introducción del pene al elevar ligeramente el tercio posterior (Lordosis). El color de la vulva también es un buen indicador de la receptividad y de relativamente fácil comprobación.



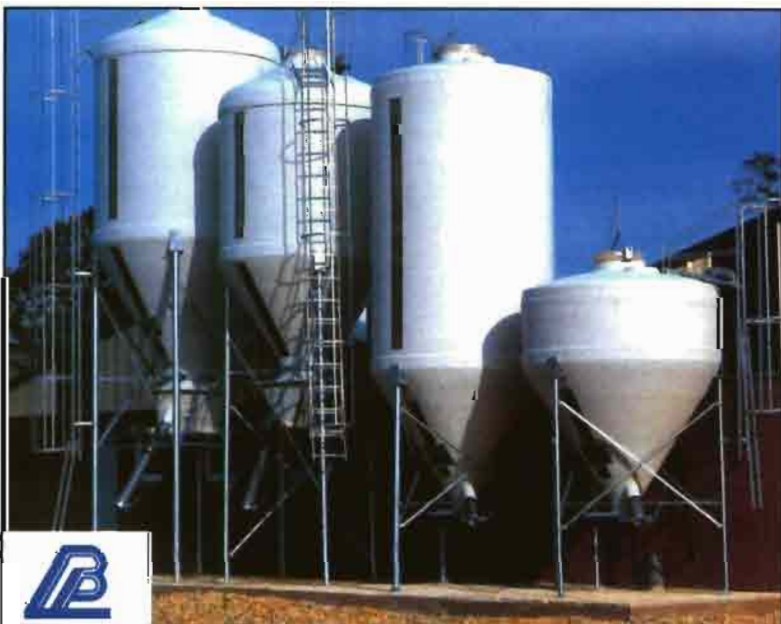
Burgalesa del Poliéster, S.L.

Polígono Industrial de Villalonquéjar - C/ Escudo, 2

Teléf: (947) 29 82 42 - 29 82 16. Fax: (947) 29 82 42

09001 BURGOS - (España)

SILOS Y DEPOSITOS DE POLIESTER



- ✓ CISTERNAS PARA TRANSPORTE
- ✓ ISOTERMOS
- ✓ SILOS DE ALMACENAMIENTO
- ✓ EXPLOTACIONES DE PISCICULTURA
- ✓ INDUSTRIA ALIMENTARIA
- ✓ INDUSTRIA QUIMICA GENERAL
- ✓ INDUSTRIA AGROALIMENTARIA
- ✓ INDUSTRIA VITIVINICOLA
- ✓ HIDROCARBUROS
- ✓ MULTIPLES USOS INDUSTRIALES

HOMOLOGADOS

POR LA DIRECCION GENERAL DE SANIDAD N.R.S. 3900917/BU

Consúltenos sin compromiso para cualquier fabricado de poliéster reforzado con fibra de vidrio.

Estos detalles son de importancia cuando tratamos de monta natural pero pasan a segundo plano al estudiar la I. A. en la cual las hormonas juegan un papel fundamental a la hora de preparar las hembras para ser inseminadas.

Daremos a continuación un repaso a los métodos y productos utilizados fundamentalmente para desarrollar dos procesos necesarios cuando realizamos la I.A., tales como son el control de celo y la inducción a la ovulación.

Control de celo.

El uso de tratamientos hormonales están siendo utilizados ampliamente con el fin de sincronizar el celo en los conejares debido a su simplicidad y eficacia. Las hormonas más corrientemente usadas actúan sobre el ovario, activando la maduración folicular.

Los tratamientos consisten en la administración de diferentes dosis y tipos de fármacos 2-3 días antes de la inseminación.

- PMSG (Pregmant Mare Serum Gonadotrophin)

La PMSG es una gonadotropina producida por las yeguas gestantes utilizada mayoritariamente como método para inducir el celo, estimulando el crecimiento folicular ovárico y por tanto la actividad sexual de la coneja.

La dosificación que parece ser más efectiva se sitúa en torno a las 20-30 UI en una única administración, intramuscular o subcutánea, 48-96 horas antes de efectuar la I.A. (Constantini, 1989; Rebollar et al., 1995) logrando unos resultados en cuanto a fertilidad en torno al 75-80% en hembras inseminadas el día 4 posterior al parto y entre el 80 y 85% en hembras nulíparas e inseminadas en día 11 postparto (**cuadro I**).

En conejas con problemas reproductivos se ha propuesto la obtención de un último parto antes de su desecho, aplicando 80-100 UI de PMSG, teniendo en cuenta que después del parto y lactación deben ser eliminadas ya que a dosis tan altas las hembras pueden producir tal cantidad de anticuerpos que la hagan improductiva en sucesivas cubriciones. Además Gosálvez et al., (1994) encontraron una influencia negativa de la superovulación debida a la alta dosis de PMSG (100 UI) en la calidad de los folículos en crecimiento.

También hay que señalar que los tratamientos repetidos



Pipeta para inseminación.

con PMSG para inducir el celo en la coneja presentan problemas de inmunidad importantes (Han et al. 1985), es decir que se observa una disminución de la respuesta al tratamiento debido a la aparición de anticuerpos anti-PMSG que neutralizan la acción biológica de esta hormona. No obstante, esta respuesta inmunitaria es extremadamente variable e individual (Canali et al. 1990; Theau-Clement y Roustan, 1992), de forma que según algunos autores el tratamiento repetido durante 11 meses seguidos no tiene efectos sobre la fertilidad (Cecchini et al., 1992) mientras que otros han observado correlaciones negativas entre fertilidad y la concentración de anticuerpos anti-PMSG.

- Estímulo luminoso

Es bien conocido por los cunicultores que practican la monta natural la existencia de un anoestro estacional, siendo el rechazo de la monta, en condiciones naturales, muy superior de octubre a enero. Un incremento positivo en la relación horas de luz / horas de oscuridad favorece la aparición del celo, fertilidad y número de nacidos por parto.

En la práctica de la I.A., se han realizado trabajos sometiendo a hembras que reciben programas de luz constantes a incrementos del número de horas de luz (de 8 a 16 horas), 8 días antes de efectuar la inseminación (Theau et al., 1990), encontrando una mejoría en el estado receptivo de la hembra.

- Manipulación de las hembras

El manejo de los animales influye en el estado y en la receptividad de la hembra. Los cambios bruscos en el medio ambiente normal de la coneja, tales como un traslado de nave, cambio de jaula o reunión de varias hembras en la misma jaula, pueden ejercer un efecto positivo sobre la tasa de fertilidad, aunque estos efectos no han sido lo suficientemente estudiados como para asegurar que estas manipulaciones, que requieren una mano de obra adicional, compensen los beneficios obtenidos.

Estos dos últimos sistemas naturales para inducir el celo tienen la ventaja de no necesitar la administración de hormonas, pero también importantes inconvenientes principalmente la no presencia de resultados homogéneos y estables, ya que al utilizar estos métodos pueden verse implicados otros muchos factores de difícil control.

Inducción de ovulación

La coneja es una hembra con ovulación inducida, de modo que, en condiciones naturales, la ovulación es desencadenada por el estímulo del coito. La inducción de la ovulación es de obligada aplicación al emplear la I.A., puesto que no tiene lugar de forma espontánea.

Para inducir la ovulación existen diferentes métodos o productos que se reflejan a continuación:

- Gonadotropina coriónica humana (HCG)

Esta gonadotropina, obtenida en la orina de la mujer embarazada, actúa sobre el ovario provocando la ruptura de los folículos preovulatorios. Su aplicación por vía intravenosa (en la vena marginal de la oreja), reproduce el efecto que tiene el coito en la monta natural.

Las dosis utilizadas oscilan, según diferentes autores, entre 30 y 150 UI, obteniendo según los casos, resultados en cuanto a conejas que ovulan en torno al 95% (Hulot, 1975; Maertens et al., 1983; Matheron y Poujardieu, 1982).

El inconveniente de la HCG cuando se utiliza en I.A., aparte de su dificultad de administración al ser esta intravenosa, estriba en la formación de anticuerpos en las conejas tratadas repetidamente, lo que origina una disminución en la tasa de ovulación. Este efecto adquiere relevancia a partir de la 4ª ó 5ª inyección y afecta a todas las conejas al 10º tratamiento.

CUADRO II. Efecto del ritmo reproductivo sobre los parámetros reproductivos de conejas inseminadas artificialmente (López, 1996, datos no publicados).

Ritmo reproductivo	Nulíparas	Postparto 4	Postparto 11
Fertilidad	70,34	82,90	83,40
(Nº hembras inseminadas)	(145)	(117)	(247)
Nacidos muertos	0,77	0,63	0,55
Nacidos totales	7,91	8,33	8,77

- Factores hipotalámicos liberadores de Gonadotropinas: GnRH

Se han sintetizado varios centenares de análogos de GnRH siendo muy utilizados en I.A. debido a que, por su pequeño tamaño, no provoca la formación de anticuerpos. La ausencia de reacción inmunológica permite su aplicación de modo repetido sin que se observe descenso de la fertilidad ni de la prolificidad. Los productos más utilizados son la Gonadorelina, Buserelina y Cysterelina. Generalmente, estos análogos se administran vía intramuscular y en un corto intervalo antes o después de la I.A. Las dosis habitualmente consideradas como efectivos varían entre 10 y 100 µg de GnRH estando las más utilizadas entre 10 y 40 µg.

- Machos vasectomizados

El método que más se aproxima a la monta natural es la cubrición con un macho vasectomizado, al que se han ligado y cortado los conductos deferentes de modo que, aún manteniendo la producción de espermatozoides y libido, es infértil por presentar azoospermia en el eyaculado.

Los resultados son equivalentes a los de monta natural en cuanto a la tasa de ovulación conseguida, si bien presenta la ventaja de que se utiliza para la inseminación fecundante un eyaculado cuya calidad ha sido contrastada previamente. La tasa de gestación es similar a las conejas cubiertas naturalmente (Urbanski, 1979; Nieto, 1984).

Este método presenta numerosos inconvenientes como pueden ser el requerir una elevada proporción de machos, que, además, deben sufrir una operación quirúrgica; por otra parte, este método requiere un aumento de manejo, de coste de mantenimiento y ocupación de espacio que justamente se pretendía evitar por medio de la I.A. Sin embargo, lo presentamos aquí como alternativa al uso de productos hormonales inyectados.

Ritmo reproductivo

El intervalo entre parto e I.A. representa uno de los factores más importantes que afectan a la economía de los conejares industriales.

La eficacia de la I.A. aplicada en los distintos días postparto presenta resultados variables. La I.A. efectuada en los

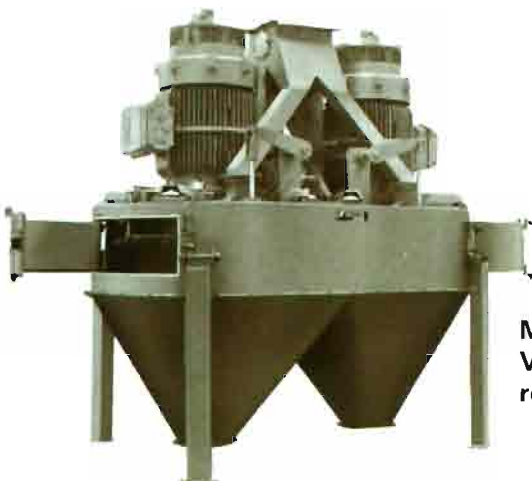
días 1 y 2 después del parto normalmente tiene asociada una baja fertilidad y prolificidad, mientras que en hembras inseminadas más tarde (día 21 de lactación) produce unos altos parámetros reproductivos (Rebollar et al., 1992). Entre estos intervalos existen numerosos estudios que comparan los días 4 y 11 después del parto siendo favorables a este último (Roustan y Maillot, 1990; Theau-Clement y Roustan, 1992). Sin embargo estos datos no deben ser tomados como norma general, ya que existen numerosos factores que pueden afectar a este resultado: estado de la coneja, estado y manejo del conejar, selección genética, etc ... **(cuadro II)**.

Cuando después de una I.A. la coneja no queda gestante existe una alta probabilidad de que haya ovulado debido a la administración de GnRH y mantenga cuerpos lúteos productores de progesterona en sus ovarios, determinando un estado de pseudogestación. Dicho estado se mantiene durante 17-18 días después de una inseminación artificial no fecundante, con lo que el caso de realizar la I.A. una vez a la semana, será necesario esperar hasta el día 21.

BUHLER

Tecnología e Ingeniería para su Fábrica de Piensos

Esperamos su grata visita en nuestro stand C-340, Palacio nº 2 de Expoaviga. Feria de Barcelona del 27 al 30 de octubre.



Molino de martillos Vertica con dos rotores.

Granuladora DPAS con doble acondicionador.



BUHLER

Polígono Ind. Las Arenas, C/ Del Rio, nº8
28320 - PINTO (Madrid).

Teléfono: 91 692 91 00. Fax: 91 692 91 01.

Factores referentes al macho

El macho en I.A. juega un importante papel que condiciona el rendimiento productivo de la explotación. Sin embargo existen muchos menos estudios, en comparación con las hembras, que definen sus características fisiológicas para la producción de semen.

Existe una gran variabilidad en cuanto a las características de los machos tanto cuando se comparan *in vitro* (Battaglini et al., 1992, Panella y Castellini, 1990), como *in vivo*, analizando los parámetros de fertilidad y prolificidad (Monfredini and Cavazzoni, 1992).

Realizando un resumen de resultados que presenta la bibliografía podemos constatar que el volumen de eyaculados varía ampliamente, desde 0,3 a 6 ml, en función de la secreción de glándulas anejas (presencia de gel), estando el volumen normal en torno a 0,3 y 0,8 ml. La concentración espermática puede situarse entre 50 y 800 millones de espermatozoides por ml, si bien normalmente se encuentran entre 200 y 500 millones.

Sin embargo, las características del semen están afectadas por numerosos factores de modo que se observan grandes oscilaciones entre machos y en un mismo macho tras sucesivas recogidas.

Edad

El volumen medio y concentración espermática aumentan con la edad. Se ha observado al considerar machos de 5 meses o de más de 8 meses de edad, que el volumen pasa de 0,3 a 0,5 ml, y la concentración de 200 a 300 millones/ml.

Parece que la edad óptima de utilización de los machos se sitúa entre 1 y 2 años, reduciéndose la aptitud al salto y los parámetros de producción de semen en machos viejos.

También se ha observado una cierta relación de la época de nacimiento con la edad a la cual alcanzan la madurez sexual: la concentración espermática resultó mayor para machos nacidos en primavera que para nacidos en otoño (Pingel y El-Ezz, 1981).

Ritmo de recogida

En general, se admite que el volumen disminuye con el número de recogida y que la concentración desciende desde la segunda extracción en adelante (López et al, 1996).

Existen trabajos que analizan el efecto de la frecuencia de recogida sobre los parámetros

más significativos que definen el semen (volumen, pH, concentración, movilidad) realizados por Bencheikh (1993, 1995). En estos trabajos comparó 3 ritmos de recogida:

Extensivo: 2 eyaculados sucesivos (con 15 minutos de diferencia entre ellos) una vez por semana.

Intermedio: 2 eyaculados sucesivos 2 veces por semana.

Intensiva: 2 eyaculados sucesivos 3 veces por semana.

En estos trabajos el ritmo "extensivo" mejoró significativamente todos los parámetros estudiados en cuanto a la calidad de éstos. Sin embargo la producción semanal de esperma fue ligeramente mayor en los ritmos intermedios o intensivos.

De modo general, los ritmos de recolección más utilizados en I.A. en la mayo-



ría de los centros de producción de semen son el extensivo o intermedio, ya que es imprescindible para estos centros el suministrar un semen de calidad óptima.

Influencias ambientales

• Fotoperíodo

El efecto del fotoperíodo no es bien conocido. Existen estudios realizados por diversos autores que muestran resultados contradictorios.

Por un lado, se ha observado que 14 horas de luz continuada al día favorecen la producción espermática frente a fotoperíodos de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad, 10 horas de luz/14 de oscuridad o la

aplicación de intervalos intermitentes de luz/oscuridad (Uzcategui y Johnston, 1990).

Más recientemente Theau-Clement et al. (1994) estudiaron el efecto de 2 programas de luz (8 y 16 horas de luz al día) en la actividad reproductiva de machos jóvenes, durante 6 meses. En el experimento se demostró que el fotoperíodo de 16 horas aumentaba significativamente la producción de esperma y la movilidad.

La variabilidad de los resultados obtenidos en las pruebas efectuadas podrían tal vez explicarse por las distintas condiciones en que se han realizado las experiencias, de modo que no es posible cuantificar la influencia de otros factores que influyen paralelamente al fotoperíodo (temperatura, edad, raza, etc.).

• Estacionalidad

En general, se puede afirmar que las altas temperaturas disminuyen la fertilidad aunque este efecto es más acusado en monta natural que en I.A. (Sinkovics y Haut, 1988). La existencia de una "esterilidad de verano" asociada a altas temperaturas, está ligada a un aumento de pH del semen, caída de la movilidad espermática, mayor porcentaje de espermatozoides anormales y descenso de la libido.

• Altitud

La disminución de oxígeno en el aire a medida que se incrementa la altitud, asociada a cuotas superiores a 4.500 m, trae como resultado el deterioro de la calidad espermática, traducida en una disminución de la concentración, un aumento de las formas anormales y una alteración de las actividades metabólicas del espermatozoide (Märki y Strazinger, 1985).

Aspectos tecnológicos

Dividiremos este capítulo en dos apartados como son la recogida del semen e inseminación y procesado del semen, si bien es necesario destacar que estamos ante un campo en constante desarrollo, donde los adelantos e innovaciones pueden aparecer en el mercado con elevada rapidez.

Hay que tener en cuenta que la I.A. en cunicultura tiene una corta historia y una parte de los materiales y métodos son adaptaciones de los que se utilizan en otras especies.

Recogida del semen

- Material de recogida de semen
En el caso del conejo la

CUADRO III. Características cuantitativas y cualitativas de semen de conejo, según Sinkovics et al., 1983.

Densidad	Conc./mm ³	Motilidad	I.A.
Lechoso	250.000 ± 6,10 ⁴	60-70 %	Aconsejable
Lechoso con gel	165.000 ± 6,10 ⁴		
Denso	240.000 ± 2,10 ⁵		
Acuoso	50.000 ± 8,10 ⁴	0-50 %	Desaconsejable
Con orina	--		

HACIA EL 2000 DOXIVET INYECTABLE



**Tetraciclina sintética de segunda generación
no ligada a transportadores de membrana**

Después de 30 años de uso de la oxitetraciclina en medicina veterinaria, los microorganismos han ido desarrollando resistencias al eliminar los transportadores de membrana que introducían el antibiótico en el citoplasma bacteriano.

El alto grado de liposolubilidad (facilidad de pasar membranas lipoproteicas) de DOXIVET le permite entrar y desarrollar su

actividad antibacteriana incluso en microorganismos 100 % resistentes a otras tetraciclinas.



**HACE
5 AÑOS**
**Se describieron
resistencias
bacterianas a la
oxitetraciclina**



**HACE
15 AÑOS**

**Se inventó la
oxitetraciclina
L.A.**



**HACE
30 AÑOS**

**Empezó a
utilizarse la
oxitetraciclina
en veterinaria**



**DIVASA
FARMAVIC, S.A.**



Ctra. Sant Hipòlit, km. 71
Apartado de Correos 79 VIC
08518 GURB-VIC (Barcelona) SPAIN
Tel. (93) 886 01 00 - Fax (93) 889 01 31

recogida del semen se realiza mediante vagina artificial.

Existen diferentes modelos (comerciales o artesanos) fabricados con diversos materiales (aluminio -Contera et al., 1994- vidrio, plástico, etc.), que básicamente constan de:

- Cuerpo semirígido.
- Revestimiento interno o camisa.
- Colector del eyaculado.

El cuerpo es un cilindro con dos aberturas terminales. En una de ellas se sitúa un tubo colector (tubo de ensayo de vidrio o plástico), mientras que la otra permite la introducción del pene del conejo y la eyaculación.

Normalmente este cilindro dispone de un orificio que permite la introducción del agua caliente o aire.

La camisa es otro cilindro de látex o goma elástica, más largo que el cuerpo, de forma que, una vez introducida en él, se pueden revestir los bordes. De este modo se forma una cavidad estanca entre el cuerpo y la camisa destinada a contener agua caliente que proporcionará la temperatura adecuada (42°).

El colector es un tubo graduado de dimensiones un poco mayores en longitud total del cuerpo de la vagina artificial y su diámetro será tal que penetre fácilmente por su extremo más estrecho.

Las características importantes que deben presentar las vaginas artificiales son la facilidad de uso, posibilidad de recoger higiénicamente los eyaculados y que se pueda desinfectar de modo completo.

• Material para la valoración

En la práctica de la I.A. es muy importante el control del semen para conocer su calidad.

Para el examen macroscópico del eyaculado no se precisa ningún material específico, pues dicho examen se realiza por la observación directa del semen recién cogido en el tubo colector.

En el examen microscópico el mínimo material necesario será:

- Microscopio de 100 aumentos.
- Portas templados.
- Pletina térmica o estufa.
- Pipetas Pasteur.

• Material para la inseminación

Para la introducción del semen en el tracto genital femenino se utiliza un catéter curvado en su extremo anterior que se puede obtener de catéteres de inseminación en especies mayores (vacas, yeguas...) y cuyas dimensiones oscilan entre:



Laboratorio para inseminación artificial.

- 14 - 20 cm (rama larga).
- 1 - 3 cm (rama corta).
- 5 - 5 mm de diámetro exterior.
- 2 mm de diámetro interior.

En el extremo largo se acopla una jeringa de plástico o chupete que aspirará el semen dentro del catéter para más tarde, al apretar o empujar el émbolo, depositarlo en la coneja.

• Recogida del semen

En primer lugar, una vez montada la vagina artificial, se debe tener muy en cuenta la temperatura interior de ésta, ya que si supera los 42 °C, el macho se orinará en la vagina o simplemente se retirará no eyaculando, con el riesgo, además, de producirle lesiones en el pene y provocar un rechazo permanente de la vagina. Si la temperatura está por debajo de 42 °C no existirá suficiente estímulo térmico y el conejo no eyaculará.

La extracción del semen, al igual que en la monta natural, se realiza en la jaula del macho. La razón es simple, el conejo marca su territorio y no presenta rechazo alguno en la operación.

Para que el macho salte y eyacule se puede utilizar:

- Piel de conejo o similares a ésta, colocada sobre un maniquí o directamente sobre el antebrazo del operario (Angeli et al., 1990, Díaz et al., 1989).

- Directamente una coneja (Bonnano y Costanzo, 1985).

Después de unos momentos de reconocimiento, el macho salta sobre el maniquí o la hembra; en este momento se coloca la vagina artificial debajo de ésta o entre ambos, y sin necesidad de tocar el pene se dirigirá la vagina de modo que el macho lo introduzca en ella.

El macho realiza la eyaculación de la misma forma que en la monta natural, empujando hacia delante y posteriormente cayendo de costado o de espaldas; es posible que pueda saltar y montar sin liberar nada aunque sólo en raras ocasiones.

Una vez realizada la recogida se saca el tubo colector con cuidado, evitando en mayor medida posible la contaminación microbiana que ésta presente en la vagina y el contacto directo con agua, ya que esta puede tener efectos muy negativos en los espermatozoides.

En las distintas manipulaciones del semen una vez recogido es preciso:

- Protegerlo del choque térmico.
- No exponer el semen a productos químicos nocivos o al agua.
- Evitar la exposición prolongada a la luz solar o a otras radiaciones.

Valoración del eyaculado

El examen del eyaculado se realiza en la práctica desde dos puntos de vista:

Examen Macroscópico

En este examen se estudia el volumen, color, consistencia, viscosidad, existencia del gel e impurezas, etc... mediante la observación directa del eyaculado en el tubo colector.

• Consistencia y aspecto

El esperma del conejo es un líquido denso, cremoso, ligeramente amarillento o grisáceo. A medida que suceden los saltos en una misma jornada, el líquido espermático se hace más claro por disminución de la concentración de espermatozoides.

En la I.A. la existencia del gel, procedente de secreciones prostática y vesicular, es perjudicial porque ejerce un efecto aglutinador sobre los espermatozoides que pierden gran parte de su movilidad.

Por ello es necesario separar el gel del semen antes de proceder a la valoración, deslizándolo fuera del tubo colector con una pipeta Pas-

CUADRO IV. Efecto de la concentración espermática sobre la fertilidad y prolificidad en hembras inseminadas con semen diluido y refrigerado durante 24 horas (Alvaríño et al., 1996).

Conc. Espermática (mill. Spz./dosis)	Fertilidad % (nº H. Insem.)	Nacidos muertos	Nacidos vivos
64	72,91 (96)	0,69	7,14
32	78,70 (198)	0,37	7,79
26	74,50 (51)	0,07	7,10
20	65,21 (46)	1,21	7,67
14	61,38 (145)	0,46	6,26
8	45,80 (131)	0,51	5,40

teur, cuidadosamente para que no se disgregue.

- **Volumen**

En el momento de la recogida y una vez liberado en su caso de la presencia del gel, se determina el volumen de semen mediante la graduación existente en el tubo colector.

El volumen del eyaculado del conejo puede oscilar entre 0.2 y 1 ml. si bien éste es un factor de apreciación secundario, ya que el volumen puede ser bajo pero tener una concentración alta de espermatozoides.

- **Color**

El color de los eyaculados del conejo es blanquecino y más o menos opaco según la concentración de espermatozoides. El color considerado óptimo es el blanco nacarado más o menos modificado por la presencia de elementos anormales.

Las coloraciones que se consideran anormales y desaconsejan la utilización del eyaculado son:

- Amarillo: indica la presencia de pus u orina.

- Rojizo: sangre que puede proceder de lesiones o heridas en el pene.

- Marrón: elementos sanguíneos degenerados o por heces.

- Blanquecino o transparente: indica una baja concentración de espermatozoides.

Examen microscópico

En el examen microscópico observaremos y mediremos mediante microscopio óptico determinadas características del semen:

- **Movilidad**

La movilidad de los espermatozoides es un elemento importante para determinar la calidad del esperma.

Una vez retirado el gel del semen en el caso de su existencia y después de la valoración macroscópica del mismo, con una pipeta Pasteur se deposita una gota de éste sobre un porta templado (37-38 °C), sobre dicha gota se coloca un cubre, observándose en un microscopio, a 40 -

100 aumentos, procediendo por último a la valoración.

Se puede distinguir entre movilidad masal e individual. La movilidad masal se refiere a la proporción de espermatozoides que tienen algún tipo de movimiento y a los que se les concede un porcentaje estimado que es determinado de modo subjetivo por el operador (Bagliacca et al. 1987). A continuación se procede a la valoración de la movilidad individual. El movimiento típico de los espermatozoides del conejo es progresivo y rectilíneo, considerándose el movimiento circular o las vibraciones sin desplazamiento, como movimientos defectuosos que disminuyen



la calidad del semen. Esta movilidad individual también se aprecia de manera subjetiva, valorando la calidad del movimiento en distintos campos visuales de la muestra.

Un semen de buena calidad debe poseer un mínimo de 60-70% de espermatozoides móviles y de dichos espermatozoides más 50% tendrá movimiento progresivo rectilíneo (Bonnano y Costanzo, 1985).

- **Concentración**

Expresa el número de espermatozoides según unidad de volumen.

Para la determinación precisa su pue-

den emplear diversas técnicas de las cuales la más utilizada es la de recuento con cámara de Burker. Sin embargo, en la práctica, mediante un entrenamiento adecuado, se realiza una estimación subjetiva de la concentración, que suele ofrecer resultados similares a los obtenidos utilizando las técnicas de Burker.

Existen otros análisis macroscópicos como son la determinación de pH, viscosidad, peso específicos y microscópicos como el estudio de formas anormales y normalidad acrosómica aunque en la práctica éstos queden más para los centros de investigación que para la actividad diaria en las explotaciones cunícolas o en los centros de testaje (**cuadro III**).

Procesado del semen

- **Dilución del eyaculado**

Cuando se ha valorado el semen recogido y comprobado que reúne las condiciones de calidad óptimas necesarias para conservarlo, se procede a la dilución.

Con la dilución buscamos aumentar el volumen total del eyaculado, proporcionar un adecuado medio de conservación para la supervivencia in vitro de los espermatozoides y realizar, a partir de un eyaculado, la inseminación de un número elevado de hembras.

Las características que ha de reunir un buen diluyente son las siguientes:

- 1.- Ser isotónico, para no variar la presión osmótica sobre el espermatozoide (325 mili Osmoles/kg. de agua).

- 2.- Poseer una adecuada capacidad tampón, para mantener un pH favorable a los espermatozoides (generalmente pH 7.0).

- 3.- Contener sustancias coloidales y crioprotectoras que protejan al espermatozoide del choque térmico, si se procede a su refrigeración (hasta 5°C) o congelación.

- 4.- Contener nutrientes que mantengan la actividad metabólica espermática.

- 5.- Estar libre de sustancias extrañas o agentes perjudiciales para el espermatozoide, tracto genital de la hembra o para el proceso de fecundación.

No entraremos en la descripción de los diluyentes históricamente utilizados y de

CUADRO V. Efecto de la temperatura de refrigeración del semen durante 24 horas sobre los parámetros reproductivos en hembras lactantes inseminadas artificialmente (López et al., 1996).

Temperatura	6 °C	11 °C	15 °C	18 °C	19 °C	21 °C	25 °C
Fertilidad % (Nº H. Insemin.)	68,31 (101)	67,36 (95)	65,21 (46)	82,85 (105)	86,60 (209)	74,50 (102)	71,42 (70)
Nacidos muertos	1,11	1,07	0,50	0,41	0,51	0,36	0,46
Nacidos totales	8,14	8,87	7,85	9,11	8,16	8,57	8,00

los que en la actualidad se emplean como medio para sostener los espermatozoides, pero como pincelada podemos decir que existen desde los productos más simples como puede ser la leche descremada o suero fisiológico tamponado hasta los más sofisticados capaces de mantener el semen refrigerado 24-48 horas y los que proporcionan un medio adecuado para congelar el semen (aunque esta técnica presenta mayores dificultades como posteriormente analizaremos).

En España se han realizado trabajos de investigación dando como resultado la reciente comercialización de un diluyente específico para semen de conejo, denominado MA-24, con capacidad para conservar los espermatozoides a 18 °C durante 24 horas, lo que permite el transporte de semen desde centros de producción a granjas situadas a grandes distancias.

Para practicar una dilución correcta habrá que tener en cuenta la valoración de la concentración espermática efectuada anteriormente con cada eyaculado y así la tasa de dilución estará en función del número mínimo de espermatozoides necesarios en cada dosis. Recientes trabajos reflejan que al utilizar semen diluido en fresco la dosis óptima puede estar en torno a los 20 millones mientras que si utilizamos semen refrigerado la dosis estará entre 25 y 30 millones por inseminación (Alvariño et al., 1996).

Una vez recogido y valorado el semen, se diluye en el producto elegido, el cual se ha mantenido a una temperatura de 37-38°C para evitar saltos térmicos bruscos, introduciendo el semen diluido en un recipiente esterilizado y seco (**cuadro IV**).

- **Conservación del eyaculado**

La conservación del semen está adquiriendo una gran importancia a medida que se desarrolla la I.A. en el entorno cunícola español. Este desarrollo trae asociado una proliferación de centros de testaje y producción de semen que establecen circuitos de inseminación, siendo imprescindible la utilización de diluyentes que, al menos, sean capaces de mantener el semen en buenas condiciones durante 24 horas para facilitar el transporte del mismo.

- **Refrigeración**

Mediante la refrigeración se conserva la capacidad fecundante del semen durante 24 y 48 horas, logrando unos parámetros reproductivos similares a los obtenidos al

utilizar semen en fresco (Maertens y Luzi, 1995, Alvariño et al., 1996). Este método consiste en el mantenimiento de la dosis a una temperatura entre 5 y 20 °C, estando el óptimo en función del tipo de diluyente utilizado (**cuadro V**).

La técnica consiste en diluir el semen a 37-38 °C e inmediatamente después someterlo a un enfriamiento progresivo evitando así que se produzca un choque térmico que podría resultar perjudicial para los espermatozoides.

- **Congelación**

El principal inconveniente para la utilización de la congelación en I.A. en cunicultura es la ausencia en el mercado de un diluyente capaz de mantener la vitali-



Vagina artificial para inseminación artificial.

dad y capacidad fecundante de unos espermatozoides que van a ser sometidos a una serie de manipulaciones y a una diferencia de temperatura de 230 °C. Los resultados que presentan las inseminaciones realizadas con semen congelado son más bajos que los efectuados en fresco o refrigerado. (Chen et al. 1989).

Uno de los problemas que presenta esta práctica radica en la obtención de un crioprotector adecuado (Acetamida, DMSO etc.) ya que el más utilizado en I.A. en otras especies zootécnica como es el glicerol tiene un efecto muy tóxico para los espermatozoides de conejo (Castellini et al., 1992).

La técnica utilizada para la congelación puede desarrollarse en los siguientes pasos:

- 1) Se realiza una dilución 1:4.
- 2) Enfriamiento progresivo hasta alcanzar los 5 °C, en un tiempo aproximado de 3 horas.
- 3) Media hora antes de proceder a la congelación, se añade un 6% de glicerina.
- 4) Se aspira el semen diluido y refrigerado en:

- Ampollas de 2,5 cc, que contienen varias dosis.

- Tubos de cloruro de polivinilo.

- Pajuelas de plástico de 0,5 cc.

5) Se congela en vapores de nitrógeno durante 6-10 minutos.

6) Se almacenan sumergidos en nitrógeno líquido. La descongelación se realiza durante 20 segundos al "baño María".

Inseminación

La I.A. se completa con la colocación del semen, en el momento oportuno y en el sitio adecuado, del tracto reproductor femenino. Este proceso se denomina "deposición", aunque genéricamente se emplea el término "inseminación".

La sujeción y elevación del tercio posterior de la coneja es posible cogiendo el rabo y un pellizco de la piel del lomo, lo que permite que la I.A. sea realizada por un solo operario. Una vez preparada la hembra, se introduce por la vagina el catéter con la acodadura hacia la parte dorsal, evitando su introducción en la uretra, situada en la parte ventral de la vagina. Pasada la pelvis se gira 180 °C el catéter, y se prosigue la introducción hasta 8-14 cm, en que se hace tope con el cervix. Entonces se presiona el émbolo de la jeringa para depositar el semen y a continuación se retira el catéter lentamente. Estas manipulaciones se deben realizar con la mayor delicadeza, para evitar producir a las hembras lesiones internas que ocasionaran metritis.

Conclusión

En nuestra opinión la cunicultura industrial moderna ha iniciado un proceso irreversible hacia una mayor tecnificación y especialización, siendo la I.A. uno de los factores desencadenantes de esta evolución. Las ventajas de la I.A. son claras y evidentes, estando muchas de ellas reflejadas en el presente trabajo.

Sin embargo, hemos de tener en cuenta que la I.A. no es, bajo ningún concepto, la panacea y solución de los problemas económicos de un conejar. Para una correcta implantación de esta técnica en un conejar se debe realizar en primer lugar un estudio previo de las características de éste, tales como condiciones higiénicas, edad de las hembras, hábitos de manejo, parámetros reproductivos etc., para una posterior y gradual introducción de la I.A., observando unas escrupulosas medidas higiénicas y de manejo, para evitar ocasionar daños irreparables en las hembras y en cualquier caso siempre con la estrecha asesoría de técnicos especialistas en este campo. ■