

## **INFLUENCIA DE *MYCOPLASMA AGALACTIAE* Y *MYCOPLASMA MYCOIDES* SUBSP. *CAPRI* EN LA VIABILIDAD Y MOTILIDAD ESPERMÁTICA EN DOSIS SEMINALES DE MACHO CABRÍO**

Gómez-Martín, A<sup>1</sup>., Uc, N<sup>1</sup>., Gadea, J.<sup>2</sup>, De Ondiz, A.<sup>2</sup>, Vieira, LA.<sup>2</sup>, Amores, J.<sup>1</sup>, Rabal, F<sup>3</sup>. y De la Fe, C<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Grupo de Investigación Sanidad de Rumiantes. Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. 30100 Murcia. España. E-mail: [cdelafe@um.es](mailto:cdelafe@um.es)

<sup>2</sup>Departamento de Fisiología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. 30100 Murcia. España.

<sup>3</sup>ACRIMUR, Centro de Selección y Mejora Genética de la Raza Murciano-Granadina. Lorca. Murcia. España.

### **INTRODUCCIÓN**

*Mycoplasma (M) agalactiae* y *M. mycoides* subsp. *capri* (Mmc) son las principales especies de micoplasma asociadas al síndrome de agalaxia contagiosa (AC) (De la Fe et al., 2010). Pese a la falta de datos existentes en referencia al papel epidemiológico desempeñado por los sementales caprinos, en los últimos años se ha podido constatar la presencia de portadores auriculares asintomáticos serológicamente negativos en los que además se ha podido describir en algunos casos la presencia de forma natural de Mmc en el aparato genitourinario masculino (Mmc) o la excreción de *M. agalactiae* en muestras de semen (Gómez-Martín et al 2008; De la Fe et al., 2009).

La capacidad de algunas especies de micoplasmas para ser vehiculados a través del semen es un hecho previamente descrito en otras especies como el bovino o el equino e incluso se ha determinado igualmente su presencia en la especie humana. En estos trabajos, se ha estudiado el efecto que ejercen los micoplasmas sobre diversos parámetros espermáticos tales como la viabilidad, la morfología o la motilidad espermática (Reichart et al., 2001; Sylla et al., 2005; Spergser et al., 2002). Sin embargo, no se han realizado estudios similares en la especie caprina.

Ante la importancia que desempeñan los sementales caprinos en los esquemas de mejora genética de muchas razas selectas mediante el empleo de la inseminación artificial con semen fresco, es necesario estudiar el efecto sobre la calidad espermática de las especies de micoplasma que afectan al ganado caprino previamente mencionadas (*M. agalactiae* y Mmc). El objetivo del presente estudio fue evaluar la influencia de la presencia de *M. agalactiae* y Mmc sobre la viabilidad y motilidad espermática en dosis seminales de machos caprinos tras la inoculación experimental.

### **MATERIAL Y METODOS**

Para este estudio se han utilizado un total de 12 eyaculados recuperados de 10 sementales de raza Murciano-Granadina. Cada uno de los eyaculados fueron obtenidos mediante la utilización de vagina artificial y fueron diluidos en un medio preparado a base de leche desnatada hasta alcanzar la concentración final de 200 millones de espermatozoides/mL, fueron enfriados de forma progresiva y se mantuvieron a 4 °C hasta 10 minutos antes de su inoculación experimental, momento en el cual se colocaron a temperatura ambiente. En ese momento, se preparó un pool con muestras seminales de varios animales y tras homogeneizar, se procedió a distribuir en eppendorf estériles 3 alícuotas de 1,5 ml. Una alícuota fue inoculada con 10<sup>7</sup> UFC/ml (40µl) de *M. agalactiae* (cepa PG2), otra alícuota con 10<sup>7</sup> UFC/ml (40µl) de Mmc (cepa Y-goat) y a la tercera alícuota se añadió 40 µl de medio de cultivo de micoplasmas (Kirchhoff y Rosengarten, 1984), sirviendo de control.

Las muestras fueron incubadas a 37 °C, temperatura ideal para el crecimiento de estos microorganismos utilizando un bloque calefactor (Eppendorf). Tras 30 minutos de incubación, se procedió a evaluar la viabilidad espermática mediante tinción de eosina-negrosina y los parámetros de motilidad mediante un sistema CASA (ISAS, Proiser, Valencia, España) en los siguientes tiempos: 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 y 150 minutos. Durante el experimento, también se procedió a medir el pH de cada una de las condiciones estudiadas en dichos tiempos. Todo este proceso fue realizado por triplicado. Se aplicó un análisis de varianza de una vía, siendo el tratamiento el factor principal.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La viabilidad espermática decreció significativamente a lo largo del estudio (Figura 1,  $P < 0,05$ ) y de la misma forma para los tres tratamientos analizados (control, cepa PG2 y cepa Y-goat). La presencia de micoplasmas produjo una reducción moderada pero significativa de la viabilidad ( $P=0,03$ ) comparada con la del grupo control, sin diferencias significativas entre ambos tipos de micoplasmas. Del mismo modo, la presencia de micoplasmas produjo una reducción de las motilidades totales y progresivas espermáticas así como de los parámetros de motilidad VCL y ALH siendo este efecto más marcado en el semen inoculado con la cepa Y-goat de Mmc (Tabla 1).

En este sentido, Sylla et al., (2005) observaron que la presencia de Mmc en muestras de semen bovino estaba asociado con descensos en la motilidad espermática aunque otros trabajos similares realizados con otras especies de micoplasma como *M. hominis* apenas han evidenciado un ligero efecto a corto plazo en la viabilidad espermática (Díaz-García et al., 2006). Para algunos autores, la capacidad de adhesión espermática y la producción de metabolitos citotóxicos por parte de algunas especies de micoplasma influyen significativamente en la calidad espermática (Sylla et al., 2005; Díaz-García et al., 2006). También pudimos observar como el pH resultante de la mezcla de los tres inóculos y las dosis seminales se estabilizó en torno a valores medios de 6 y 6,25 a partir de los 60 minutos de experiencia. En estas condiciones de aerobiosis y pH ácido, en que la actividad espermática depende de la fosforilación oxidativa mitocondrial, estudios similares han observado una inhibición de la actividad espermática de entre el 8% y el 25% debidas a la competencia de *Ureaplasma urealyticum* por la producción energética mitocondrial reduciéndose la viabilidad y motilidad espermática (Reichart et al., 2001).

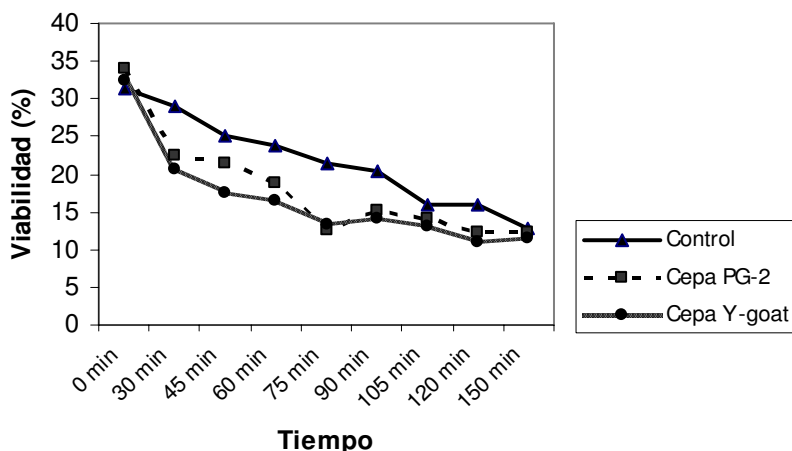
Estos datos, suponen la primera evidencia de que la presencia de *M. agalactiae* y Mmc pueden producir efectos nocivos sobre la viabilidad y motilidad espermática en muestras seminales de macho cabrío. Estudios posteriores deberán ser realizados para comprender el proceso de alteración espermática ejercido por los micoplasmas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- De La Fe, C., Amores J., Martín AG., Sánchez A., Contreras A., Corrales, J.C. 2009. *Theriogenology* 72: 1278-1281
- De la Fe, C., Gómez Martín, A., Amores, J., Corrales, J.C., Sánchez, A., Poveda, J.B., Contreras, A. 2010. *Vet J* 186: 113-115.
- Díaz-García, F.J., Herrera-Mendoza, A.P., Giono-Cerezo, S., Guerra-Infante, F.M., 2006. *Hum Reprod* 21: 1591-8.
- Gómez Martín, A., Corrales, J.C., Sánchez, A., Amores, J., Martínez-Parra, J., Contreras, A., De La Fe, C. 2008. *Producción ovina y caprina* 29: 318-323.
- Kirchhoff, H., Rosengarten, R. 1984 *J Gen Microbiol* 130: 2439-2445.
- Reichart, M., Levi, H., Kahane, I., Bartoov, B. 2001. *J Androl* 22: 404-412.
- Spergser, J., Aurich, C., Aurich, J.E., Rosengarten, R. 2002. *Vet Microbiol* 87: 119-29.
- Sylla, L., Stradaoli, G., Manuali, E., Rota, A., Zelli, R., Vincenti, L., Monaci, M. 2005. *Anim Reprod Sci* 85: 81-93.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por la Fundación SENECA, Agencia Regional de Ciencia y Tecnología de la Región de Murcia (Proyecto número 11785/PI/09). Ángel Gómez-Martín disfruta de una beca predoctoral FPU de la Universidad de Murcia.

**Figura 1:** Viabilidad espermática a lo largo del tiempo en las tres condiciones estudiadas.



**Tabla 1:** Porcentajes medios obtenidos de los diferentes parámetros de motilidad analizados por el sistema CASA.

Grupo	MOTIL	MOTi PR	VCL	VSL	VAP	LIN	STR	WOB	ALH	BCF
Control	34,29 (±2,25 <sup>a</sup> )	26,8 (±1,9 <sup>a</sup> )	111,65 (±3,56 <sup>a</sup> )	69,24 (±2,97)	78,46 (±3,03)	57,65 (±1,2)	81,39 (±0,83)	68,76 (±0,91)	2,05 (±0,04 <sup>a</sup> )	19,03 (±0,53)
PG	28,11 (±2,2 <sup>b</sup> )	22,1 (±2,0 <sup>ab</sup> )	108,38 (±3,58 <sup>ab</sup> )	65,9 (±3)	75,3 (±3,09)	56,23 (±1,09)	80,68 (±0,78)	67,76 (±0,84)	2,08 (±0,05 <sup>a</sup> )	18,37 (±0,56)
Y	27,49 (±3,03 <sup>b</sup> )	20,8 (±2,4 <sup>b</sup> )	99,09 (±4,14 <sup>b</sup> )	60,65 (±3,94)	69,85 (±4,02)	55,55 (±1,83)	79,27 (±1,54)	67,95 (±1,29)	1,88 (±0,04 <sup>b</sup> )	17,61 (±0,78)

VCL: velocidad curvilínea, VSL: velocidad rectilínea, VAP: velocidad media, LIN: índice de linealidad (VSL/VCL), STR: índice de rectitud (VSL/VAP), WOB: índice de oscilación (VAP/VCL), ALH: amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza, BCF: frecuencia de cruces.

<sup>a,b</sup> Diferencias significativas entre los valores de la misma columna (P<0,05).

### INFLUENCE OF *MYCOPLASMA AGALACTIAE* AND *MYCOPLASMA MYCOIDES* SUBSP. *CAPRI* IN SPERM VIABILITY AND MOTILITY FROM FRESH GOAT BUCK SEMEN SAMPLES

**ABSTRACT:** This study was designed to study the influence of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* in goat buck semen quality. Fresh goat buck semen samples were experimentally inoculated with both mycoplasma species and subjected to 37 °C. After 30 minutes of incubation, viability and motility were determined at storage times (0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 150 minutes). Our findings reveal a harmful effect of both mycoplasma species in both parameters of semen quality (motility and viability) in comparison with the control group under the conditions examined (2.5 h).

**Keywords:** *M. agalactiae*, *M. mycoides* subsp. *capri*, fresh semen, viability, motility.