

CALIDAD DEL SEMEN COLECTADO MEDIANTE ELECTROEYACULACIÓN EN CHIVOS NO TRATADOS, SEDADOS O ANESTESIADOS

Abril-Sánchez¹, S., Beracochea, F., Crosignani, N., Terrazas, A., Silveira, P., Damián, JP., Fernández, A., Ungerfeld, R.

Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia
Campus *Mare Nostrum*, 30100, Murcia e IMIB, Murcia.

Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República,
Lasplacas 1550, Montevideo 11600, Uruguay ¹ silvia.abril@um.es

INTRODUCCIÓN

La electroeyaculación (EE) es una herramienta muy utilizada en sistemas de producción y ganadería, ya que permite colectar semen fuera de la estación reproductiva, y no requiere de un entrenamiento previo del animal. Sin embargo, se ha observado que la EE provoca estrés (Abril-Sánchez et al., 2017; Damián y Ungerfeld, 2011) y podría ser dolorosa para los animales (Bath, 1998). De acuerdo a la directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de septiembre de 2010 relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos, los procedimientos que puedan causar dolores severos no pueden ser aplicados sin anestesia. Por lo tanto en los países miembros de la UE la EE debe aplicarse bajo anestesia general. Por otra parte, la calidad del semen colectado mediante EE puede ser baja en comparación con vagina artificial (Memon et al., 1986) y presentar riegos de contaminación por orina (Marco-Jimenez et al., 2005). Las drogas utilizadas para la anestesia pueden provocar cambios en las características del semen, mejorando su calidad. De hecho, los agonistas α_2 -adrenérgicos favorecen la estimulación de las contracciones de las glándulas sexuales accesorias, epidídimo y vaso deferente (Knight, 1974), ya que estas zonas están inervadas por fibras adrenérgicas (Kaleczyc et al., 1993; Sjöstrand, 1965). Además, el cuello vesical que conecta la vejiga y la uretra también presenta inervación adrenérgica (McConnell et al., 1982), por lo que los agonistas α_2 -adrenérgicos pueden además favorecer su cierre y disminuir el riesgo de contaminación del semen por orina. Sin embargo, estos agonistas pueden a su vez bloquear la relajación del músculo retractor del pene, obteniendo un efecto opuesto al provocado por la EE (Cheah et al., 2002). Por tanto, la aplicación de agonistas α_2 -adrenérgicos como la xilacina puede provocar varios efectos simultáneos que modifiquen la calidad espermática. Por otra parte, aunque de acuerdo a Santiago-Moreno et al. (2011) el protocolo anestésico utilizado en este trabajo no afectó la calidad del semen, estos autores recomendaron el uso de dosis bajas de ketamina para lograr una correcta erección y protrusión del pene y así facilitar la colección del semen con menor riesgo de contaminación en rumiantes. Una alternativa a la anestesia puede ser la inducción de sedación, ya que esta requiere una menor dosis de ketamina, y por consiguiente probablemente se afecte menos la calidad del semen. Por todo ello, el objetivo de este trabajo fue comparar las características del semen colectado mediante EE en chivos no tratados, sedados y anestesiados.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en Octubre (primavera) con 8 chivos de Gabón (8-9 años de edad, 33,0 $\pm$ 1,7 kg, media $\pm$ error estándar) localizados en las instalaciones del Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria (35°S, Montevideo, Uruguay). Todos los animales permanecieron en ayunas 24 h antes de la colección de semen y administración de las drogas anestésicas y sedantes según el tratamiento. Tras el estudio, todos los animales se alimentaron con alfalfa de heno y tuvieron acceso libre a agua.

Se colectó semen de 8 chivos usando 3 procedimientos diferentes (EE, EE+sedación, y EE+anestesia) en un diseño de cuadrado latino. Todos los animales pasaron por los 3 procedimientos en 3 periodos diferentes, de manera que en el primer periodo el semen se colectó alternando 3 animales con EE, 3 con EE + sedación y 2 con EE + anestesia y en el resto de periodos se intercambiaron los procedimientos. Cuando el semen se colectó mediante EE (control), a los chivos no se les administró drogas. Cuando el semen se colectó bajo anestesia (EE + anestesia) se inyectó a los chivos vía intravenosa una combinación de ketamina al 5% (5 mg/kg) (Pharmaservice, Norepley SA, Montevideo, Uruguay) y xilacina al 2% (0,05 mg/kg) (Vetcross, Portinco SA, Montevideo, Uruguay). Finalmente, cuando el semen se colectó bajo sedación (EE + sedación) se administró a los chivos la misma

combinación de drogas que en el grupo de anestesia pero con ketamina al 0,5% (0,5 mg/kg). La anestesia y sedación fueron revertidas después de la EE mediante la administración intravenosa de yohimbina al 1% (0,01 mg/kg) (Reverze, Vetcross, Portinco SA, Montevideo, Uruguay).

Para llevar a cabo la EE la sonda se lubricó con carboximetil celulosa y se introdujo en el recto del animal. Todos los chivos fueron estimulados con series de 10 pulsos eléctricos aplicando un voltaje creciente a partir de 3 V hasta que los animales eyacularon. Cada pulso se aplicó durante 3 s con descansos de la misma duración.

En el semen colectado se determinó el volumen, concentración espermática, motilidad masal (escala 0-5), vigor (escala 0-5), así como el porcentaje de espermatozoides móviles y con motilidad progresiva mediante su observación bajo microscopía de contraste de fases. Además, se evaluaron la vitalidad mediante tinción con eosina/nigrosina y la integridad de la membrana de los espermatozoides mediante el test hipo-osmótico (HOST) así como el daño acrosomal y la morfología de espermatozoides fijados en glutaraldehído al 2%, usando microscopía de contraste de fases.

Los datos de calidad seminal se compararon entre los 3 procedimientos con un ANOVA incluyendo en el modelo el procedimiento como efecto fijo y el periodo y los animales como efectos aleatorios. Los datos son presentados como media $\pm$ error estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La motilidad masal fue mayor en el semen colectado de chivos que fueron tratados previamente a la EE con anestesia y sedación que de aquellos que no fueron tratados (control) ($P = 0.049$; Tabla 1). Además, hubo una tendencia en la concentración ($P = 0.08$). No hubo diferencia entre los procedimientos en el resto de parámetros (Tabla 1).

Las drogas usadas para la anestesia y sedación mejoraron levemente la calidad del semen, ya que se observaron mejores resultados en motilidad masal. Esto puede ser explicado por una contracción más intensa de las glándulas sexuales accesorias, epidídimo y vaso deferente inducida por la xilacina durante la eyaculación (Knight, 1973), lo que favorece la colección del semen, y por tanto podría mejorar su calidad. La similitud de las características entre los grupos anestesia y sedación refuerzan esta interpretación, ya que ambos recibieron la misma dosis de xilacina.

En conclusión, la sedación y anestesia mejoraron levemente la calidad del semen colectado mediante EE en chivos de Gabón. Además, puede ser interesante considerar si el uso de la sedación disminuye el estrés y dolor provocado por la EE, ya que requiere la administración de una menor cantidad de fármaco (ketamina) sin que por esto se afecte la calidad del semen.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abril-Sanchez, S., Freitas-de-melo, A., Damián, J.P., Giriboni, J., Villagrà-García, A., Ungerfeld, R., 2017. *Reprod. Domest. Anim.* Doi: 10.1111/rda.12922
- Bath, G., 1998. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 59, 147–156.
- Cheah, L.S., Gwee, M.C.E., Nirthanan, S., 2002. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 47, 79–85.
- Damián, J.P., Ungerfeld, R., 2011. *Reprod. Domest. Anim.* 46, 646–650.
- Kalczyk, J., Majewski, M., Całka, J., Lakomy, M., 1993. *Folia Histochem. Cytobiol.* 31, 117–123.
- Knight, T.W., 1974. *J. Reprod. Fertil.* 40, 19–29.
- Marco-Jimenez, F., Puchades, S., Gadea, J., Vicente, J.S., Viudes-De-Castro, M.P., 2005. *Theriogenology* 64, 1756–1765.
- McConnell, J., Benson, S., Wood, J.O.E.G., 1982. *Brain Resear Bull.* 9, 679–694.
- Memon, M.A., Bretzlaff, K.N., Ott, R.S., 1986. *Theriogenology* 26, 823–827.
- Santiago-Moreno, J., Toledano-Díaz, A., Sookhthezary, A., Gómez-Guillamón, F., de la Vega, R.S., Pulido-Pastor, A., López-Sebastián, A., 2011. *Res. Vet. Sci.* 90, 150–155.
- Sjöstrand, N.O., 1965. *Acta Physiol. Scand.* 65, 1–81.

Agradecimientos: este trabajo fue financiado y realizado en la Universidad de la República, Uruguay.

Tabla 1. Volumen, concentración, motilidad masal, vigor, motilidad total y progresiva, integridad de la membrana (HOST), daño acrosomal y morfología de espermatozoides colectados mediante electroeyaculación (EE) en chivos sin tratamiento (control) y tratados con sedación o anestesia previamente a la colección de semen.

Variables	Procedimientos			Valor de P
	EE (Control)	EE+Sedación	EE+Anestesia	
Volumen (mL)	0,51 ± 0,08	0,46 ± 0,08	0,56 ± 0,08	NS
Concentración (10 ⁶ /mL)	989,2 ± 450,3	2649,3 ± 481,3	1733,2 ± 450,3	0,08
Motilidad masal (0-5)	1,4 ± 0,4 ^a	3,0 ± 0,5 ^b	2,7 ± 0,4 ^b	0,049
Vigor (0-5)	3,0 ± 0,3	3,5 ± 0,3	3,4 ± 0,3	NS
Motilidad total (%)	64,1 ± 5,6	67,0 ± 6,0	66,0 ± 5,6	NS
Motilidad progresiva (%)	59,7 ± 6,10	61,7 ± 6,5	61,0 ± 6,1	NS
Vitalidad (%)	71,8 ± 4,0	73,4 ± 4,2	79,3 ± 4,0	NS
HOST (%)	55,1 ± 8,1	50,2 ± 8,5	54,7 ± 8,1	NS
Daño acrosomal (%)	18,2 ± 5,0	16,3 ± 5,0	16,0 ± 5,0	NS
Morfología (%)	72,1 ± 5,8	66,7 ± 5,9	74,5 ± 5,9	NS

NS: sin diferencias significativas entre los procedimientos.

Diferentes letras indican diferencias significativas entre los procedimientos.

QUALITY OF SEMEN COLLECTED BY ELECTROEJACULATION IN NON-TREATED, ANESTHETIZED AND SEDATED GOAT BUCKS

ABSTRACT: In European Union, anesthesia should be used when semen is collected by electroejaculation because this provokes stress and pain. Drugs from anesthesia as α_2 -adrenergics may favor the contractions in accessory sex glands, epididymis and vas deferent improving the semen collection, and thus, sperm characteristics. However, those, in turn, may provoke erection dysfunction. Hence, the effects of anesthetic drugs on semen quality are controversial. Therefore, the aim of this study was to compare semen quality in non-treated, sedated and anesthetized Gabon bucks. Semen was collected in 8 bucks by electroejaculation with three treatments (control, sedation and anesthesia). Ejaculated volume, sperm concentration, sperm mass motility (scale 0-5), sperm vigor (scale 0-5), the percentages of motile and progressive motile sperm, of sperm vitality, of sperm with plasma membrane integrity, and with acrosome damage and morphological abnormalities were assessed. The sperm mass motility was greater in anesthetized and sedated than non-treated bucks ($p = 0.049$). There was a tendency in the concentration ($p = 0.08$). The rest of sperm parameters were not affected by treatments. In conclusion, sedation and anesthesia improves slightly the characteristics of semen collected by electroejaculation in goat bucks.

Keywords: ketamine, sperm collection, small ruminants, xylazine.