



La mejora de la fertilidad en las cabras de la raza Murciano-Granadina

EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y TECNOLOGÍA ANIMAL (CITA-IVIA), AL SERVICIO DE LAS GANADERÍAS DEL SECTOR CAPRINO EN LA COMUNITAT VALENCIANA

Nota



En España, la raza caprina más importante en censo es la Murciano-Granadina. Está gestionada por dos asociaciones:

- **CAPRIGRAN** (Asociación Nacional de Criadores de Caprino de Raza Murciano-Granadina).
- **ACRIMUR** (Asociación Española de Criadores de la Cabra Murciano-Granadina).

En la Comunitat Valenciana, contamos con AMURVAL (Asociación de Ganaderos de Caprino de Raza Murciano-Granadina de la C. V.), tradicionalmente integrada en ACRIMUR.

Imagen superior, los machos candidatos deben superar un conjunto de pruebas sanitarias y proceder de padres con suficiente calidad genética.

Empecemos por el final, disfrutando de unos trocitos de queso de cabra elaborados en alguna de las queserías artesanas de la Comunitat Valenciana y preguntémosnos no solo por su sabor, sino también por su origen y por los programas de cría de las razas caprinas lecheras, especialmente por la más numerosa, la raza Murciano-Granadina.

En la Comunitat Valenciana, según consta en el **Portal Agrari**, en 2022 se ordeñaron unas 34.000 cabras que proporcionaron cerca de diez millones de litros de leche. Son cifras que suponen el 3 y el 2 por ciento del total nacional, respectivamente, y que vienen a sugerir la necesidad de ampliar esta producción individual, inferior a la media estatal.

EL CENTRO DE SEMENTALES DEL IVIA

Pese a las bajas cifras absolutas, la Comunitat Valenciana es clave en el programa de mejora genética de esta raza, puesto que el IVIA de Segorbe (CITA-Centro de Investigación y Tecnología Animal) dispone del centro de sementales más importante de la sección ACRIMUR, reconocido oficialmente en 2014. Con una clara orientación investigadora y una notable imbricación en el sector, este centro proporciona dosis de semen para la inseminación de cabras en ganaderías de toda España.



La socialización es importante de cara a la extracción de semen con vagina artificial.

Se facilita así el testaje de los machos candidatos y la difusión de los machos mejorantes. El nivel genético y el estatus sanitario de este centro de sementales son muy altos. Los animales que entran en él deben proceder de explotaciones que cumplan exigentes estándares sanitarios, calificadas como de riesgo insignificante a tembladera caprina y oficialmente indemnes a brucelosis. Para que un semental pueda acceder al centro, debe ser negativo a un total de 11 enfermedades; entre ellas, artritis-encefalitis caprina, tuberculosis, brucelosis, agalaxia contagiosa y fiebre Q. Las analíticas se repiten periódicamente —cada 45 días muchas de ellas— para verificar su estado sanitario.

Desde 2016 se han solicitado 12.353 dosis al centro de inseminación por 81 ganaderías diferentes (**Tabla 1**). La mayor parte se corresponde con dosis de semen refrigeradas (87%) y el resto, con dosis congeladas.

Llama la atención el descenso en la solicitud de dosis que se constata desde 2021 y es muy pronunciado en 2022 y 2023. Lamentablemente, el incremento en el coste de los insumos, que no ha sido compensado con un incremento en el precio del litro de leche en origen, ha provocado el cierre de muchas explotaciones ganaderas. Por otra parte, las asociaciones de ganaderos tampoco pasan por buenos momentos, lo cual ha propiciado que se descuiden los programas de mejora.

TABLA 1. DOSIS PRODUCIDAS DESDE EL CENTRO DE SEMENTALES DEL CITA-IVIA DE SEGORBE PARA GANADERÍAS ESPAÑOLAS



AÑO	GANADERÍAS	TOTAL INSEMINACIONES	SEMEN REFRIGERADO	SEMEN CONGELADO
2016	30	2.007	1.637	370
2017	32	1.851	1.681	170
2018	36	2.079	1.856	223
2019	29	1.810	1.717	93
2020	31	1.935	1.642	293
2021	24	1.374	1.288	86
2022	11	597	516	81
2023*	14	700	390	310
		12.353	10.727	1.626

*Datos hasta 23 de noviembre de 2023.

DOSIS DE SEMEN REFRIGERADAS Y CONGELADAS

El semen es un producto delicado —frente al agua corriente, la luz, el calor, los cambios de temperatura y las variaciones de las condiciones osmóticas—. Todos los protocolos de conservación generan daños que implican una reducción de la fertilidad de las dosis con respecto al semen recién extraído o a la monta. Hay dos maneras de conservar y enviar estas dosis: refrigeradas (4-5 °C) o congeladas (-196 °C).

Para optimizar las dosis obtenidas por eyaculado es necesario incrementar su volumen mediante la incorporación de diluyentes con nutrientes y sustancias protectoras para los espermatozoides.



Imagen superior, cada pajuela de 0,25 ml es una dosis de inseminación identificada (códigos de centro de inseminación, macho, especie, raza y fecha de preparación).

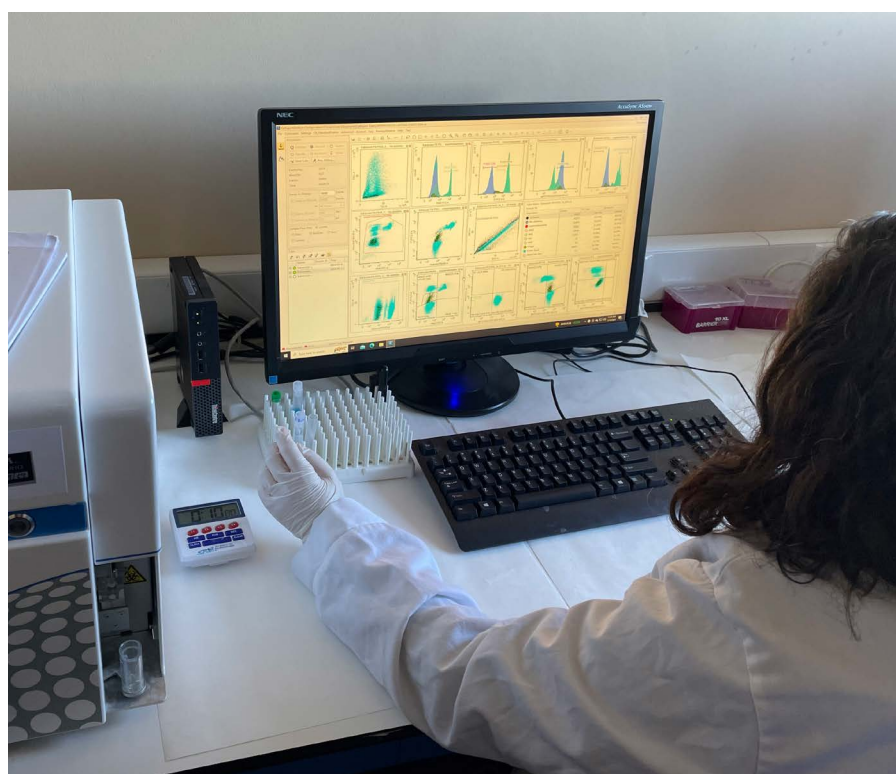
Imagen inferior: Evaluación de la motilidad y la calidad de movimiento de los espermatozoides mediante un programa informático para el análisis de imágenes.

Por otra parte, para incrementar el tiempo de conservación de los espermatozoides una vez obtenido el eyaculado, es preciso reducir su actividad metabólica, para lo cual lo más sencillo es conservar las dosis por debajo de la temperatura corporal, ya que, cuanto menor es esta, más se reduce el metabolismo espermático y se incrementa el tiempo de conservación. En el caso de las dosis refrigeradas, la temperatura ha de reducirse hasta los 4-5 °C. No obstante, puesto que uno de los enemigos de los espermatozoides son los cambios bruscos de temperatura, este descenso se realiza de forma progresiva (0,18 °C por minuto) y controlada en un proceso de una duración mínima de 90 minutos. Además, como se ha dicho, se usan diluyentes que contienen sustancias protectoras. Si la refrigeración se realiza en el laboratorio, el tiempo desde que llegan los operarios al trabajo hasta que se entregan las dosis refrigeradas al técnico o al ganadero en Segorbe es de entre cuatro y cinco horas. En este ciclo, se incluye también el tiempo que se tarda en extraer los eyaculados, que suele ser mayor en estación no reproductiva —entre febrero y junio— y en machos jóvenes en fase de entrenamiento. Una vez entregadas las dosis, deben transportarse en neveras a 4-5 °C hasta las ganaderías de destino, lo cual retrasa también el momento de la inseminación. Para evitar que se produzcan oscilaciones térmicas durante el transporte y la consiguiente pérdida de calidad de las dosis, el CITA-IVIA ha desarrollado un primer prototipo que asegura una temperatura constante. Además, un segundo prototipo permite reducir el tiempo total de preparación de las dosis, ya que la fase de refrigeración se realiza *in itinere*, durante el transporte, con una velocidad de enfriamiento de 0,09 °C por minuto. Con ello, la calidad del semen y los resultados de la inseminación no se ven afectados (Mocé et al., 2020).

Los ganaderos manifiestan preferencia por las dosis refrigeradas, ya que, en el caso del semen congelado-descongelado, la fertilidad suele disminuir debido a la mayor agresividad de los procedimientos de conservación. Sin embargo, las dosis congeladas tienen la ventaja de su mayor disponibilidad, incluso después de que el animal haya muerto. Además, son necesarias si se envían a grandes distancias y muy útiles para almacenarlas en bancos de germoplasma o para realizar apareamientos dirigidos con hembras de alto valor genético. Es conveniente realizar estudios para mejorar los resultados de fertilidad con este tipo de dosis. Hay varias vías para conseguirlo: modificar a los espermatozoides para que resistan mejor los procesos, optimizar los diluyentes y protocolos de congelación para que provoquen menos daños, o modificar el protocolo de inseminación.

Para evitar oscilaciones térmicas y la consiguiente pérdida de calidad de las dosis de semen durante el transporte, el CITA-IVIA ha desarrollado unos prototipos que permiten la refrigeración gradual a lo largo del trayecto.

Evaluación de la integridad y funcionalidad de estructuras espermáticas (membrana plasmática y acrosomal, y funcionalidad mitocondrial) mediante tinciones fluorescentes y citometría de flujo.



LÍNEAS DE ESTUDIO EN TORNO A LA CONGELACIÓN Y DESCONGELACIÓN DEL SEMEN

En el CITA-IVIA, se está trabajando en diferentes líneas de investigación con el objetivo de generar un mayor conocimiento sobre los cambios que se producen en el semen durante la preparación de las dosis congeladas y su descongelación:

1 Mejorar la resistencia de los espermatozoides al proceso de congelación

Para ello, estudiamos si la modificación de la membrana plasmática de los espermatozoides mediante el uso de colesterol incrementa el porcentaje de espermatozoides que sobreviven al proceso de congelación. Los resultados de análisis de calidad seminal en el laboratorio son esperanzadores (**Konyali et al., 2013**), aunque, para que se pueda trasladar este avance a escala comercial, aún es necesario estudiar si este tratamiento modifica la fertilidad de las dosis.

2 Mejorar los procedimientos para la evaluación de la calidad del semen

Que un espermatozoide sea o no fértil no solo depende de que sea móvil, sino de numerosas estructuras que deben permanecer intactas y funcionar bien. Cuanto mayor sea el número de estructuras examinadas en un espermatozoide, más fiable será el análisis y más segura la información sobre el porcentaje de espermatozoides con capacidad fecundante de la muestra. Para mejorar la capacidad predictiva de los análisis de laboratorio, parte de nuestras investigaciones se centran en la puesta a punto de métodos de evaluación de la calidad funcional espermática con el uso de citometría de flujo, la cual nos permite evaluar miles de espermatozoides de una muestra en un breve tiempo. De momento, hemos puesto a punto un protocolo para evaluar la integridad de las membranas plasmática y acrosomal y la funcionalidad mitocondrial utilizando cuatro tinciones fluorescentes para discriminar diferentes eventos o subpoblaciones de espermatozoides (**Mocé et al., 2022b**).

3 Estudios de la microbiota seminal

Estamos ya acostumbrados a oír hablar de la microbiota intestinal y la microbiota de la piel, especialmente en la publicidad de productos probióticos y cosméticos. Pues bien, también el semen o la vagina tienen sus poblaciones bacterianas —no quiere decir patógenas— y, en este terreno, se están llevando a cabo estudios sobre el equilibrio y los cambios en las relaciones entre estas poblaciones, sobre su presencia y desaparición, y sobre la relación que ello pueda tener con la calidad y la fertilidad seminales.

En el CITA-IVIA, se trabaja en diferentes líneas de investigación con el objetivo de conocer mejor los cambios que se producen en el semen durante la preparación de las dosis de semen congeladas y su descongelación.

En un estudio inicial de la microbiota en el semen caprino, el primero de este tipo en el mundo, se evaluaron los cambios que se producen al pasar de la estación reproductiva a la no reproductiva. Se observaron variaciones de abundancias relativas de algunos géneros bacterianos, proponiéndose los géneros *Sphingomonas* y *Faecalibacterium* como posibles biomarcadores de calidad de semen en machos cabríos (**Mocé et al., 2022b**). La siguiente cuestión era el posible efecto que pudiera tener el protocolo de preparación de las dosis refrigeradas y su conservación en el tiempo —hasta 24 horas— sobre esta microbiota. Se observaron grandes cambios de las relaciones entre comunidades bacterianas debidos al proceso de preparación de este tipo de dosis (**Mocé et al., 2023**). Y la tercera pregunta, para la que aún no tenemos respuesta, es si el proceso de congelación favorece que sobrevivan algunas bacterias y otras no y si los antibióticos que se añaden por recomendación de la Organización Mundial de Sanidad Animal tienen algún efecto sobre esta microbiota.

4 Metabólica

En el proceso de preparación de las dosis para su conservación, se producen roturas de las membranas y hay reacciones de oxidación de diferentes moléculas. Son necesarios los estudios del metaboloma del plasma seminal y de los espermatozoides para conocer los cambios metabólicos que se hayan podido producir. Las técnicas metabólicas analizan las sustancias (metabolitos) existentes en el plasma o en las células en un momento dado, que incluyen indicadores de la regulación génica, de la maquinaria de transcripción (estudios de los ácidos ribonucleicos, ARNs) y del perfil de proteínas implicadas en muchas rutas metabólicas diferentes. Estos estudios podrían servir para, por un lado, conocer las diferencias en las rutas metabólicas de generación de energía, que es la que permite el movimiento de los espermatozoides, y, por otro, detectar en los eyaculados algunos biomarcadores relacionados con una mejor tolerancia al proceso de congelación. Estos trabajos se encuentran todavía en proceso.

LA FERTILIDAD ES COSA DE DOS

La fertilidad en las cabras inseminadas es un parámetro crítico (Mocé et al., 2022a). Al margen de los trabajos con los que tratamos de optimizar los protocolos de congelación-descongelación, otra opción para mejorar la fertilidad cuando se usa semen congelado es modificar el protocolo de inseminación. Actualmente, se está evaluando añadir plasma seminal en el momento de la inseminación con semen descongelado. En caprino, es imperativo retirar el plasma seminal de las dosis sometidas a congelación para obtener dosis con un mínimo de calidad seminal. Esto es debido a la presencia en el plasma seminal de esta especie de algunas enzimas que degradan compuestos de los diluyentes habitualmente usados en el proceso de congelación (base leche desnatada o yema de huevo) y que, como resultado de esas reacciones enzimáticas, se generan sustancias que son tóxicas para los espermatozoides. Sin embargo, el plasma seminal es un fluido complejo que posee propiedades beneficiosas, ya que participa en la capacitación y estimulación de la motilidad seminal, y modula la respuesta del sistema inmune de la hembra preparando el sistema reproductivo para la fecundación, implantación y gestación. La idea es aunar estas dos realidades: quitar el plasma para poder congelar-descongelar con los diluyentes actuales y añadir dosis de plasma en el momento de aplicar la dosis de inseminación. De esta forma, y hasta que se consiga optimizar el protocolo de congelación, se podrían usar también las dosis almacenadas en los bancos de semen con garantías de obtención de altas fertilidades.

LOS RETOS DE LA INSEMINACIÓN

Nuestro principal objetivo sigue siendo la mejora de la fertilidad en las ganaderías caprinas cuando se utiliza la inseminación. Los resultados con semen refrigerado son buenos, pero debemos mejorarlos trabajando en los métodos de sincronización o detección de celos, momento de inseminación o condición corporal de las hembras. Además, hemos de seguir mejorando los resultados con semen congelado, comprendiendo mejor los daños que se producen en los espermatozoides en los procesos de congelación-descongelación para intentar minimizarlos con nuevos protocolos de congelación. Con la mejora de los resultados de fertilidad al usar la inseminación artificial, quizás se consiga que aumente el número de inseminaciones realizadas, hecho que redundará en beneficio de los programas de cría, que avanzarán a mayor velocidad, y en las ganaderías de caprino, que tendrán animales que producirán más y de manera más eficiente.



AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el IVIA y co-financiado por la Unión Europea a través del Programa Operativo FEDER de la Comunitat Valenciana 2021-2027 (IVIA 52201-K, Proyecto AGROALIMVAL), AMURVAL (número de contrato 71714), Universidad Cardenal Herrera-CEU, Universidades CEU (proyecto INDI22/38). También ha recibido financiación del programa AGROALNEXT (AGROALNEXT/2022/062 y AGROALNEXT/2022/063) y ha contado con el apoyo de MCIN con financiación de Next Generation EU (PR-TR-C17. 11) y de la Generalitat Valenciana.

>Autores del artículo:

E. Mocé^{1,5,6}, I.C. Esteve^{1,6}, A. Martínez-Talaván^{1,6}, J.C. Miranda-Alejo¹, J.V. Bernacer^{1,6}, C. Vicente^{3,4}, C. Peris^{3,5}, M.M. Martínez-Granell^{1,6}, M.L. Mocé^{2,6}, E.A. Gómez^{1,5,6}

¹ Centro de Investigación y Tecnología Animal (IVIA); ²Facultad de Veterinaria (Universidad CEU Cardenal Herrera);

³Instituto de Ciencia y Tecnología Animal (UPV); ⁴AMURVAL; ⁵Unidad Asociada IVIA-UPV; ⁶Unidad Asociada IVIA-UCHCEU. gomez_ern@gva.es