

Calidad seminal e incidencia de tricomonosis y campilobacteriosis en sementales de vacuno de carne de Castilla y León

Mónica Montañés, Juan José García-García*, Alberto Benito y Raúl Bodas

Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Subdirección de Investigación y Tecnología. Línea de Investigación en Rumiantes, Área de Investigación Ganadera. Estación Tecnológica de la Carne. Avda. Filiberto Villalobos, s/n. 37770, Guijuelo, Salamanca, España

Resumen

La aptitud reproductora de los sementales afecta de manera directa a la fertilidad de los rebaños de vacuno de carne, estando aquella condicionada, entre otros factores, por la incidencia de enfermedades reproductivas. Mediante la realización de espermiogramas y análisis de esmegmas prepuciales a 216 muestras de esperma de sementales de carne de Castilla y León se estudió la aptitud reproductora, la incidencia de *Trichomonas foetus* y *Campylobacter* spp. y su potencial influencia sobre la calidad del semen bovino. Se observó una elevada incidencia de campilobacteriosis (35 % de las muestras) y relativamente baja de tricomonosis (5 %), sin que se observara un claro efecto sobre la calidad seminal, la cual fue muy baja y disminuyó drásticamente con el tiempo transcurrido desde la obtención de las muestras hasta su análisis. Todo ello afecta negativamente al rendimiento reproductivo de este tipo de ganadería.

Palabras clave: Espermiograma, fertilidad, rendimiento reproductivo, semen, nodriza.

Breeding soundness and incidence of Trichomoniasis and Campylobacteriosis in beef cattle bulls from Castilla y León

Abstract

Bull breeding soundness (BBS) affects directly the fertility of beef cattle herds. BBS is also affected among other factors, by the incidence of reproductive diseases. Spermiograms and the incidence of *Trichomonas foetus* and *Campylobacter* spp. in the preputial smegma were assessed on 216 samples from bulls from beef herds of Castille and Leon. A high incidence of campylobacteriosis (35 % of the samples) and a relatively low incidence of trichomoniasis (5 %) were observed, without a clear effect on BBS. Seminal quality was very low and decreased dramatically with the time elapsed since sample obtention to analysis. All these factors adversely affect the herd reproductive performance.

Keywords: Spermiogram, fertility, bull, reproductive performance, semen, suckler cow.

^{*} Autor para correspondencia: gargarjj@itacyl.es

Introducción

Los últimos datos oficiales sitúan la tasa de fertilidad media en vacuno de carne en el 70,5 % en España y el 74,6 % en Castilla y León (MAPA, 2018), comunidad autónoma en la que se concentra el 27 % del censo de vacas de carne de España. Una de las bases para maximizar la eficiencia reproductiva de los rebaños de vacuno de carne es garantizar la ausencia de enfermedades reproductivas. Entre estas cabe destacar las producidas por Trichomonas foetus y Campylobacter foetus subsp. veneralis (Barth, 2018), cuya patogenia y efectos negativos sobre la productividad de los rebaños son conocidos; no obstante, es habitual que la infección curse sin signos clínicos en los machos y sin afectar a la calidad seminal (Mendoza et al., 2012; Azpilicueta, 2014; Michi et al., 2016; Ortega-Mora et al., 2021). Por otra parte, uno de los principales problemas que se encuentran los técnicos de laboratorio es la gran variabilidad en el tiempo que transcurre desde que se obtiene la muestra hasta que llega al laboratorio y su calidad seminal es finalmente analizada.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la incidencia de *Trichomonas foetus* y *Campylobacter foetus* subsp. *veneralis* en sementales de ganaderías de vacuno de carne de Castilla y León, así como la evolución de la calidad seminal en el tiempo.

Material y métodos

Obtención y análisis del semen

Entre junio de 2019 y junio de 2020 se tomaron 216 muestras de esperma de otros tantos sementales de aptitud cárnica en régimen extensivo de diferentes razas (54 % limusín, 30 % charolés, 5 % rubio de Aquitania, 5 % avileño, 2 % pardo de montaña, 2 % morucho y 2 % conjunto mestizo), con al

menos 4 semanas de reposo sexual, procedentes de 35 ganaderías diferentes, distribuidas por las provincias de Salamanca, Ávila y Segovia. Las muestras fueron extraídas mediante electroeyaculación (Palmer et al., 2005) por personal entrenado y experimentado, usando un electroeyaculador controlado manualmente (Pulsator IV; Lane Manufacturing, Denver, CO, USA) con una sonda rectal de 75 mm de diámetro provista de 3 electrodos orientados ventralmente. Las muestras se trasladaron al laboratorio refrigeradas (5 °C) y diluidas (Bioxcell, IMV Technologies, l'Aigle, Francia; factor de dilución 1:2), donde se atemperaron gradualmente (2 °C/min) hasta los 37 °C antes de ser sometidas a análisis computacional utilizando el sistema C.A.S.A. (Computer Assisted Sperm Analyzer, ISAS v1.2). Se observaron 10 µL de la muestra (portaobjetos, 26×76 mm; cubreobjetos, 20×20 mm) a través del objetivo 40× en un microscopio UB 200i provisto de placa calefactora ISAS 782 M (PROiSER, Valencia, España). Se determinó la concentración espermática y los porcentajes de espermatozoides móviles progresivos, móviles no progresivos y estáticos (Lorton, 2014). En función del momento de llegada al laboratorio, las muestras fueron analizadas a las 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 120 h y 144 h tras su obtención.

Obtención y análisis del esmegma prepucial

Se tomaron muestras de esmegma prepucial de los mismos toros introduciendo raspadores plásticos en la cavidad prepucial y realizando 20-30 movimientos en sentido anteroposterior (Mendoza-Ibarra et al., 2012). El material recogido se conservó (5 ml de tampón fosfato salino, PBS, pH 7) y envió a temperatura ambiente al laboratorio (Zootecnia, Análisis Cínicos Veterinarios, Salamanca) para su análisis mediante PCR cuantitativo en tiempo real, empleando kits comerciales para T. foetus y C. foetus veneralis (Genetic PCR Solutions, España). En función de la cantidad

de material genético presente en las muestras (estimado en función del número de ciclos de PCR, de un total de 45, necesarios para que la muestra sea positiva), estas se clasificaron en grados de infección bajo (>35 ciclos), medio (28-34 ciclos) o alto (<28 ciclos).

Análisis estadístico

Los datos de motilidad (espermatozoides progresivos móviles) frente al tiempo desde la obtención de las muestras se ajustaron a un modelo lineal logarítmico.

Los resultados de campilobacteriosis y tricomonosis (postivo/negativo) se agruparon en función de las horas transcurridas desde la obtención del semen hasta su análisis (6 h. 18 h y 24 h), descartándose las 31 muestras que llegaron al laboratorio más de 24 h después de su obtención. Se realizaron pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad de las varianzas (Levene) antes de llevar a cabo un ANOVA del efecto de la campilobacteriosis sobre la motilidad espermática para cada grupo de horas y de la campilobacteriosis y tricomonosis sobre el volumen de esperma recogido y la concentración espermática. Para todos los análisis se utilizó el programa estadístico R (R Core Team, 2019).

Resultados y discusión

Se observó una incidencia de campilobacteriosis del 35 % de los animales muestreados, que contrasta con la ausencia de positivos encontrada por Mendoza-Ibarra et al. (2012) en el norte de España. De los sementales positivos observados en el presente estudio, el 97 % presentaba un alto grado de infección, frente un 3 % que presentaba un grado bajo.

Campylobacter tiene un claro efecto negativo sobre el rendimiento reproductivo, ya que provoca muerte embrionaria y abortos en las vacas, dando lugar a repetición de celos (Mendoza-Ibarra et al., 2012). Sin embargo, su efecto sobre la fertilidad de los machos no es tan evidente, ya que, aunque se han descrito episodios pasajeros de infertilidad, lo más frecuente es que los toros sean portadores asintomáticos (Silveira et al., 2018). En línea con estos autores, en el presente estudio, el análisis del efecto de la positividad a Campylobacter sobre la motilidad de los espermatozoides no puso de manifiesto diferencias en el recuento de espermatozoides móviles progresivos (Tabla 1, Figura 1).

Por lo que respecta a la incidencia de tricomonosis, esta fue del 5 % de los animales muestreados, prevalencia inferior a la encontrada

Tabla 1. Valor medio de porcentaje de espermatozoides móviles progresivos (entre paréntesis número de muestras) observados en el análisis de 185 muestras analizadas a las 6 h, 18 h y 24 h post extracción en función de la positividad a *Campylobacter* spp.

Table 1. Average percentage of progressive motile spermatozoa (number of samples in parentheses) observed in the analysis of 185 samples at 6 h, 18 h and 24 h post-extraction based on positivity to Campylobacter spp.

| | Campylobacter spp. | | RCME | Valor P |
|-------|--------------------|-----------|--------|---------|
| | Negativo | Positivo | KCIVIL | valor F |
| 6 h | 39,8 (74) | 34,8 (14) | 19,17 | 0,376 |
| 18 h | 33,0 (13) | 33,0 (11) | 12,75 | 0,989 |
| 24 h | 29,5 (36) | 33,1 (37) | 15,16 | 0,313 |
| Total | 36,0 (123) | 33,5 (62) | 17,21 | 0,334 |

RCME = Raíz del cuadrado medio del error.

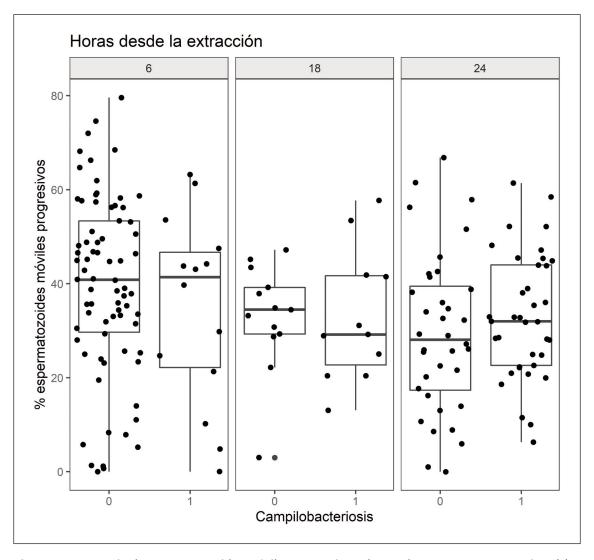


Figura 1. Porcentaje de espermatozoides móviles progresivos observados en muestras negativas (0) y positivas (1) a campilobacteriosis analizadas a las 6 h, 18 h y 24 h tras la extracción.

Figure 1. Percentage of progressive motile spermatozoa observed in campylobacteriosis negative (0) and positive (1) samples analysed at 6 h, 18 h and 24 h post-extraction.

por Rojo-Montejo et al. (2014) en sementales de la raza asturiana de la montaña y Mendoza-Ibarra et al. (2012) en el norte de España. De entre los animales positivos a tricomonosis, un 83 % presentaban un alto grado de infección y solo el 17 % un grado medio.

El bajo grado de incidencia no permite extraer resultados concluyentes sobre su efecto sobre la motilidad espermática (Figura 2).

Los valores de concentración espermática y volumen de esperma recogido fueron muy variables. Así, no se observaron diferencias

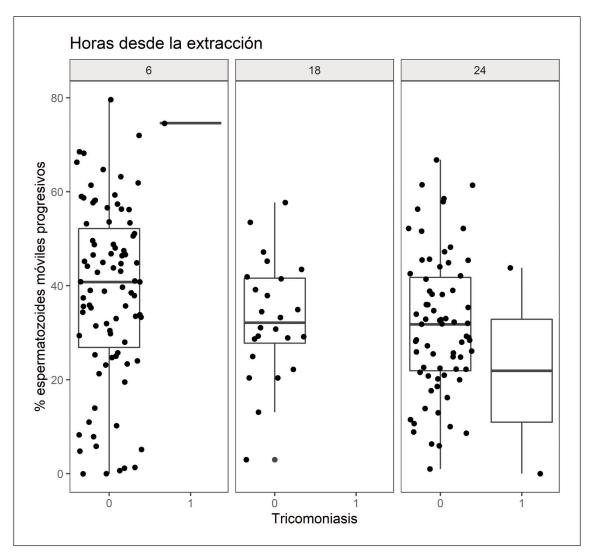


Figura 2. Porcentaje de espermatozoides móviles progresivos observados en muestras negativas (0) y positivas (1) a tricomonosis analizadas a las 6 h, 18 h y 24 h tras la extracción. Figure 2. Percentage of progressive motile spermatozoa observed in trichomonosis negative (0) and posi-

significativas en la concentración espermática debidas a la presencia de tricomonosis (637 y 244×10^6 espermatozoides/ml para animales negativos y positivos, respectivamente; P = 0,475; RCME = 943,2) o campilobacteriosis (580 y 733×10^6 espermatozoides/ml para animales negativos y positivos, respectiva-

tive (1) samples analysed at 6 h, 18 h and 24 h post-extraction.

mente; P = 0.290; RCME = 941,7). Por su parte, el volumen de esperma no varió en respuesta a la tricomonosis (6,9 ml y 11,0 ml para animales negativos y positivos, respectivamente; P = 0.173; RCME = 5,10) y mostró una tendencia a disminuir en los animales positivos a campilobacteriosis (7,5 ml y 6,0 ml

para animales negativos y positivos, respectivamente; P = 0.054; RCME = 5.07). No obstante, el recuento total de espermatozoides no resultó afectado de manera significativa en ningún caso (3716 y 3767 × 10^6 espermatozoides para animales negativos y positivos a campilobacteriosis, respectivamente; P = 0.949; RCME = 5103.6; 3758 y 2160×10^6 espermatozoides para negativos y positivos a tricomonosis, respectivamente; P = 0.588; RCME = 5099.7).

En el presente estudio se ha observado que no es infrecuente que las muestras de semen

recogidas en campo para evaluar la calidad seminal lleguen al laboratorio tras un periodo de tiempo muy variable después de obtenidas, en ocasiones más de 24 h (un 14 % de las muestras). En este sentido, resulta revelador el análisis de la evolución de la motilidad seminal frente al tiempo, sin que se hayan observado diferencias entre los animales positivos y negativos. Así, la motilidad disminuye de manera drástica en las primeras 24 h tras la extracción (Figura 3). Posteriormente sigue descendiendo de manera más moderada. Estos datos se ajustan a una

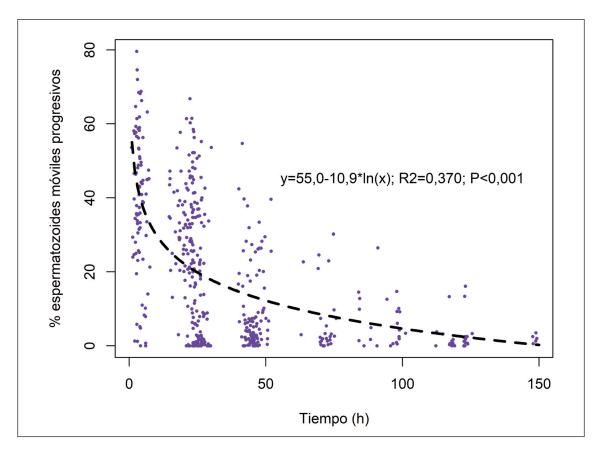


Figura 3. Representación del porcentaje de espermatozoides móviles progresivos frente al tiempo (h) transcurrido desde la obtención de las muestras.

Figure 3. Representation of the percentage of progressive motile spermatozoa versus the time (h) elapsed since obtaining the samples.

ecuación logarítmica que explica cómo disminuve la motilidad en función del tiempo: mo $tilidad = 55,0 - 10,9 \times ln (tiempo), [r^2 = 0,370;$ P < 0,001), donde motilidad es el porcentaje de móviles progresivos y tiempo son las horas transcurridas desde la extracción. El valor de 55.0 se aproxima a la motilidad inicial media para todas las muestras, aceptable [el porcentaje mínimo de motilidad para considerar a un toro apto se sitúa en el 30 % (Chenoweth y McPherson, 2016)], susceptible de mejorar y que muestra el margen de mejora para llegar a valores óptimos y lograr ganaderías más competitivas. Evidentemente, este valor depende en gran medida de factores como la edad, la actividad reproductiva previa, el proceso de obtención de la muestra y su potencial contaminación, así como las condiciones de conservación y análisis.

Los animales considerados como reproductores no aptos suponen un gasto en alimentación, cuidados y tratamientos, pero resultan completamente improductivos dentro de la granja. Asimismo, los animales positivos a campilobacteriosis o tricomonosis actúan como reservorios dentro del rebaño, contribuyendo a que la enfermedad y sus efectos negativos (síntomas, riesgo sanitario, pérdidas de producción) persistan en la explotación.

La tasa de incidencia de campilobacteriosis observada en el presente estudio (35 %) hace pensar que la prevalencia de esta infección en los rebaños puede ser todavía más alta, lo que puede suponer un grave problema sanitario a tener en cuenta.

La drástica disminución de la calidad seminal con el paso del tiempo pone de manifiesto la necesidad de examinar la motilidad espermática en los momentos inmediatamente posteriores a la obtención de las muestras. Por otra parte, los valores de motilidad observados apuntan a la existencia de un gran número de toros no aptos para la reproducción en las ganaderías muestreadas. Finalmen-

te, se evidencia la necesidad de realizar evaluaciones sistemáticas de la aptitud de los sementales, además de implementar programas sanitarios en las ganaderías para reducir la dispersión de estas enfermedades.

Conclusiones

Se han observado tasas de incidencia de campilobacteriosis y tricomonosis del 35 % y 5 %, respectivamente, en sementales de vacuno de carne de Castilla y León, sin que tengan una relación con la motilidad progresiva.

Agradecimientos

Al proyecto REPROVAC ("Incremento de la fertilidad de las explotaciones de ganado vacuno de carne de Castilla y León"), financiado con el Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural (Europa invierte en las zonas rurales).

A las entidades participantes [ITACyL, ASO-PROVAC, AVIGASE, COBADU, COPASA, DE HEUS, GEPISA, MSD-MERCK, NANTA, NUTRI-GANSE, IGM (CSIC-ULE)], y a las ganaderías que ha colaborado en el proyecto REPROVAC.

Referencias bibliográficas

Azpilicueta N (2014). Metodología para el diagnóstico de la tricomoniasis bovina y estudio de la prevalencia en la zona de Urbasa y Andía. Trabajo Fin de Carrera. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Pública de Navarra.

Barth AD (2018). Review: The use of bull breeding soundness evaluation to identify subfertile and infertile bulls. Animal 12(s1): s158-s164. https://doi.org/10.1017/S1751731118000538.

- Chenoweth PJ, McPherson FJ (2016). Bull breeding soundness, semen evaluation and cattle productivity. Animal Reproduction Science 169: 32-36. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.03.001.
- Lorton SP (2014). Evaluation of semen in the andrology laboratory. En: Animal Andrology; Theory and Applications (Ed. Chenoweth PJ, Lorton SP), pp. 100-135. CABI International.
- MAPA (2018). Estudio del sector español de vacas nodrizas. Marzo 2018. Subdirección General de Productos Ganaderos, Dirección General de Producciones y Mercados Agrarios. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/estudionodriza2018nipo_tcm30-109530.pdf (Consultado: 22 marzo 2021).
- Mendoza-Ibarra JA, Pedraza-Díaz S, García-Peña FJ, Rojo-Montejo S, Ruiz-Santa-Quiteria, JA, San Miguel-Ibáñez E, Navarro-Lozano V, Ortega-Mora LM, Osoro K, Collantes-Fernandez E (2012). High prevalence of *Tritrichomonas foetus* infection in Asturiana de la Montaña beef cattle kept in extensive conditions in Northern Spain. The Veterinary Journal 193(1): 146-151. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.09.020.
- Michi AN, Favetto PH, Kastelic J, Cobo, ER (2016). A review of sexually transmitted bovine trichomoniasis and campylobacteriosis affecting cattle reproductive health. Theriogenology 85:

- 781-791. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.10.037.
- Ortega-Mora LM, Álvarez-García G, Sánchez-Sánchez R, Collantes-Fernández E (2021). La guía VART: propuesta para estandarizar la valoración de la aptitud reproductiva de toros en España. Parte 1. Valoración sanitaria. Producción Animal 324: 39-73.
- Palmer CW, Brito LFC, Arteaga AA, Söderquist L, Persson Y, Barth AD (2005). Comparison of electroejaculation and transrectal massage for semen collection in range and yearling feedlot beef bulls. Animal Reproduction Science 87(1-2): 25-31. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci. 2004.09.004.
- R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rojo-Montejo S, Sánchez-Sánchez R, Ortega-Mora LM, Osoro-Otaduy K, Collantes-Fernández E (2014). Prevalencia de la tricomonosis bovina en las razas Asturiana de la Montaña y Asturiana de los Valles. Tecnología Alimentaria 13: 45-48.
- Silveira CS, Fraga M, Giannitti F, Macías-Rioseco M, Riet-Correa F (2018). Diagnosis of bovine genital campylobacteriosis in South America. Frontiers in Veterinary Science 5: 321. https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00321.

(Aceptado para publicación el 9 de febrero de 2022)