

RAMA DERIA



La millora de la fertilitat en les cabres de la raça Murciano-Granadina

EL CENTRE D'INVESTIGACIÓ I TECNOLOGIA ANIMAL (CITA-IVIA), AL SERVEI DE LES RAMADERIES DEL SECTOR CAPRÍ A LA COMUNITAT VALENCIANA

Nota



A Espanya, la raça caprina més important en cens és la Murciano-Granadina. És gestionada per dues associacions:

- **CAPRIGRAN** (Associació Nacional de Criadors de Caprí de Raça Murciano-Granadina).
- **ACRIMUR** (Associació Espanyola de Criadors de la Cabra Murciano-Granadina).

A la Comunitat Valenciana, comptem amb AMURVAL (Associació de Ramaders de Caprí de Raça Murciano-Granadina de la C. V.), tradicionalment integrada en ACRIMUR.

Imatge superior, els mascles candidats han de superar un conjunt de proves sanitàries i procedir de pares amb suficient qualitat genètica.

Comencem pel final, gaudint d'uns trossets de formatge de cabra elaborats en alguna de les formatgeries artesanes de la Comunitat Valenciana i preguntem-nos no sols pel seu sabor, sinó també per l'origen i pels programes de cria de les races caprines lleteres, especialment per la més nombrosa, la raça Murciano-Granadina.

A la Comunitat Valenciana, segons consta en el **Portal Agrari**, en 2022 es van munyir unes 34.000 cabres que van proporcionar prop de deu milions de litres de llet. Són xifres que suposen el 3 i el 2 per cent del total nacional, respectivament, i que venen a suggerir la necessitat d'ampliar aquesta producció individual, inferior a la mitjana estatal.

EL CENTRE DE SEMENTALS DE L'IVIA

Malgrat les baixes xifres absolutes, la Comunitat Valenciana és clau en el programa de millora genètica d'aquesta raça, ja que l'IVIA de Sogorb (CITA-Centre d'Investigació i Tecnologia Animal) disposa del centre de sementals més important de la secció ACRIMUR, reconegut oficialment en 2014. Amb una clara orientació investigadora i una notable imbricació en el sector, aquest centre proporciona dosis de semen per a la inseminació de cabres en ramaderies de tota Espanya.



La socialització és important de cara a l'extracció de semen amb vagina artificial.

Es facilita així el testatge dels mascles candidats i la difusió dels mascles millorants. El nivell genètic i l'estatus sanitari d'aquest centre de sementals són molt alts. Els animals que hi entren han de procedir d'explotacions que complisquen exigents estàndards sanitaris, qualificades com de risc insignificant a scrapie i oficialment indemnes a brucel·losi. Perquè un semental pugui accedir al centre, ha de ser negatiu a un total d'11 malalties; entre elles, artritis-encefalitis caprina, tuberculosi, brucel·losi, agalàxia contagiosa i febre Q. Les analítiques es repeteixen periòdicament —cada 45 dies moltes d'elles— per a verificar el seu estat sanitari.

Des de 2016 s'han sol·licitat 12.353 dosis al centre d'inseminació per 81 ramaderies diferents (**Taula 1**). La major part es correspon amb dosis de semen refrigerades (87%) i la resta, amb dosis congelades.

Crida l'atenció el descens en la sol·licitud de dosis que es constata des de 2021 i és molt pronunciat en 2022 i 2023. Lamentablement, l'increment en el cost dels inputs, el qual no ha sigut compensat amb un increment en el preu del litre de llet en origen, ha provocat el tancament de moltes explotacions ramaderes. D'altra banda, les associacions de ramaders tampoc passen per bons moments, la qual cosa ha propiciat que es descuiden els programes de millora.

TAULA 1. DOSIS PRODUÏDES DES DEL CENTRE DE SEMENTALS DEL CITA-IVIA DE SOGORB PER A RAMADERIES ESPANYOLES



| ANY | RAMADERIES | TOTAL INSEMINACIONS | SEMEN REFRIGERAT | SEMEN CONGELAT |
|-------|------------|---------------------|------------------|----------------|
| 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 |

*Dades fins al 23 de novembre de 2023.

DOSIS DE SEMEN REFRIGERADES I CONGELADES

El semen és un producte delicat —davant de l'aigua corrent, la llum, la calor, els canvis de temperatura i les variacions de les condicions osmòtiques—. Tots els protocols de conservació generen danys que impliquen una reducció de la fertilitat de les dosis respecte al semen acabat d'extraure o a la munta. Hi ha dues maneres de conservar i enviar aquestes dosis: refrigerades (4-5 °C) o congelades (-196 °C).

Per a optimitzar les dosis obtingudes per ejaculat cal incrementar-ne el volum mitjançant la incorporació de diluents amb nutrients i substàncies protectores per als espermatozoides.



Imatge superior, cada palleta de 0,25 ml és una dosi d'inseminació identificada (codis de centre d'inseminació, mascle, espècie, raça i data de preparació).

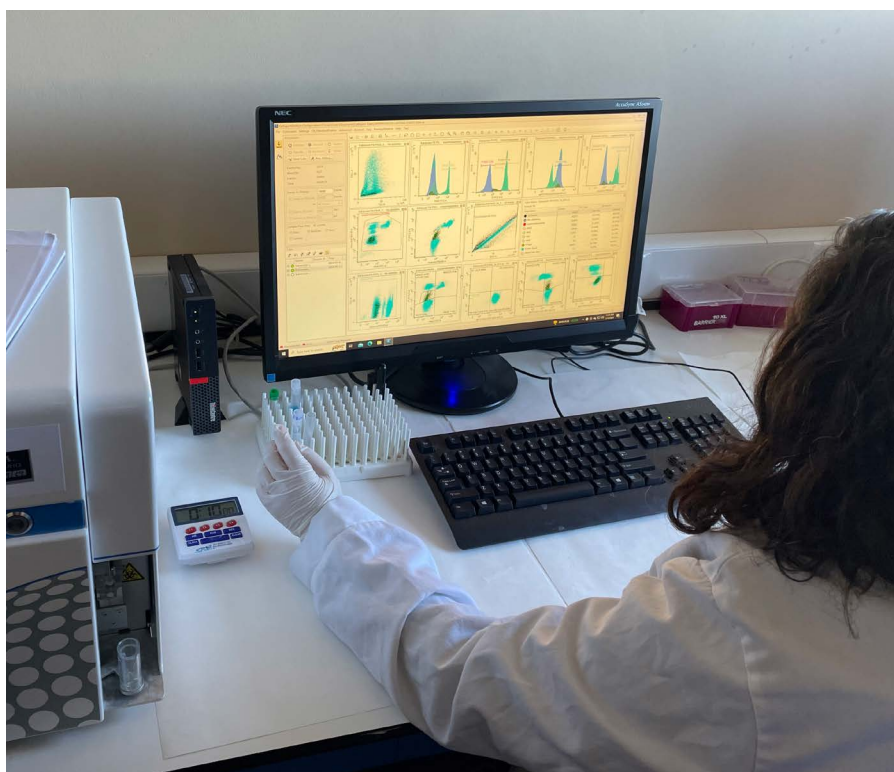
Imatge inferior, avaluació de la motilitat i la qualitat de moviment dels espermatozoides mitjançant un programa informàtic per a l'anàlisi d'imatges.

D'altra banda, per a incrementar el temps de conservació dels espermatozoides una vegada obtingut l'ejaculat, cal reduir-ne l'activitat metabòlica, per a la qual cosa el més senzill és conservar les dosis per davall de la temperatura corporal, ja que, quant menor és aquesta, més es redueix el metabolisme espermàtic i s'incrementa el temps de conservació. En el cas de les dosis refrigerades, la temperatura ha de reduir-se fins als 4-5°C. No obstant això, atès que entre els enemics dels espermatozoides hi ha els canvis bruscos de temperatura, aquest descens es realitza de manera progressiva (0,18 °C per minut) i controlada en un procés d'una duració mínima de 90 minuts. A més, com s'ha dit, s'usen diluents que contenen substàncies protectores. Si la refrigeració es realitza en el laboratori, el temps que passa des que arriben els operaris al treball fins que es lliuren les dosis refrigerades al tècnic o al ramader a Sogorb és d'entre quatre i cinc hores. En aquest cicle, s'inclou també el temps que es tarda a extraure els ejaculats, que sol ser major en estació no reproductiva —entre febrer i juny— i en mascles joves en fase d'entrenament. Una vegada lliurades les dosis, han de transportar-se en neveres a 4-5 °C fins a les ramaderies de destí, la qual cosa retarda també el moment de la inseminació. Per a evitar que es produïsquen oscil·lacions tèrmiques durant el transport i la consegüent pèrdua de qualitat de les dosis, el CITA-IVIA ha desenvolupat un primer prototip que assegura una temperatura constant. A més, un segon prototip permet reduir el temps total de preparació de les dosis, ja que la fase de refrigeració es realitza *in itinere*, durant el transport, amb una velocitat de refredament de 0,09 °C per minut. Amb això, la qualitat del semen i els resultats de la inseminació no es veuen afectats (Mocé et al., 2020).

Els ramaders manifesten preferència per les dosis refrigerades, atès que, en el cas del semen congelat-descongelat, la fertilitat sol disminuir a causa de la major agressivitat dels procediments de conservació. No obstant això, les dosis congelades tenen l'avantatge d'una major disponibilitat, fins i tot després que l'animal haja mort. A més, són necessàries si s'envien a grans distàncies i molt útils per a emmagatzemar-les en bancs de germoplasma o per a realitzar aparellaments dirigits amb femelles d'alt valor genètic. És convenient realitzar estudis per a millorar els resultats de fertilitat amb aquesta mena de dosis. Hi ha diverses vies per a aconseguir-ho: modificar els espermatozoides perquè resistisquen millor els processos, optimitzar els diluents i protocols de congelació perquè provoquen menys danys, o modificar el protocol d'inseminació.

Per a evitar oscil·lacions tèrmiques i la consegüent pèrdua de qualitat de les dosis de semen durant el transport, el CITA-IVIA ha desenvolupat uns prototips que permeten la refrigeració gradual al llarg del trajecte.

Avaluació de la integritat i funcionalitat d'estructures espermàtiques (membrana plasmàtica i acrosomal, i funcionalitat mitocondrial) mitjançant tincions fluorescents i citometria de flux.



LÍNIES D'ESTUDI AL VOLTANT DE LA CONGELACIÓ I DESCONGELACIÓ DEL SEMEN

En el CITA-IVIA, s'està treballant en diferents línies d'investigació amb l'objectiu de generar un major coneixement sobre els canvis que es produeixen en el semen durant la preparació de les dosis congelades i la seua descongelació:

1 Millorar la resistència dels espermatozoides al procés de congelació

Amb aquesta finalitat, estudiem si la modificació de la membrana plasmàtica dels espermatozoides mitjançant l'ús de colesterol incrementa el percentatge d'espermatozoides que sobreviuen al procés de congelació. Els resultats d'anàlisi de qualitat seminal en el laboratori són esperançadors (**Konyali et al., 2013**), encara que, perquè es pugui traslladar aquest avanç a escala comercial, encara cal estudiar i verificar si aquest tractament modifica la fertilitat de les dosis.

2 Millorar els procediments per a l'avaluació de la qualitat del semen

Que un espermatozoide siga o no fèrtil no sols depèn del fet que siga mòbil, sinó de nombroses estructures que han de romandre intactes i funcionar bé. Com més gran siga el nombre d'estructures examinades en un espermatozoide, més fiable serà l'anàlisi i més segura la informació sobre el percentatge d'espermatozoides amb capacitat fecundant de la mostra. Per a millorar la capacitat predictiva de les anàlisis de laboratori, part de les nostres investigacions se centren en la posada a punt de mètodes d'avaluació de la qualitat funcional espermàtica amb l'ús de citometria de flux, la qual ens permet avaluar milers d'espermatozoides d'una mostra en un breu termini de temps. De moment, hem posat a punt un protocol per a avaluar la integritat de les membranes plasmàtica i acrosomal i la funcionalitat mitocondrial utilitzant quatre tincions fluorescents per a discriminar diferents esdeveniments o subpoblacions d'espermatozoides (**Mocé et al., 2022b**).

3 Estudis de la microbiota seminal

Estem ja acostumats a sentir parlar de la microbiota intestinal i la microbiota de la pell, especialment en la publicitat de productes probiòtics i cosmètics. Doncs bé, també el semen o la vagina tenen les seues poblacions bacterianes —no vol dir patògenes— i, en aquest terreny, s'estan duent a terme estudis sobre l'equilibri i els canvis en les relacions entre aquestes poblacions, sobre la seua presència i desaparició, i sobre la relació que això pugui tindre amb la qualitat i la fertilitat seminals.

En el CITA-IVIA, es treballa en diferents línies d'investigació amb l'objectiu de conèixer millor els canvis que es produeixen en el semen durant la preparació de les dosis de semen congelades i la seua descongelació

En un estudi inicial de la microbiota en el semen caprí, el primer d'aquest tipus al món, es van avaluar els canvis que es produeixen en passar de l'estació reproductiva a la no reproductiva. Es van observar variacions d'abundàncies relatives d'alguns gèneres bacterians, proposant-se els gèneres *Sphingomonas* i *Faecalibacterium* com a possibles biomarcadors de qualitat de semen en bocs (**Mocé et al., 2022b**). La següent qüestió era el possible efecte que poguera tindre el protocol de preparació de les dosis refrigerades i la seua conservació en el temps —fins a 24 hores— sobre aquesta microbiota. Es van observar grans canvis de les relacions entre comunitats bacterianes deguts al procés de preparació d'aquesta mena de dosis (**Mocé et al., 2023**). I la tercera pregunta, per a la qual encara no tenim resposta, és si el procés de congelació afavoreix que sobrevisquen alguns bacteris i altres no i si els antibiòtics que s'afigen per recomanació de l'Organització Mundial de Sanitat Animal tenen algun efecte sobre aquesta microbiota.

4 Metabolòmica

En el procés de preparació de les dosis per a la conservació, es produeixen trencaments de les membranes i hi ha reaccions d'oxidació de diferents molècules. Són necessaris els estudis del metaboloma del plasma seminal i dels espermatozoides per a conèixer els canvis metabòlics que s'hagen pogut produir. Les tècniques metabolòmiques analitzen les substàncies (metabòlits) existents en el plasma o en les cèl·lules en el moment donat, que inclouen indicadors de la regulació gènica, de la maquinària de transcripció (estudis dels àcids ribonucleics, ARN) i del perfil de proteïnes implicades en moltes rutes metabòliques diferents. Aquests estudis podrien servir per a, d'una banda, conèixer les diferències en les rutes metabòliques de generació d'energia, que és la que permet el moviment dels espermatozoides, i, de l'altra, detectar en els ejaculats alguns biomarcadors relacionats amb una millor tolerància al procés de congelació. Aquests treballs es troben encara en procés.

LA FERTILITAT ÉS COSA DE DOS

La fertilitat en les cabres inseminades és un paràmetre crític (Mocé et al., 2022a). Al marge dels treballs amb els quals tractem d'optimitzar els protocols de congelació-descongelació, una altra opció per a millorar la fertilitat quan s'usa semen congelat és modificar el protocol d'inseminació. Actualment, s'està avaluant afegir plasma seminal en el moment de la inseminació amb semen descongelat. En caprí, és imperatiu retirar el plasma seminal de les dosis sotmeses a congelació per a obtenir dosis amb un mínim de qualitat seminal. Això és degut a la presència en el plasma seminal d'aquesta espècie d'alguns enzims que degraden compostos dels diluents habitualment usats en el procés de congelació (base llet desnatada o rovell d'ou) i que, com a resultat d'aquestes reaccions enzimàtiques, es generen substàncies que són tòxiques per als espermatozoides. No obstant això, el plasma seminal és un fluid complex que posseeix propietats beneficioses, ja que participa en la capacitat i estimulació de la motilitat seminal, i modula la resposta del sistema immune de la femella preparant el sistema reproductiu per a la fecundació, implantació i gestació. La idea és conciliar aquestes dues realitats: llevar el plasma per a poder congelar-descongelar amb els diluents actuals i afegir dosis de plasma en el moment d'aplicar la dosi d'inseminació. D'aquesta manera, i fins que s'aconsegueixca optimitzar el protocol de congelació, es podrien usar també les dosis emmagatzemades en els bancs de semen amb garanties d'obtenció d'altas fertilitats.

ELS REPTES DE LA INSEMINACIÓ

El nostre principal objectiu continua sent la millora de la fertilitat en les ramaderies caprines quan s'utilitza la inseminació. Els resultats amb semen refrigerat són bons, però hem de millorar-los treballant en els mètodes de sincronització o detecció de zel, moment d'inseminació o condició corporal de les femelles. A més, hem de continuar millorant els resultats amb semen congelat, comprenent millor els danys que es produeixen en els espermatozoides durant els processos de congelació-descongelació per a intentar minimitzar-los amb nous protocols de congelació. Amb la millora dels resultats de fertilitat mitjançant la inseminació artificial, potser s'aconseguirà que augmente el nombre d'inseminacions realitzades, fet que redundarà en benefici dels programes de cria, que avançaran a una major velocitat, i les ramaderies de caprí, que tindran animals que produiran més i de manera més eficient.



AGRAÏMENTS

Aquest treball va estar finançat per l'IVIA i cofinançat per la Unió Europea mitjançant el Programa Operatiu FEDER de la Comunitat Valenciana 2021-2027 (IVIA 52201-K, Projecte AGROALIMVAL), AMURVAL (número de contracte 71714), Universitat Cardenal Herrera-CEU, Universitats CEU (projecte INDI22/38). També ha rebut finançament del programa AGROALNEXT (AGROALNEXT/2022/062 i AGROALNEXT/2022/063) i ha comptat amb el suport de MCIN amb finançament de Next Generation EU (PR-TR-C17. 11) i de la Generalitat Valenciana.

>Autors de l'article:

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 Centre d'Investigació i Tecnologia Animal (IVIA); ²Facultat de Veterinària (Universitat CEU Cardenal Herrera); ³Institut de Ciència i Tecnologia Animal (UPV); ⁴AMURVAL; ⁵Unitat Associada IVIA-UPV; ⁶Unitat Associada IVIA-UCHCEU. gomez_ern@gva.es