

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**“EVALUACIÓN DEL USO DE LECHE DESCREMADA FLUIDA UHT
COMO EXTENSOR DE SEMEN PORCINO SOBRE LA FERTILIDAD
Y NÚMERO DE NACIDOS TOTALES EN CERDAS
INSEMINADAS”**

JUAN FRANCISCO NAJARRO GARCÍA

GUATEMALA, MAYO 2004

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**“EVALUACIÓN DEL USO DE LECHE DESCREMADA FLUIDA UHT
COMO EXTENSOR DE SEMEN PORCINO SOBRE LA FERTILIDAD
Y NÚMERO DE NACIDOS TOTALES EN CERDAS
INSEMINADAS”**

TESIS

**PRESENTADA A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD
DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

POR

JUAN FRANCISCO NAJARRO GARCÍA

AL COFERÍRSELE EL GRADO ACADÉMICO DE

MÉDICO VETERINARIO

GUATEMALA, MAYO 2004

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD
DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

DECANO	Dr.M.V. MARIO LLERENA QUAN
SECRETARIA	Dra.M.V. BEATRIZ SANTIZO
VOCAL I	Lic.Zoot. CARLOS SAAVEDRA V.
VOCAL II	Dr.M.V. FREDY R. GONZÁLEZ
VOCAL III	Dr.M.V. EDGAR BAILEY
VOCAL IV	Br. ESTUARDO RUANO
VOCAL V	Br. DANIEL BARRIOS

ASESORES

**Dr.M.V. YERY EDGARDO VELIZ PORRAS
Dra.M.V. LIGIA ANAITÉ GONZÁLEZ QUIÑÓNEZ
Dr.M.V. MSc. JUAN JOSÉ PREM GONZÁLEZ**

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

**EN CUMPLIMIENTO CON LO ESTABLECIDO POR LOS
ESTATUTOS DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE
GUATEMALA PRESENTO A CONSIDERACIÓN DE USTEDES EL
TRABAJO DE TESIS TITULADO:**

**“EVALUACIÓN DEL USO DE LECHE DESCREMADA FLUIDA UHT
COMO EXTENSOR DE SEMEN PORCINO SOBRE LA FERTILIDAD
Y NÚMERO DE NACIDOS TOTALES EN CERDAS
INSEMINADAS”**

**COMO REQUISITO PREVIO A OPTAR EL TÍTULO
PROFESIONAL DE**

MÉDICO VETERINARIO

TESIS QUE DEDICO

A DIOS

A MIS PADRES
EVANGELINA GARCÍA AVILES
FRANCISCO NAJARRO GONZÁLEZ

A MIS HERMANOS
REYNA, IRMA, JOSÉ
ESPECIALMENTE A **JAVIER** Y
GLADYS POR SU APOYO
INCONDICIONAL.

A MIS SOBRINOS
ESTUARDO, WENDY, JORGE, JALY,
MARCO ANTONIO, VINICIO,
ROBERTO, DAVID, INGRID,
RENATO, EVA, VICTOR, JOSÉ, LISI,
JAVIER.

A MIS CUÑADAS Y CUÑADOS

A TODOS MIS AMIGOS
ESPECIALMENTE A SERGIO, NOE, JULIO,
RICARDO, MYNOR, SARA, RONALD, JOSÉ,
JUAN, TULIO (Q.E.P.D.) Y A TODA
LA PROMOCIÓN 2002.

A MIS PADRINOS

AGRADECIMIENTO

A LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTENCIA,
USAC

A MIS CATEDRÁTICOS

AL INSTITUTO DE REPRODUCCIÓN ANIMAL

A MIS ASESORES

AL PERSONAL DE LA GRANJA PINARES QUE COLABORÓ CON LA
PRESENTE TESIS

AL PERSONAL DE APOGUA

INDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPÓTESIS	2
III. OBJETIVOS	3
3.1 General	3
3.2 Específicos	3
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	4
4.1 INSEMINACIÓN ARTIFICIAL	4
4.1.1 Historia	4
4.1.2 Ventajas de la inseminación artificial	6
4.1.3 Composición del semen de Verraco	6
Tabla de Composición del semen de verraco	7
4.1.4 Técnicas de inseminación artificial	8
4.1.4.1 <i>Entrenamiento del verraco y puesta en servicio</i>	8
4.1.4.2 <i>Procedimiento de recolección del semen</i>	9
a. Material de colecta	9
b. Procedimiento de recolección	11
c. Fracciones del eyaculado	12
4.2 EVALUACIÓN DEL SEMEN	14
4.2.1 Examen macroscópico	15
4.2.1.1 <i>Temperatura</i>	15
4.2.1.2 <i>Volumen</i>	16
4.2.1.3 <i>Consistencia</i>	16
4.2.1.4 <i>Color</i>	16
4.2.1.5 <i>Olor</i>	17
4.2.1.6 <i>Impurezas</i>	17
4.2.1.7 <i>pH</i>	17
4.2.2 Examen microscópico	17
4.2.2.1 <i>Vivos y muertos</i>	18
4.2.2.2 <i>Aglutinación</i>	18
4.2.2.3 <i>Motilidad</i>	19
4.2.2.4 <i>Anormalidades</i>	19
4.2.2.5 <i>Evaluación del acrosoma</i>	20

4.2.2.6 <i>Concentración</i>	20
4.3 DILUYENTES SEMINALES	21
4.3.1 Tipos de diluyentes más utilizados	23
4.3.1.1 <i>Diluyente leche descremada</i>	24
4.3.1.2 <i>Yema de huevo</i>	24
4.3.1.3 <i>Diluyente Beltsville Thawing Solution (BTS)</i>	25
4.3.1.4 <i>Diluyente Zorpva</i>	27
4.3.1.5 <i>Diluyente Reading</i>	27
4.3.1.6 <i>Diluyente MR-A</i>	28
4.3.2 Dilución del semen	29
4.3.3 Determinación del número de dosis	30
4.4 ALMACENAMIENTO Y CONSERVACIÓN DEL SEMEN	31
4.4.1 Envasado del semen diluido	31
4.4.2 Almacenamiento	32
4.4.3 Condiciones para conservación del semen	34
4.4.4 Congelación del semen	35
4.4.5 Transporte de las dosis seminales	36
4.5 TECNICA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL	37
4.5.1 Ciclo reproductivo de la hembra	37
4.5.2 Procedimiento	38
4.5.2.1 <i>Etapas del celo</i>	38
4.5.2.2 <i>Momento de la cubrición</i>	39
4.5.2.3 <i>Manejo de la cerda durante la cubrición</i>	40
4.5.2.4 <i>Manejo de la cerda después de la cubrición</i>	41
V. MATERIALES Y MÉTODOS	
5.1 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	42
5.1.1 Localización	42
5.2 MATERIALES	42
5.2.1 Recursos humanos	42
5.2.2 Recursos de laboratorio	42
5.2.3 Recursos de campo	43
5.2.4 Recursos biológicos	43
5.2.5 Centros de referencia	44

5.3 MÉTODOS	44
5.3.1 Metodología experimental	44
5.3.2 Tratamientos	45
5.4 MANEJO DEL EXPERIMENTO	45
5.4.1 Variables a evaluar	48
5.5 Análisis estadístico	48
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
VII. CONCLUSIONES	51
VIII. RECOMENDACIONES	52
IX. RESUMEN	53
X. BIBLIOGRAFÍA	54
XI. ANEXOS	57
7.1 Ficha de control datos generales	58
7.2 Ficha de control de partos	59

I. INTRODUCCIÓN

El incremento en el uso de la Inseminación Artificial (IA) se debe a diferentes factores como el hecho que contribuye al mejoramiento genético. Los parámetros reproductivos obtenidos son comparables y en algunos casos superiores a aquellos utilizando monta natural.

La IA también reduce las posibilidades de introducción de enfermedades a las explotaciones, lo que ocurre con el ingreso de animales nuevos a la granja. Algunas otras ventajas de su uso incluyen una disminución del número de sementales necesarios en la granja lo que ayuda a reducir de manera considerable los costos en el mantenimiento de verracos, mejora el control de la calidad del semen de los verracos, hace más eficiente el uso de verracos al obtener de un solo eyaculado varias dosis para poder inseminar varias cerdas.

Para que el semen colectado pueda ser utilizado en IA es necesario un diluyente. En el mercado existen varios tipos de diluyentes, sin embargo se puede utilizar una solución de clara fresca de huevo⁶, así como leche¹⁵. Los cuales pueden ser una alternativa más barata para cumplir con dicho fin.

En este estudio se evaluó la efectividad de leche descremada UHT como diluyente de semen porcino sobre la fertilidad y número de nacidos totales en cerdas inseminadas.

(Refiérase el lector a bibliografía 6 y 15)

II. HIPÓTESIS

1. El uso de leche descremada UHT no tiene ningún efecto sobre la fertilidad en cerdas inseminadas.
2. El uso de leche descremada UHT no tienen ningún efecto sobre el número de lechones nacidos totales en cerdas inseminadas.

III. OBJETIVOS

3.1 GENERAL

- Evaluar nuevas alternativas de diluyentes de semen porcino en Inseminación Artificial, para mejorar la eficiencia reproductiva.

3.2 ESPECÍFICOS

- Evaluar el uso de leche descremada UHT como extensor de semen porcino sobre el porcentaje de fertilidad en hembras multíparas.
- Evaluar el uso de leche descremada UHT como extensor de semen porcino y su efecto sobre el número de lechones nacidos totales.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

4.1.1 Historia

La inseminación artificial porcina (IA) fue iniciada por Ivanov en Rusia en los primeros años del siglo XX. Posteriormente, se desarrolló su uso en la década de los 30 en las granjas estatales rusas. Esta técnica fue reintroducida en el sector porcino en el Reino Unido gracias a los trabajos desarrollados por Chris Polge (1956), ya que la gran ventaja que aportaba esta tecnología era el aprovechamiento del potencial genético de los mejores verracos en un amplio número de reproductoras, facilitando la mejora genética. Pero el verdadero desarrollo y la amplia aplicación a nivel comercial de la inseminación artificial porcina se produce a partir de la década de los 80, cuando se estandarizan los protocolos de inseminación. Obviamente en esta evolución de prácticamente un siglo se han desarrollado sistemas de colecta y preparación de dosis, así como los protocolos de inseminación en condiciones comerciales.

Gracias a esto el uso de la inseminación artificial en cerdos se ha distribuido ampliamente a través del mundo en los últimos 10 años. Esta ya forma parte integral de la rutina en hatos de diferentes tamaños y sistemas de manejo, facilitando el ahorro, mejorando el desempeño y aumentando el control sobre el programa de reproducción que es el componente más significativo del hato (10).

La inseminación artificial tiene como desventaja el requerimiento de un nivel de manejo más elevado que en la monta natural. En esta hay mayor probabilidad que existan errores humanos, ya que cuando un verraco monta a la hembra, el semen no se expone a cambios ambientales y generalmente es depositado en la hembra más de una vez durante el momento óptimo para la fertilización. Por tal motivo la inseminación debe de hacerse lo más correctamente posible y en el momento óptimo para poder obtener un alto índice de fertilidad y camadas numerosas, la detección del estro debe hacerse cuidadosamente y sin fallas.

Comprar el semen permite diversidad genética lo que optimiza los sistemas de cruzamiento en las granjas más pequeñas y aumenta el progreso genético.

El sistema reproductivo de la cerda se presta mejor para la inseminación artificial que el de las vacas u ovejas por lo tanto con las cerdas se ahorra tiempo y mano de obra. No obstante para obtener buenos resultados se requiere de buenas técnicas de IA y del entendimiento del sistema reproductivo de la cerda (20).

Las fases de Inseminación Artificial en las que se divide el trabajo de un laboratorio son: colecta del semen, evaluación seminal, dilución, envasado, conservación y evaluación de las dosis(3).

4.1.2 Ventajas de la inseminación artificial

- Mejora genética en un período corto de tiempo.
- Mayor uniformidad de los lotes producidos.
- Disminución en el número de verracos.
- Ahorro en instalaciones y alimentación.
- Control en la calidad espermática.
- Menor riesgo de transmisión de enfermedades por vía sexual.
- Utilización de animales de diferente peso en el cruce.
- Ahorro de esfuerzo y tiempo evitando la monta natural.
- Evita el estrés en animales con problemas de corazón y cojeras (21).

4.1.3 Composición del semen de verraco

El plasma espermático sirve como vehículo para los espermatozoides, pero su importancia radica especialmente en que contiene sustancias con sales minerales (calcio, sodio, potasio, fósforo), nitrógeno, fosfatasas, albúminas, proteínas, fructosa, ácido láctico, ácido cítrico, que condicionan la actividad funcional de los espermatozoides, su maduración, respiración y su movilidad.

Los espermatozoides, están compuestos por prótidos, varias sustancias minerales, algunas fosfatasas, varias enzimas intermediarias de la fructuólisis y otras enzimas, entre las cuales la hialuronidasa ataca el gel que une las células del oóforo al ovocito y por quedar así descubierta, penetra el nematosperma fecundante (15).

Tabla de Composición del semen de verraco

CARACTERÍSTICAS	CONCENTRACIÓN
Depresión del punto de congelación °C.	0.62 (.59-0.63)
PH	7.5 (7.3-7.9)
Agua (g/100ml)	95(94-98)
Bióxido de carbono (ml/100ml)	50
Sodio (mg/100ml)	660(290-850)
Potasio (mg/100ml)	260 (90-410)
Calcio (mg/100ml)	2-6
Magnesio (mg/100ml)	11 (5-15)
Cloruros (mg/100ml)	330(150-430)
Fósforo total (mg/100ml)	66
Fósforo soluble en ácido (mg/100ml)	24
Fósforo inorgánico (mg/100ml)	2
Fosfolípidos (mg/100ml)	6
Nitrógeno total (mg/100ml)	615(335-765)
Nitrógeno no protéico (mg/100ml)	22
Amoníaco (mg/100ml)	1
Urea (mg/100ml)	5
Ácido úrico (mg/100ml)	3
Ergotioneína	6-23
Glicerilfosforilcolina	110-240
Fructosa	12(2-5)
Ácido cítrico	140 (30-330)
Ácido láctico	30
Inositol	600-750

(13).

4.1.4 Técnicas de inseminación artificial

4.1.4.1 Entrenamiento del verraco y puesta en servicio

El entrenamiento del verraco consiste en hacerlo montar un maniquí o potro y de esa manera poder hacer la colecta de semen. Este potro debe tener las medidas aproximadas de una cerda primeriza y debe ser lo suficientemente cómodo para que el verraco no sufra daño.

Cuando se inicia el entrenamiento es recomendable utilizar un potro móvil ya que los movimientos estimulan al verraco joven, posteriormente es más fácil trabajar con un potro fijo, el cual debe ser lo bastante cómodo para no dañarlo.

El potro debe de ser impregnado con olores que estimulen su libido como orines de cerda en celo y porción gelatinosa de otro verraco.

El entrenamiento del verraco se inicia a la 26 semana de edad, realizándolo todos los días en sesiones de 10 a 15 minutos hasta obtener la primera colecta. Después de la primera colecta se realizan colectas más espaciadas, como mínimo de 4 días.

Es importante que todo el proceso de entrenamiento sea bajo supervisión del encargado de los verracos para que no se lastimen o adquieran miedo frente al potro. La puesta del servicio del verraco será a partir de las 30 semanas cuando ya se ha evaluado su calidad espermática (21).

Las técnicas de inseminación artificial toman en cuenta el estímulo de la cerda para mejorar el transporte del semen y la fertilidad (20).

4.1.4.2 Procedimiento de recolección del semen.

a. Material de colecta

Entre el equipo mínimo de campo requerido se encuentra:

- Potro o maniquí.
- Termos de boca ancha.
- Vasos de precipitado de 250 ml de boca ancha.
- Gasa estéril.
- Hielera.
- Alfombra de hule.
- Guantes de látex.
- Papel o toalla.

De preferencia debe utilizarse material esterilizable o desechable.

Entre el equipo de laboratorio se encuentra:

- Baño María.
- Microscopio.
- Cristalería (portaobjetos, cubreobjetos, pipetas Pasteur, cámara de Neubauer, cámara de Burker o cámara de Thoma Neu)
- Platina de 37°C.
- Esterilizador de catéteres.
- Termómetros.
- Beakers graduado de 500 ml.
- Matraces de 1,000-2,000 c.c.
- Pipetas de 1 c.c.

- Pipetas de 0.1 c.c.
- Tubos de ensayo.
- Gradillas.
- Balanza.
- Reactivos:

Cloruro de sodio.

Eosina.

Diluyente de semen.

Agua destilada.

(18).

Instalaciones:

El corral o sala de monta debe de ser construido con la finalidad de ser seguro para los trabajadores y para el verraco; debe tener una área de 3x3 metros, y estar rodeado de postes metálicos de 1.6 cm. de diámetro por 0.75 metros de alto, colocados a 0.3 metros de distancia uno del otro. Los postes deben colocarse a 0.6 metros de distancia de la pared, para que los trabajadores puedan refugiarse, y el termo de recolección pueda colocarse temporalmente en esta área. Debe ser un lugar cerrado, para que el verraco no se distraiga y no existan corrientes de aire o luz solar directa. El potro debe ser estable y estar perfectamente asegurado en el piso al centro del corral. El piso debe tener una superficie segura donde el verraco no se resbale (2,8,19).

b. Procedimiento de recolección

Los espermatozoides son muy sensibles a pequeños cambios de temperatura y presión osmótica así como a las impurezas. Por estas razones, todo el equipo utilizado en la manipulación del semen debe estar limpio, tibio, seco y estéril (1).

La colecta de semen se realiza por medio de la técnica manual de fijación. Este es el método más efectivo para recolectar semen, debe utilizarse un guante de látex para evitar problemas de contaminación. La recolección del semen a mano desnuda debe evitarse, ya que además de antihigiénica puede provocar contaminación entre los verracos. La utilización de material desechable destinado a la colecta del semen es muy recomendable sobre todo en las granjas, ya que los sistemas de limpieza y esterilización son difíciles de controlar. Es posible también el uso de una vagina artificial, aunque algunos verracos se resisten a este proceso no muy utilizado que evita que el verraco se acostumbre a la mano de la persona que colecta (5,15).

Permita que el verraco monte el maniquí, una vez montado, el animal realiza movimientos para localizar la vulva de la hembra, mientras realiza estos movimientos el pene emerge. Algunos animales son muy lentos para la salida del pene, así que se puede masajear la vaina del pene hasta que emerja.

Sujete el pene con el guante, en la parte de forma de tirabuzón y para que el pene complete su erección haga cierta presión que se mantendrá a lo largo de toda la recolección. Con esta presión la mano

del operador sule la función que el cervix tiene en la monta natural. Estímulos aplicados durante la recolección pueden ayudar a obtener un mejor eyaculado como sobar la punta del pene con el dedo, hacer que la punta roce suavemente la gasa del termo o aumentar la presión manual de forma intermitente (8,15,19).

Todo el material que vaya a recibir el semen debe estar estéril y previamente calentado a 37°C. El semen se colecta en vasos de precipitado o similares que encajan perfectamente con un termo que lo aísla de la temperatura exterior. Sobre el vaso se coloca una gasa para que en la colecta no se mezcle la fracción espermática con el gel o tapioca (5,15).

c. Fracciones del eyaculado

El eyaculado del verraco se caracteriza por presentarse en cuatro fracciones las cuales son en orden de aparición:

- Fracción pre-espermática: son las primeras gotas que aparecen, no interesa recogerlas ya que no tienen espermatozoides y suele tener una carga más contaminante. Es de color transparente, y de volumen reducido. Su función es de limpiar la uretra de bacterias y restos celulares, es de escaso volumen 10-15 ml aproximadamente.

- Fracción espermática o rica: la primera porción viene rápidamente debido a la contracción que sufre la cola del epidídimo. Su color es totalmente blanco, y es la porción que contiene mayor cantidad de espermatozoides. Es la que debe

colectarse por su uso en inseminación artificial. Esta segunda porción contienen alrededor del 90% de los espermatozoides y un volumen cercano a los 100 ml o más.

- Fracción post-espermática o pobre: a lo largo del eyaculado, la fracción rica va aclarando su color volviéndose totalmente transparente. Aunque tienen cierta cantidad de espermatozoides, esta parte del eyaculado es rica en plasma seminal y por lo tanto, actúa estimulando a los espermatozoides, es por esto, que su utilización en inseminación artificial va a depender de las dosis que vayamos a realizar, no es recomendable si se desea conservar el semen por más de 24 horas. Tiene un volumen aproximado de 200 ml.
- Gel o tapioca: esta fracción procedente de las glándulas de Cowper, y que consta de unos grumos gelatinosos, se expulsa durante todo el eyaculado, al principio en poca cantidad y al final del eyaculado en gran cantidad. Esta fracción no nos interesa coleccionar ya que produce aglutinación espermática. Para evitar coleccionarla se coloca la gasa en el vaso de colecta. Esta fracción sirve de tapón mucoso durante la monta natural evitando así el reflujo de espermatozoides.

Una vez coleccionado el semen se lleva inmediatamente al laboratorio para procesarlo.

Los verracos deben tener un ritmo adecuado de colectas para obtener una buena producción espermática en cantidad y calidad; los

adultos tienen que descansar un mínimo de tres días y los jóvenes cuatro días, tampoco es conveniente dejar al verraco en reposo demasiado tiempo (5,15,18).

4.2 EVALUACIÓN DEL SEMEN

La evaluación del semen o espermiograma incluye un examen macroscópico y un microscópico.

Para poder evaluar el semen del verraco, es necesario conocer previamente los valores normales como se muestra en la siguiente tabla:

DESCRIPCIÓN	VALOR
Volumen (ml)	150-500
Ph	6.4-7.6
Concentración (millones / milímetro cúbico).	0.3-0.4
Movimiento individual (%)	80-90
Anormalidades (%)	20
Aglutinaciones (+)	1-5 (+) 5-10 (++) 10-15 (+++) 15-a más (++++)

(17)

4.2.1 Examen macroscópico

MACROSCÓPICO
Temperatura
Volumen
Consistencia
Color
Olor
Impurezas
pH

4.2.1.1 Temperatura

Antes de introducir el termo con la fracción rica en el baño María, debe medirse la temperatura de llegada del semen en el laboratorio, comprobando que la temperatura del baño María no difiera más de 2°C, ajustaremos siempre el baño María a la temperatura del semen, nunca al revés. El semen puro debe mantenerse más de 15-20 minutos en el baño María que debe estar a 37°C (17).

4.2.1.2 Volumen

Usualmente el verraco eyacula entre 150-250 ml pero el volumen puede variar de 50-500 ml. Para medir el volumen se utiliza una balanza asumiendo que 1 gr. de semen corresponde a 1 ml. si no se tiene balanza se puede medir con una probeta graduada y estéril (8,15,16).

4.2.1.3 Consistencia

Esta es determinada por el examen visual del eyaculado, exponiéndose por un momento a la luz solar directa, pudiéndose determinar los siguientes datos: transparente acuoso, acuoso-turbio, lechoso pálido, lechoso cremoso, siendo la deseable el lechoso pálido (19).

4.2.1.4 Color

Las escalas del color son las siguientes: Transparente, opaco, amarillo, pálido, blanquecino, grisáceo, y marfil o ámbar. El color del eyaculado del verraco debe de ser blanquecino grisáceo (19).

4.2.1.5 Olor

El olor debe de ser sui géneris, pero un eyaculado limpio tiene muy poco olor.

4.2.1.6 Impurezas

Se debe observar que el semen no contenga pus, orina, tierra, estiércol, pelos, sangre fresca (color vino tinto), o vieja (Color chocolate) y concentrado ya que algunas de estas impurezas pueden ser indicativo de algún proceso infeccioso o bien, de contaminación durante el proceso de colecta.

4.2.1.7 pH

Se sumerge una pequeña tira dentro del eyaculado o bien se coloca con una pipeta capilar una pequeña gota sobre la cinta indicadora, luego lo más pronto posible se hace una comparación del cambio de color en la escala respectiva. El pH debe de estar dentro de un rango de 6.6 –7.4 (12).

4.2.2 Examen microscópico

EXAMEN MICROSCÓPICO
Vivos y muertos.
Aglutinación.
Movimiento individual.
Anormalidades.
Concentración.

4.2.2.1 Vivos y muertos

Esta prueba se realiza colocando una gota de eosina en un portaobjetos y luego una gota de eyaculado encima se mezclan y se procede a realizar un frotis el cual se observa al microscopio con el objetivo seco fuerte (40X), se cuentan 200 células espermáticas. Los espermatozoides vivos, no se tiñen con la eosina mientras que los espermatozoides muertos se tiñen debido a la pérdida de sus propiedades de impermeabilidad.

Los resultados obtenidos se expresan en porcentaje, considerándose como un buen eyaculado aquel que presenta por lo menos un 80% de los espermatozoides vivos (19).

4.2.2.2 Aglutinación

Las aglutinaciones no son más que agrupaciones de células espermáticas debidas a la presencia de mucina en el eyaculado de los monogástricos y se evalúan por la cantidad de las mismas presentes en el campo por medio de cruces; entre más cruces presentes menos deseable es el eyaculado (12).

4.2.2.3 Motilidad

Para observar la motilidad, se coloca una gota de semen sobre un portaobjetos y encima un cubreobjetos atemperados a 37°C. Se observa la muestra con el objetivo 10X o seco débil.

La motilidad deseada es de 70 a 80 % siempre se estima que en cualquier eyaculado un 20% de espermatozoides estén muertos o anormales, por lo que la motilidad máxima debe de ser del 80% (1,8,15,19).

4.2.2.4 Anormalidades

Se evalúa la morfología espermática. Se utiliza semen ya diluido, haciendo una tinción en la que se mezcla una parte de Eosina-Nigrosina con una parte del semen diluido. Con el microscopio se observa un total de 200 espermatozoides y se define el porcentaje de las distintas anormalidades existentes.

Si hay más de un 20% de anormalidades, se considera que el eyaculado no es adecuado para la inseminación (1,19).

La solución de Eosina-Nigrosina se prepara hirviendo en baño María durante 10 minutos los siguientes ingredientes: Citrato de sodio (2.9 gr.), eosina (2.67 gr.), Nigrosina (10 gr.) y agua tridestilada (100 ml). Mientras se tienen los ingredientes en ebullición deben agitarse constantemente. Ulteriormente se deja enfriar a temperatura ambiente y se pasa por papel filtro número 42. La solución debe mantenerse en refrigeración para su conservación (12).

4.2.2.5 Evaluación del acrosoma

El buen estado del acrosoma de los espermatozoides determina su capacidad de fertilización. Es de utilidad hacer esta prueba una vez por mes principalmente a los animales que van a iniciar su vida reproductiva, animales viejos y animales que se sospechan ser causantes de fallos de preñez.

Para esta evaluación se utiliza glutaraldehído al 2.5% en una de las siguientes formas:

- 4-5 gotas de semen diluido en 1 ml de glutaraldehído.
- 4-5 gotas de semen sin diluir en 5 ml de glutaraldehído.

Se coloca la muestra en un portaobjetos con cubreobjetos y se observa al microscopio con aceite de inmersión, con el objetivo 100X. Se observan 200 células espermáticas y lo deseable es que el 95% presenten acrosomas normales (1,19).

4.2.2.6 Concentración

Indica la riqueza en espermatozoides que posee el semen, su cantidad es importante tanto para la fecundación natural como para la artificial. Varía mucho en los individuos de cada especie por los factores ambientales, disposición sexual, estado nutricional etc. (15).

Para el conteo se utiliza una solución espermicida con la que se matan los espermatozoides de la muestra de semen. La solución espermicida utilizada es citrato de sodio al 3.6% (72 gramos de citrato en dos litros de agua desmineralizada) y formol. Se miden 99.5 ml de

citrato de sodio al 3.6% con una bureta de 100 ml y se coloca en un Erlen Meyer de 125 ml, con una pipeta serológica de 1 ml proveniente de la incubadora graduada a 40°C se toman 0.5 ml de semen y se agrega dentro del citrato. A esto se le adicionan de 4-5 gotas de formol, sacadas con una pipeta Pasteur y se agita el Erlen Meyer girándolo en círculos con movimientos de muñeca, hasta obtener una solución homogénea. La cámara de Neubauer o de Burker se limpia con un pedazo de gasa y se le coloca un cubreobjetos limpio. Con una pipeta Pasteur, se toma una muestra de la solución preparada y se coloca una gota en cada una de las cámaras, de tal forma que las dos superficies planas bajo el cubreobjetos queden completamente llenas y sin exceso de solución. La cámara se deja reposar durante un minuto antes de hacer el conteo en el microscopio (12).

4.3 DILUYENTES SEMINALES

Por diluyente entendemos la solución acuosa que permite aumentar el volumen del eyaculado hasta conseguir las dosis necesarias y preservar las características funcionales de las células espermáticas y mantener el nivel de fertilidad adecuado.

Los espermatozoides se encuentran en el plasma seminal que suministra los nutrientes necesarios para mantener una elevada actividad metabólica necesaria para el proceso de transporte espermático a través del genital femenino. En el eyaculado, esta actividad metabólica solo puede mantenerse durante un período de tiempo muy limitado. Para poder conservar los espermatozoides

durante períodos prolongados es necesario que se reduzca la actividad metabólica de los espermatozoides, mediante la dilución en un medio adecuado y la reducción de la temperatura.

Las peculiares particularidades que presenta el espermatozoide porcino hace que sea muy sensible al shock por frío, produciendo una alteración en la viabilidad espermática. En concreto la composición lipídica de sus membranas parece ser la responsable de esta situación. Así, cuando se reduce la temperatura los movimientos laterales de los fosfolípidos que componen la membrana se ven reducidos y se producen separaciones de fases lipídicas, situación asociada a alteraciones irreversibles de las proteínas de las membranas. Todo hace que se altere la funcionalidad de la membrana espermática y la viabilidad celular se vea comprometida. Esta susceptibilidad al choque por frío, supone en la práctica que las muestras seminales deban ser conservadas a 15-18°C, ya que una reducción en la temperatura de almacenamiento limita la viabilidad de las muestras seminales.

La conservación a estas temperaturas moderadamente reducidas limita la capacidad de almacenamiento de las muestras ya que no puede reducirse el metabolismo celular y no pueden controlarse las condiciones microbiológicas con la misma efectividad de temperaturas inferiores (5°C).

Por otro lado, el efecto de dilución lleva a que determinados compuestos presentes en el plasma seminal estén en muy bajas concentraciones en el semen diluidos y alteren la viabilidad espermática, como por ejemplo la reducción de la concentración de K⁺ o de proteínas plasmáticas. Estas pérdidas deben compensarse con la

adecuada formulación del diluyente, así por ejemplo la adición de albúmina sérica bovina (BSA), ya que se ha demostrado que esta adición estimula la motilidad y mejora las tasas de fertilidad del semen conservado (7).

4.3.1 Tipos de diluyentes más utilizados

A nivel práctico en las condiciones actuales de producción los diluyentes se han clasificado en dos grandes grupos, los que tienen como objetivo la conservación a corto plazo (menos de 1-3 días) como el BTS, o aquellos que tienen por objetivo la conservación a mediano plazo (hasta 4 días) como el Kiev y largo plazo (más de 4 días) como el MR-A (7).

La solución debe mantenerse a una temperatura de 15-18°C. Al utilizar glucosa Skim milk, la estabilidad del semen dura 2 días; con la solución Kiev, la estabilidad dura 3-4 días y con SCK-7 la estabilidad dura de 4-5 días.

Si se mantiene la solución a una temperatura de 5°C, la solución glucosa skim milk dura 6-7 días y la KDCG-catalase dura de 10-14 días (5).

4.3.1.1 Diluyente leche descremada

Componentes por litro:

Descripción	Cantidad
Energía	90 Kcal.
Grasa	0.3 gr.
carbohidratos	13 gr.
Proteína	8 gr.
Vitamina A	200 ug.
Ácido Fólico	40 ug.
Vitamina C	15 mg.
Vitamina D	1.25 ug.
Calcio	300 mg.
Hierro	1.4 mg.
Amoxicilina	3 ml.

4.3.1.2 Yema de huevo

La yema de huevo parece tener un papel protector y conservador de los espermatozoides asegurando así una supervivencia más prolongada. La acción protectora y conservadora está ligada a compuestos lípido-protéicos y lipídicos del huevo. La yema contiene igualmente glucosa que puede ser metabolizada por los espermatozoides, también ciertas proteínas, vitaminas hidrosolubles y liposolubles además posee un cierto grado de viscosidad que puede beneficiar a las células espermáticas.

La fracción protéica responsable de la conservación interviene anulando los procesos inhibitorios por formación de H_2O_2 , como consecuencia de la oxidación desaminativa de una molécula de triptófano de fenilalanina o de tirosina. La yema de huevo contiene una serie de diastasas, especialmente de deshidrogenasas, que intervienen como sustratos de oxidación y elementos protectores de enzimas con grupos sulfhidrilo y del factor anticoagulante normalmente presente en el plasma seminal de los mamíferos. Es posible que las variaciones en la composición de la yema de huevo puedan alterar la naturaleza del diluyente y ser responsables de la aglutinación de espermatozoides, esto ocurre especialmente en el caso de huevos que provienen de gallinas que recibieron una alimentación carente de caroteno. Es preferible usar huevos lo más fresco posibles, aunque no se ha observado ninguna modificación en la motilidad de los espermatozoides después de haber empleado huevos viejos (6).

4.3.1.3 Diluyente Beltsville Thawing Solution (BTS)

Este es uno de los diluyentes más utilizados actualmente y esta compuesto por:

Glucosa g/L	37
Citrato sódico g/L	6.0
EDTA g/L	1.25
Bicarbonato sódico g/L	1.25
Cloruro potásico g/L	0.75
pH	7.2
Penicilina sodica g/L	0.60
Estreptomicina sulfatada g/L	1.00

Este medio se caracteriza por añadir una pequeña cantidad de potasio, que permite mantener la actividad de la bomba sodio-potasio y evita la reducción de potasio intracelular que está asociada a la disminución de la motilidad (7).

Para la preparación del diluyente, se disuelve el contenido del sobre (50 gramos) en un litro de agua destilada estéril a 30-40 °C. La solución de este diluyente puede ser almacenada por más de dos días a una temperatura de 5°C, antes de su utilización. El polvo debe ser almacenado en una bolsa fuertemente sellada a una temperatura de 5 a 10 °C en un ambiente oscuro y seco.

Para la dilución, la temperatura del diluyente debe ser ajustada a la temperatura exacta del semen y luego, se prepara el semen del verraco recién recolectado fresco a una dilución de 1:3 a 1:10 dependiendo de la cantidad y densidad del eyaculado. Se prepararán las dosis de inseminación de 85 a 100 ml. El semen extendido debe ser almacenado y/o transportado a una temperatura de 16 a 18 °C (11).

4.3.1.4 Diluyente Zorpva

Esta compuesto por:

Alcohol polivinílico (PVA)	1.00 g
Glucosa	11.5 g
Carbonato de sodio hidrogenado	1.75 g
EDTA	2.35 g
Citrato tri-sódico	11.65 g
TRIS	5.5 g
Ácido Cítrico	4.1 g
Cisteína	0.07 g
Estreptomicina sulfatada	1.00 g
Penicilina benzil	0.6 g

4.3.1.5 Diluyente Reading

Esta compuesto por:

PVA	1.00 g
Glucosa	11.5 g
Carbonato de sodio hidrogenado	1.75 g
EDTA	2.35 g
Citrato tri-sódico	11.65 g
TRIS	5.50 g
Ácido Cítrico	4.10 g
Cisteína	0.07 g
Tetralosa	1.00 g
Cloruro de Potasio	0.75 g
Lincospectina	1.00 g
Estreptomicina sulfatada	0.50 g

Estos son medios complejos basados en el medio Zorlesco ligeramente modificado y al que se le añade alcohol de polivinilo como macromolécula (PVA) que mejora el porcentaje de acrosomas intactos. Estos diluyentes suponen un costo superior a los diluyentes de corta duración y con unos resultados no superiores a los obtenidos con otros diluyentes por lo que realmente no se ha extendido su uso (7).

4.3.1.6 Diluyente MR-A

Este es otro de los diluyentes más utilizados actualmente y está compuesto por glucosa, EDTA, Citrato sódico, acetato potásico, amino glucósidos y excipiente tampón.

Dentro de las características de este diluyente encontramos:

- Conservación seminal de 6-7 días.
- Mantenimiento de parámetros físico-químicos.
- Menor degradación espermática.
- Mayor control sobre problemas de aglutinaciones del plasma seminal.
- Regulador de metabolismo celular.
- Optima correlación entre motilidad y capacidad fecundante.
- Protector de la actividad del miometrio.
- Control microbiológico.
- Mejor transporte espermático e implantación embrionaria.
- Control de viabilidad por lote preparado.

Para la preparación, se diluye en menos de 15 minutos post-colecta con la fracción rica del eyaculado en un rango de 1:10 a 1:25 y a una temperatura de 37°C luego se desciende paulatinamente la

temperatura (3 a 5 horas) a 15°C. Después, debe conservarse en anaerobiosis a 15°C y rotarse el semen conservado cada 12 horas.

Para la preparación del semen dializado con MR-A, coleccionar exclusivamente la fracción rica del eyaculado, la cual se introduce dentro de un tubo de diálisis con poros de 2 nm de diámetro. Luego se dializa en MR-A durante treinta minutos desde los 37°C hasta la temperatura ambiental. Después, se desciende desde la temperatura ambiental hasta los 15°C se diluye el semen a una proporción de 1:5 para almacenarlo a 15°C y se dosifica a concentraciones de 6×10^9 espermatozoides por ml (15).

4.3.2 Dilución del semen

Se mide la temperatura del semen dentro del termo ubicando el bulbo del termómetro al centro del líquido y agitando suavemente. La mezcla del diluyente con el semen debe ser isotérmica para evitar un choque de temperatura que pueda matar a los espermatozoides. La dilución debe llevarse a cabo rápidamente y antes de 15 minutos después de la colecta. Se mide en un Beaker el volumen del diluyente que se determinó utilizar. El diluyente debe estar de 38 a 40 °C, ya que el mismo proviene del baño María. Para que el diluyente llegue a temperatura del semen, se agrega diluyente frío y una vez que se ha llegado exactamente a la temperatura deseada, se quita el diluyente en exceso. La dilución se hace después de verificar que ambas temperaturas son iguales, a continuación se vierte el semen suave y directamente dentro del diluyente. Para homogenizar la mezcla se

agita con el termómetro suavemente, sin topar el mismo con las paredes del Beaker (12).

A pesar de que los expertos difieren en qué tanto debe diluirse el semen, se debe calcular entre un mínimo de 1.5×10^9 y un máximo 6×10^9 espermias en una botella de inseminación, siendo en promedio 5×10^9 , conteniendo un mínimo de 100 ml.

El grado de dilución depende de la concentración de espermias del eyaculado (1,8).

4.3.3 Determinación del número de dosis

Para realizar el cálculo del número de dosis que podemos elaborar con un eyaculado, se divide entre la concentración de la dosis en que se trabajaran $3,4$ o 5×10^9 .

$$\text{Numero Dosis} = \frac{A \times (VE)}{5 \times 10^9}$$

Donde A = el número de espermatozoides encontrados en 0.01 mm cúbicos de la cámara de Neubauer.

Donde VE = Volumen del eyaculado den cm cúbico.

5×10^9 = # de espermatozoides por dosis.

$$VT = (N)(CB)$$

VT = Volumen total (diluyente más eyaculado).

N = # de dosis.

CB = Capacidad de Botella.

$$D = VT - VE$$

D = Volumen del diluyente para añadir.

VT = Volumen total.

VE = Volumen eyaculado.

Ejemplo:

Volumen del eyaculado = 225 ml, A = 0.4×10^9 , CB = 100 cc.

$$N = \frac{(0.4 \times 10^9)(225)}{5 \times 10^9} = \frac{90}{5} = 18 \text{ dosis.}$$

VT = (18)(100) = 1,800 cc diluyente + eyaculado.

D = 1,800 – 225 = 1,575 cc de diluyente.

(19).

4.4 ALMACENAMIENTO Y CONSERVACIÓN DEL SEMEN

4.4.1 Envasado del semen diluido

Antes de envasar el semen en la botellas de inseminación artificial debe de observarse una muestra al microscopio, para verificar que la dilución se llevó a cabo correctamente y que el semen está en perfecto estado. El semen se vierte suavemente dentro de las botellas, las cuales deben taparse después de desalojar el aire dentro de las mismas para evitar la presencia de oxígeno. Cada botella se identifica con el número del verraco, la fecha y hora de la recolección (19).

Al inicio de la técnica de IA el semen se empacaba en botellas de plástico desechables. Luego de los efectos de mecanizar el condicionamiento del semen nacieron los tubos de plástico desechables; en 1994 comenzaron a realizarse las primeras inseminaciones artificiales de campo con bolsas de plástico. El interés de las mismas es múltiple:

Menor espacio ocupado para el almacenamiento de las bolsas en la granja o en el centro de inseminación artificial.

Mayor intercambio del semen con los nutrientes del diluyente al almacenarse de manera horizontal.

Envasado al vacío.

Tiempo de inseminación artificial disminuido a la mitad ya que no es necesario "forzar" el ingreso de semen en el útero (5).

4.4.2 Almacenamiento

El tiempo en que el semen está almacenado y el número de células espermáticas por dosis parece reducir el tamaño de la camada solo cuando se utiliza una dosis de 5,000 millones de espermatozoides por dosis después de un período de almacenamiento superior a las 48 horas.

La fertilidad del semen del verraco conservado puede aumentarse incrementando el número de espermatozoides por dosis. Esto parece lógico ya que esta adición de células espermáticas suplirá las pérdidas por mortalidad debidas al envejecimiento, consiguiendo así el mismo estándar de células viables.

El volumen total por dosis de semen no cambia cuando se añaden más células espermáticas a la dosis. Así el número de células por ml en cada dosis varía significativamente. Por ejemplo: 3,000 millones en 80 ml suponen 37.5 millones/ml, mientras que 5,000 millones en el mismo volumen da lugar a una concentración de células espermáticas de 62.5 millones por ml.

A pesar de que el número de células espermáticas móviles es superior a las 96 horas que a las 120 horas de almacenamiento en dosis que contienen 5,000 millones de espermatozoide, los niveles de retorno, la fertilidad y el tamaño de la camada son significativamente peores en cerdas inseminadas con 5,000 millones de células espermáticas por dosis que en aquellas que se inseminan con dosis conteniendo 1,000 ó 3,000 millones de espermatozoides. Esta diferencia puede deberse a la exposición de las células espermáticas a diferentes entornos metabólicos.

En un estudio realizado en España se observó que el porcentaje de células espermáticas móviles a las 24 y a las 72 horas de almacenamiento, era significativamente mayor a niveles de dilución 1:7 (o sea una parte de fracción espermática rica + 7 partes de diluyente Kiev) y 1:11, que a niveles de dilución menores de 1:7 y mayores de 1:11. El porcentaje de espermatozoides con acrosomas normales después de las 24, 72, y 120 horas de almacenamiento era significativamente mayor para diluciones 1:8 y 1:11 que para diluciones menores de 1:8 y mayores de 1:11 (19).

4.4.3 Condiciones para conservación del semen

Otro factor de suma importancia en la preservación de la calidad del semen es la temperatura, la cual debe reducirse de forma gradual una vez que el semen fue diluido.

La reducción de la temperatura debe hacerse en 2 ó 3 horas hasta que el semen alcance la temperatura ideal para su conservación, la cual es de 15-18°C. Variaciones de 1 ó 2°C pueden afectar la calidad del semen ya que el semen porcino es particularmente sensible a los cambios térmicos, por lo que es vital conservarlo a 17°C, y evitando fluctuaciones en la temperatura, ya que éstas afectan mucho más su viabilidad. La disminución de la temperatura induce una disminución del metabolismo y de la motilidad espermática. También contribuye a frenar el crecimiento bacteriano. Temperaturas inferiores a los 14°C causan alteraciones en la membrana espermática disminuyendo la calidad del semen, y temperaturas por arriba de los 20°C no disminuyen el metabolismo espermático ni detienen el crecimiento bacteriano, lo cual disminuye la vida útil del semen (4).

Se deben de agitar suavemente las dosis almacenadas cada 12 horas teniendo siempre presente que entre más veces se realiza la agitación, mejor se conservan las dosis.

El semen líquido puede preservarse por un período de 5 a 7 días, siendo los porcentajes de preñez y el tamaño de la camada similares a los obtenidos mediante la monta natural, siempre y cuando la técnica sea aplicada correctamente y el semen sea transportado bajo condiciones adecuadas. El semen congelado puede conservarse por un

período largo de tiempo en un termo de nitrógeno, sin embargo ha sido poco difundido debido a que los resultados obtenidos referentes a la tasa de concepción y tamaño de la camada al nacimiento son en general inferiores a los obtenidos con semen líquido (12).

4.4.4 Congelación del semen

La tecnología de la crio preservación del semen porcino se desarrolló en la década de 1970; Polge en 1970 informó la primera fecundación exitosa con semen congelado. Desde dicha fecha hasta nuestros días, esa tecnología ha evolucionado de manera sorprendente permitiendo obtener, en determinadas ocasiones, resultados de fertilidad y prolificidad compatibles con las exigencias actuales del mercado.

Sin embargo una serie de factores contribuyen a la falta de difusión de esa tecnología; entre ellos, la necesidad de contar con un laboratorio moderno destinado al procesamiento del semen, manejo cuidadoso de las dosis seminales durante el almacenamiento y la descongelación, variabilidad de los resultado según los verracos, y protocolos de inseminación diferentes al utilizado en semen fresco. De hecho, la utilización del semen congelado se encuentra por el momento restringida a la exportación de semen entre países distantes y la conservación de las líneas o razas que ya se encuentran en vías de extinción o en riesgo sanitario (5).

4.4.5 Transporte de las dosis seminales

El buen estado de las dosis debe de ser verificado al microscopio antes de transferirlas al campo para ser aplicadas. A cortas distancias se transportan en hieleras de duroport o plástico. Para el transporte a distancias lejanas puede manejarse este mismo tipo de hieleras conteniendo hielo gelificado, el cual deberá de estar aislado de las dosis seminales (15).

El monitoreo de variaciones en la temperatura durante el transporte es de vital importancia. Para esto puede utilizarse un termómetro de máximas y mínimas o loggers los cuáles monitorean la temperatura constantemente, registrando hasta las más mínimas variaciones, aunque estos son más caros y requieren de un programa de computación especial para coleccionar los datos. Sin embargo el uso de un logger es de mucha ayuda para detectar los puntos de la ruta donde la temperatura es un problema.

Algunos puntos que ayudan a mantener el semen fresco y viable durante el transporte incluyen:

- Minimizar el estrés físico del semen.
- Utilizar diluyentes de larga duración.
- Comercializar semen de machos de alta calidad.
- Mantener una temperatura estable en el empaque.
- Empacar suficientes refrigerantes.
- Usar doble caja.

(4).

4.5 TECNICA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

4.5.1 Ciclo reproductivo de la hembra

La cerda doméstica es una hembra poliéstrica no estacional con estros regulares que se suceden a intervalos de aproximadamente 21 días. Estos ciclos comienzan inmediatamente después de iniciada la pubertad y continúan durante toda la vida de la hembra, siendo interrumpidos estos ciclos únicamente por gestación, lactación o disfunciones endócrinas.

Muchas hembras maduras muestran un estro no ovulatorio 3 a 4 días después de la parición debido a efectos residuales de estrógenos feto placentarios en ausencia de progesterona. La mayoría de las hembras muestran estro de 3 a 7 días después del destete.

El estro dura de 1 a 5 días y se caracteriza por vulva tumefacta, roja y búsqueda del verraco. Como respuesta a la vista, sonido y atención (hociqueo y gruñidos) del verraco, la hembra asume la posición rígida, inmóvil y receptiva (reflejo de tolerancia).

La ovulación ocurre entre las 36 a 42 horas después de comenzar el estro. El número de óvulos liberados varía de 15 a 25. Inmediatamente después de la ovulación, las paredes de los folículos rotos se colapsan alrededor de un coágulo central de sangre y las células granulosas del folículo se transforman en células luteínicas responsables de la formación de cuerpo lúteo; este momento es conocido como fase luteínica del ciclo estral (diestro y metaestro), que comprende desde la ovulación hasta el día 16 del ciclo. Los cuerpos

lúteos aumentan rápidamente. Se inicia una rápida regresión hacia el cuerpo albicans.

La fase folicular del ciclo, que comprende el proestro y el estro, duran en la cerda de 5 a 6 días. Durante este tiempo, unos 10-20 folículos aumentan de diámetro, desde 4-5 mm en el día 15 del ciclo hasta alcanzar el tamaño preovulatorio (9-11 mm). El día de la ovulación, el número de folículos pequeños decrece. Los folículos que entran en el estadio final de crecimiento son seleccionados del total de la población de folículos preantrales en una etapa anterior de la ovulación precedente (8,9,16,18).

4.5.2 Procedimiento

4.5.2.1 Etapas del celo

a. Tiempo antes del celo:

- Vulva agrandada y enrojecida.
- Nerviosismo.
- Gruñidos.
- Poco moco en la mucosa vaginal.
- Muerde las jaulas y los comederos.
- Monta otras cerdas.
- Busca el verraco.
- Prueba de presión dorsal negativa, solo presenta reflejo de inmovilidad al verraco.

b. Tiempo de celo verdadero:

- Vulva moderadamente enrojecida o inflamada.
- Mucosa vaginal con moco.
- Pierde apetito.
- A veces hay salivación.
- Orejas paradas.
- Lomo arqueado.
- Ojos vidriosos.
- Cola erguida y en movimiento.
- Gruñido característico.
- Se deja montar por otras cerdas.
- Reflejo de inmovilidad presente.

c. Tiempo después del celo:

- Ya no existe inflamación ni enrojecimiento de la vulva.
- Reflejo de inmovilidad ya no existe.

4.5.2.2 Momento de la cubrición

El mayor porcentaje de la fertilidad se alcanza cuando la cerda es cubierta 10 a 12 horas antes de la ovulación, lo cual ocurre en promedio 24 horas después de iniciado el celo.

Si se realizan dos detecciones de celo al día, podemos retrasar la primera cubrición, si el celo aparece en la mañana se insemina en la tarde y si el celo aparece en la tarde se insemina en la mañana del día siguiente, así sucesivas cubriciones cada doce horas.

4.5.2.3 Manejo de la cerda durante la cubrición

- Asegúrese de que la cerda lleva en celo por lo menos doce horas.
- Limpie la vulva con una toalla de papel.
- Coloque un lubricante no espermicida, a una pulgada de la punta de la varilla o catéter de inseminación.
- Inserte la varilla, dirigiéndola en un ángulo de 45° hacia arriba, para prevenir la entrada a la uretra. Siga el mismo ángulo de inclinación de la cadera de la cerda.
- Inserte la varilla con presión uniforme, si utiliza varilla de rosca gírela a la izquierda. Después que la varilla pasa dos de los anillos cervicales encontrará mayor resistencia a la penetración. Si utiliza varilla con una punta de goma no la gire, solo inserte y luego hale de ella ligeramente para ver si la cerda lo retiene.
- Conecte la botella del semen a la varilla y levántelo en posición invertida. Presiónela suavemente para eliminar el aire que quedó en la varilla.
- Deje fluir el semen con poca o ninguna presión sobre la botella, la cerda deberá dejar pasar el semen a su propia velocidad.
- Estimule la cerda durante la inseminación, aplíquele presión sobre el lomo, frótela por debajo de los flancos.
- La puesta del semen deberá durar entre 4-5 minutos.

4.5.2.4 Manejo de la cerda después de la cubrición

- Anotar todo lo sucedido en una ficha de control de cubriciones.
- No movilizar a la cerda cubierta durante la fase de implantación del embrión o inmediatamente después.
- Reducir el estrés al mínimo desde el día 8 post-servicio hasta que se encuentre libre de riesgos alrededor del día 25 post-servicio.
- Observar a las cerdas cubiertas para verificar repeticiones, exponiéndolas a un verraco entre los 18 y 23 días post-cubrición.
- Verificar la preñez de las cerdas a partir del día 25 post-cubrición, realizando una segunda verificación 15 días después (21).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

5.1.1 Localización

El presente trabajo se llevó a cabo, en una granja porcina tecnificada con ciclo completo de reproducción, ubicada en Sumpango, Sacatepéquez.

Altura sobre el nivel del mar 2,062 metros (aproximada).

Latitud norte 14° 33' 41.37".

Longitud oeste 90° 40' 45".

5.2 MATERIALES

5.2.1 Recursos humanos

- Un estudiante investigador.
- Tres asesores Profesionales.
- Personal técnico de la granja tecnificada porcina.

5.2.2 Recursos de laboratorio

- Microscopio.
- Platina térmica.
- Termómetro.
- Baño María.
- Horno.
- Agitador magnético.
- Portaobjetos.

- Cubreobjetos.
- Pipeta Pasteur.
- Beaker de 1,000 ml y 2,000 ml.
- Agua desmineralizada.
- Cámara de conservación a 17°C.
- Jabón neutro.
- Botellas para las dosis seminales.
- Leche descremada UHT de bovino.
- Diluyente BTS.
- Antibióticos.

5.2.3 Recursos de Campo

- Termo Colector.
- Filtro.
- Guante de hule.
- Maniquí.
- Alfombra de hule.
- Hielera.
- Botella o pacha para las dosis seminales.
- Catéteres de inseminación.

5.2.4 Recursos biológicos

- Semen de verraco.
- 50 cerdas para ser inseminadas.

5.2.5 Centros de referencia

- A. Biblioteca de Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- B. Biblioteca de Asociación Guatemalteca de Porcicultores.
- C. Documentos Electrónicos Internet.

5.3 MÉTODOS

5.3.1 Metodología experimental

1. Se procedió a seleccionar y a identificar por medio del arete y registros a 50 hembras multíparas de línea materna. Las cerdas se dividieron en dos grupos teniendo en cuenta que no hubiera diferencia significativa entre ambos grupos en cuanto al número de partos.

2. Se procedió a la colecta de semen, mediante el maniquí, haciendo presión cuidadosamente con los dedos al yelmo peneano del verraco y posteriormente depositando la muestra en un termo colector limpio, estéril, con su respectivo filtro para evitar obtener partes del eyaculado no deseado. Luego se llevó al laboratorio donde se evaluaron y procesaron las dosis seminales.

1. Se procedió a la preparación de las dosis seminales donde se llevó a cabo la termorregulación de los diluyentes (leche descremada y BTS) a la temperatura deseada de 37°C por medio del baño María. Se procedió a homogenizar el eyaculado del verraco con el diluyente y una vez realizada la dilución, se procedió a inseminar a las cerdas en celo. Las botellas sobrantes se dejaron en el laboratorio a temperatura ambiente durante dos horas para que bajara la

temperatura lentamente y luego se llevaron a la cámara de conservación donde estuvieron a 17°C para siguientes inseminaciones.

5.3.2 Tratamientos

Se realizaron dos tratamientos:

1. El primero consistió en la dilución de semen de verraco con leche descremada UHT, con la cuál se inseminaron 25 hembras.
2. El segundo consistió en la dilución de semen de verraco con el Diluyente Beltsville Thawing Solution (BTS), con el cuál se inseminaron 25 hembras.

En ambos tratamientos se evaluó el porcentaje de fertilidad y número de lechones nacidos totales en las hembras inseminadas.

5.4 MANEJO DEL EXPERIMENTO

La colecta de semen del verraco se realizó bajo las mismas condiciones climáticas y a la misma hora, en las mismas instalaciones, con el mismo personal.

La calidad del semen se evaluó macroscópica y microscópicamente antes de ser diluido y se prepararon las dosis seminales correspondientes.

La dilución se realizó bajo las mismas condiciones, utilizando los dos diluyentes antes mencionados. Se midió la temperatura del semen dentro del termo ubicando el bulbo del termómetro al centro del líquido y agitando suavemente. La mezcla del diluyente con el

semen fue isotérmica para evitar un choque de temperatura que pudiera matar a los espermatozoides. La dilución se llevó a cabo rápidamente y antes de 15 minutos después de la colecta. Se midió en un Beaker el volumen del diluyente que se determinó utilizar. Al diluyente leche descremada se le agregaron 3 ml de amoxicilina, utilizando el agitador magnético para homogenizar al diluyente. El diluyente estuvo a 38-40° C, ya que el mismo proviene del baño María. Para que el diluyente llegara a temperatura del semen, se agregó diluyente frío y una vez que llegó exactamente a la temperatura deseada, se quitó el diluyente en exceso. La dilución se hizo después de verificar que ambas temperaturas fueran iguales, luego se vertió el semen suave y directamente dentro del diluyente. Para homogenizar la mezcla se agitó con el termómetro suavemente, sin topar el mismo con las paredes del Beaker.

Las hembras que se utilizaron para el experimento se mantuvieron siempre bajo las mismas condiciones climáticas, de alimentación, de alojamiento y de cuidados. Las hembras fueron estimuladas por un verraco señalador antes de la inseminación. Se realizaron dos detecciones de celo al día, pudiendo así retrasar la primera cubrición. Si el celo apareció en la mañana se inseminó en la tarde y si el celo apareció en la tarde se inseminó en la mañana del día siguiente y así sucesivas cubriciones cada doce horas, teniendo en cuenta que estuviera presente el reflejo de inmovilidad.

Se procedió a la limpieza de la vulva con una toalla de papel.

Se colocó un lubricante no espermicida (Predil), a una pulgada de la punta del catéter de inseminación.

Se insertó el catéter, dirigiéndolo en un ángulo de 45° hacia arriba, para prevenir la entrada a la uretra. Se siguió el mismo ángulo de inclinación de la cadera de la cerda.

Se insertó el catéter con presión uniforme y se giró levemente a la izquierda. Después que el catéter pasó dos de los anillos cervicales hubo mayor resistencia a la penetración, lo cual nos indicó que el catéter estaba fijo.

Se conectó la botella del semen al catéter levantándolo en posición invertida. Se presionó suavemente para eliminar el aire que quedó en el catéter.

Se dejó fluir el semen con poca o ninguna presión sobre la botella, la cerda dejó pasar el semen a su propia velocidad.

Se estimuló la cerda durante la inseminación, aplicándole presión sobre el lomo, frotándola por debajo de los flancos.

La aplicación del semen duró entre 4-5 minutos.

El número de inseminaciones fue de 3 por hembra.

A los 28 y 42 días post-inseminación se procedió al diagnóstico de gestación utilizando el sistema Doppler.

Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de preñez de cada grupo.

Al momento del parto se contó el número de lechones nacidos totales, anotando dichos resultados.

5.4.1 Variables a evaluar

- Porcentaje de cerdas preñadas.
- Número de nacidos totales.

5.5 Análisis estadístico

Para evaluar si existe diferencia significativa entre las cerdas inseminadas con leche o con BTS en cuanto a porcentaje de preñez se utilizó la prueba de Chi cuadrado y para saber si existe diferencia significativa entre grupos en cuanto a número de lechones nacidos se utilizó la prueba de t de Student.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con respecto al número de hembras que repitieron celo después del servicio, no hubo diferencia significativa entre el grupo trabajado con leche descremada fluida UHT y el grupo trabajado con BTS ($p>0.05$) después de haber realizado la prueba de Chi cuadrado.

Con respecto al número de lechones nacidos totales, el grupo trabajado con leche descremada fluida UHT tuvo un promedio de 11.41 y el grupo de trabajado con BTS fue de 11.33 no habiéndose encontrado diferencia entre ambos grupos ($p>0.05$) después de haber realizado la prueba de "t" Student.

En estudios anteriores se han obtenido resultados con BTS similares a estos ya sea en cuanto a fertilidad y a número de lechones nacidos totales, pero siempre se debe tomar en cuenta las condiciones experimentales, como son tipo de animales, condiciones ambientales, número de inseminaciones, momento de aplicación de las dosis entre otros factores (7).

Los resultados obtenidos con BTS en el presente estudio son muy similares a los resultados obtenidos por Johnson (1988) ya que no se observaron diferencias en cuanto a fertilidad y prolificidad (7).

Los resultados obtenidos con leche descremada no pueden ser comparados ya que no hay estudios anteriores.

Aunque no se encontró una diferencia estadísticamente significativa sí existe diferencia económica entre leche descremada fluida UHT y el diluyente comercial BTS. El costo de un sobre de BTS es de Q40.00 y el de leche descremada fluida UHT más antibiótico (amoxicilina) es de Q10.50. Por lo tanto el uso de leche descremada fluida UHT implica un ahorro de Q29.50 por litro en comparación con el diluyente comercial BTS.

En base a estos resultados se hizo un cálculo de costo de inseminación por hembra con cada uno de los diluyentes utilizados. Para cada hembra se utilizaron 300 ml de leche descremada fluida UHT a un costo de Q2.40, 450 mg. de amoxicilina con un valor de Q0.75 dando un total de Q3.15 por hembra inseminada. Tomando en cuenta que el promedio de lechones nacidos totales con leche descremada fue de 11.41, el valor del uso de leche descremada fluida UHT por lechón es de Q0.27.

Se utilizaron 300 ml de diluyente comercial BTS a un costo de Q12.00 por hembra inseminada. Tomando en cuenta que el promedio de lechones nacidos totales con BTS fue de 11.33, el valor del uso de BTS por lechón es de Q1.10.

El costo total del tratamiento A (leche descremada fluida UHT) de acuerdo al número de lechones nacidos en este estudio fue de Q67.77, mientras que el costo total del tratamiento B (BTS) de acuerdo al número de lechones nacidos fue de Q261.80. esto implica que al utilizar leche descremada fluida UHT se ahorra un total de Q194.03 por tratamiento.

VII. CONCLUSIONES

1. La utilización de leche descremada fluida UHT como extensor de semen no tiene ningún efecto sobre la fertilidad en cerdas inseminadas, ni afecta el número de lechones nacidos totales, al compararlo con el diluyente comercial BTS.
2. La ventaja de utilizar leche descremada fluida UHT como diluyente consiste en que es una alternativa práctica, económica y accesible para su utilización en inseminación artificial.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda utilizar leche descremada fluida UHT como extensor de semen para los programas regulares de IA en las granjas porcinas.

IX. RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se evaluó el uso de leche descremada fluida UHT como extensor de semen porcino sobre la fertilidad y el número de lechones nacidos totales en cerdas inseminadas.

Se trabajó un total de 50 hembras las cuales fueron inseminadas con semen proveniente de un solo verraco, se dividieron en tratamiento A y B. El tratamiento A estaba constituido por 25 hembras inseminadas con semen diluido en leche descremada fluida UHT, a la que se le adicionó el antibiótico amoxicilina al 15% a razón de 450 mg. por litro de leche (3 ml por litro de leche) para el control microbiológico de la muestra. El tratamiento B estaba constituido por 25 hembras inseminadas con semen diluido con el diluyente comercial BTS.

Con los resultados obtenidos se determinó que la leche descremada fluida UHT es un excelente extensor de semen fácil de conseguir, económico y puede ser utilizado en las granjas porcinas ya que no afecta la fertilidad y el número de lechones nacidos totales.

Utilizando leche descremada fluida UHT como diluyente de semen durante el presente estudio se obtuvo un ahorro de Q194.03 al compararlo con el diluyente comercial BTS.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Almond, G. 1994. The Swine IA book: a field and laboratory technicians guide to artificial insemination in swine. Ed by Ruth Cronje. (US). p. 51-70.
2. Aspectos a considerar por un inseminador altamente efectivo. 1998. Visión Técnica (MX) 12(4):1-4.
3. Congreso nacional de porcicultura (7, 1995, Guatemala). 1995. Inseminación Artificial en cerdos. Jorge Medrano. Guatemala, Apogua. 16 p.
4. Cumes, RE. s.f. Conservación de la Calidad del Semen: Diluyentes, Empaque, Temperatura y Transporte (en línea). Consultado 10 ene. 2004. Disponible en <http://www.engormix.com/nuevo/prueba/area deporcicultura1.asp?valor=121#arriba>
5. Decuadro-Hansen, G. 2001. Los beneficios de la inseminación artificial. Acontecer porcino (MX) 9(46): 21-23.
6. Derivaux, J. 1976. Reproducción de los animales domésticos. Trad. José Gómez Piquer. 2 ed. México, D.F. Acribia, 486 p.
7. Gadea Mateos, J. Los diluyentes de inseminación artificial porcina. (en línea). España. Consultado 18 nov. 2003. Disponible en <http://www.portalveterinaria.com/sections.php?op=listarticles&secid=19&min=10>

8. García Sacristán, A. 1995. Fisiología Veterinaria. España, Mc Graw-Hill. P. 840-859.
9. Hafez, ESE. 1985. Reproducción e inseminación artificial en animales. Trad. Flor de Maria Beranquer Ibarrode. 4 ed. México, Interamericana. p. 341-368.
10. James, C. 1994. Fisiología veterinaria. Trad. VO Fuentes Herrera. 2 ed. Mexico, Text Booh of Veterinary. p. 500-503.
11. Kubus, SA. 1999. Diluyente BTS modificado: inseminación artificial porcina. Madrid, ES,s.l. p 1.
12. Matamoros Gruest, LR. 1997. Resultado de la adición de una sustancia sintética con propiedades oxióticas al semen fresco porcino y su efecto sobre la tasa de concepción y tamaño de la camada en cerdas multíparas. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 14-19.
13. Molina, J. 1994 Inseminación Artificial en Cerdos. Costa Rica, Universidad de Costa Rica, Escuela de Zootecnia. 10 p.
14. Odamin, N. Inseminación artificial (en línea). Consultado 12 ene 2004. Disponible en <http://www.puc.cl/swed...odamin/caràcter/fi8.htm>
15. Prera Flores, LA. 2002. Utilización de leche descremada fluida U.H.T de bovino como extensor de semen fresco de verracos. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,. 74 p.

16. Rillo, M. 1995. Situación actual de la inseminación artificial porcina, avances técnicos para mejorar la productividad. Madrid, Kubus. p. 1-20.
17. Rosa Berrios, R. 1981. Congelamiento del semen porcino. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 12-16.
18. Seventh pic international seminar. (7, 1995 Des Moines, Iowa, US) 1995. Técnicas y Ventajas de la Inseminación Artificial. Ed. Christianne Glossop. Iowa, US. 5 p.
19. Simposium Internacional de Reproducción e Inseminación artificial porcina (6, 1999, Madrid, ES) 1999. Mejora de la fertilidad del verraco. Ed. D Levis. Madrid, ES. 10p.
20. Tander, O. s.f. Ventajas de la inseminación artificial en la ganadería (en línea). Argentina. Consultado 14 oct. 2003. Disponible en http://www.agrovit.com.ar/infotécnica/Ganaderia/Insem_artif/inseminacion.htm
21. Veliz Porras, YE; González, LA. 2001. Manual de Inseminación Artificial en Porcinos. Instituto de Biotecnología en Reproducción Animal e Inseminación Artificial, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. 11 p.

XI. ANEXOS

f. _____
Pc. Juan Francisco Najarro García

f. _____
Dr. Yeri Veliz Porras
ASESOR PRINCIPAL

f. _____
Dra. Ligia Anaité González
ASESOR

f. _____
Dr. Juan José Prem González
ASESOR

IMPRÍMASE: f. _____
Dr. Mario Llerena Quan
DECANO