



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA

**“EVALUACIÓN DEL DIPOL COMO DILUYENTE DE RECOLECCIÓN SEMINAL
Y SU EFECTO SOBRE LA CONSERVACIÓN Y FERTILIDAD DE SEMEN
REFRIGERADO DE VERRACO”**

TESIS DE GRADO

Previa la obtención del título de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

AUTOR

LISBETH CARINA SALAZAR HUGO

Riobamba - Ecuador

2014

Esta Tesis fue aprobada por el siguiente Tribunal

Ing. M.C. Edmundo Geovanny Granizo Balarezo.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. M.C. Luis Gerardo Flores Mancheno.
DIRECTOR DE TESIS

Ing. M.C. Edgar Washington Hernández Cevallos.
ASESOR DE TESIS

Riobamba, 11 de Junio de 2014.

AGRADECIMIENTO

A Dios por haberme dado al vida y guiado por el camino de la felicidad hasta ahora; Además, a cada uno de los que son parte de mi familia a mi PADRE Juan Salazar, mi MADRE, Mirian Hugo, a mis hermanos; John, Roxana, Valeria; por siempre haberme dado su fuerza y apoyo incondicional que me han ayudado y llevado hasta donde estoy ahora.

A la ESPOCH, Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela de Ingeniería Zootécnica, que me ayudo a formarme profesionalmente. A todos y cada uno de mis maestros por haberme dado las bases y elementos en la enseñanza de esta hermosa profesión.

Al Ing. Guillermo Villa gerente propietario del centro de transferencia genética “Reprogenes” por abrirme las puertas para la realización de esta investigación.

A Julio Alberto Hugo Caguana y Pedro Pablo Salazar Yépez por su confianza y apoyo que me han brindado día a día, y a todos mis tios de una u otra forma estuvieron apoyándome.

A Patricia Zurita por ser la persona que ha formado parte de mi vida con su amistad, consejos, ánimo en los momentos más difíciles de mi vida. Además, a Leidy Alban, Jorge Camacho, Gladys Macas por compartir momentos gratos durante el ciclo estudiantil y a todos quienes confiaron en mí.

De la misma manera al Ing. M.C. Luis Gerardo Flores Mancheno; Director de Tesis, al Ing. M.C. Edgar Washington Hernández Cevallos; Asesor de la misma, ya que me transmitieron sus valiosos conocimientos para el fortalecimiento y culminación de la investigación.

DEDICATORIA

La concepción de este proyecto está dedicada a mis padres, quienes me dieron vida, educación, apoyo, consejos y son pilares fundamentales en mi vida. Sin ellos, jamás hubiese podido conseguir lo que hasta ahora. Su tenacidad y lucha insaciable han hecho de ellos el gran ejemplo a seguir y destacar, no solo para mí, sino para mis hermanos y familia en general.

A mis amigos gracias a esas personas importantes en mi vida, que siempre estuvieron listas para brindarme toda su ayuda y apoyo.

Lisbeth Carina Salazar Hugo

CONTENIDO

	Pág.
Resumen	vi
Abstract	vii
Lista de Cuadros	viii
Lista de Gráficos	ix
Lista de Anexos	x
I. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
II. <u>REVISIÓN DE LITERATURA</u>	3
A. MANEJO REPRODUCTIVO DEL VERRACO	3
1. <u>Ciclo sexual de verraco</u>	3
2. <u>Espermatozoides, semen y plasma seminal</u>	3
3. <u>Producción espermática</u>	4
4. <u>Eyaculado y sus fracciones</u>	5
a. Fracción pre espermática	5
b. Fracción espermática o rica en espermatozoides	5
c. Fracción post espermática o pobre en espermatozoides	5
5. <u>Colecta de semen</u>	6
B. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SEMINAL	6
1. <u>Control macroscópico</u>	6
a. Volumen	7
b. Color	7
c. Olor	7
d. pH	7
e. Viscosidad	8
2. <u>Control microscópico</u>	8
a. Motilidad	8
b. Motilidad en masa	8
c. Motilidad individual	9
d. Concentración	9
e. Morfo anomalías	10
C. DILUYENTES DE SEMEN DE VERRACO	10
1. <u>Concepto</u>	10

2. <u>Requisitos que debe cumplir un diluyente</u>	11
3. <u>Componentes de los diluyentes</u>	12
a. Nutrientes	12
b. Buffers	12
c. Electrolitos	12
d. Antibióticos	13
e. Estabilizadores de membrana	14
4. <u>Tipos de diluyentes</u>	15
a. Diluyentes de colección seminal (Dipol)	15
(1). Composición	16
(2). Modo de empleo	16
b. Diluyentes de conservación seminal	17
(1). Diluyentes de corta duración	17
(2). Diluyentes de larga duración	18
(3). Diluyentes para congelación de esperma porcino	19
D. DILUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL SEMEN	19
1. <u>Factores que alteran a los espermatozoides</u>	20
a. Oxígeno	20
b. Temperatura	20
c. Acción de sustancias químicas	20
d. Luz	20
e. pH	21
f. Características del agua	21
2. <u>Conservación del semen diluido</u>	21
a. Fuerza iónica	22
b. Presión osmótica	22
c. pH	22
d. Composición	23
e. Título de la dilución	23
f. Velocidad de enfriamiento	23
g. Temperatura de conservación	23
h. Sustancias bactericidas	24
E. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL	24

1. <u>Detección de estro</u>	24
2. <u>Pasos para inseminación artificial</u>	25
3. <u>Factores que afectan a la fertilidad y prolificidad en el ganado porcino</u>	27
a. Factores que afectan a la fertilidad	27
(1). Momento de inseminación con respecto a la ovulación.	28
(2). Calidad Seminal	29
(3). Condición corporal	30
(4). Manejo	31
(5). Estrés	31
b. Factores que afectan a la prolificidad	33
(1). Tasa de ovulación	33
(2). Tasa de fecundación	34
(3). Reabsorción embrionaria	35
III. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	40
A. LOCALIZACION Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	40
B. UNIDADES EXPERIMENTALES	40
C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES	41
1. <u>Materiales</u>	41
2. <u>Equipos</u>	41
3. <u>Instalaciones</u>	42
D. TRATAMIENTO Y DISEÑO EXPERIMENTAL	42
E. MEDICIONES EXPERIMENTALES	43
1. <u>Evaluación de la conservación seminal</u>	44
2. <u>Evaluación de la fertilidad seminal en cerdas</u>	44
3. <u>Evaluación económica</u>	44
F. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA	45
G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	45
1. <u>Primera fase</u>	45
a. De campo	45
b. De laboratorio	46
2. <u>Segunda fase</u>	47
H. METODOLOGIA DE LA EVALUACION	47

1. <u>Características macroscópicas</u>	47
a. Volumen	47
b. Color	47
c. Olor	47
d. pH	48
2. <u>Características microscópicas</u>	48
a. Motilidad en masa	48
b. Motilidad individual	48
c. Viabilidad espermática	49
d. Concentración espermática	49
3. <u>Concepción</u>	49
4. <u>Fertilidad</u>	50
5. <u>Tamaño de la camada</u>	50
6. <u>Relación beneficio costo</u>	50
IV. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	51
A. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MACROSCOPICAS Y MICROSCOPICAS DEL EYACULADO DE VERRACO COLECTADO.	51
1. <u>Color y olor</u>	51
2. <u>Volumen del eyaculado</u>	53
3. <u>Potencial hidrógeno</u>	53
4. <u>Concentración espermática</u>	55
5. <u>Motilidad masal e individual</u>	55
6. <u>Formas anormales</u>	56
7. <u>Vitalidad</u>	56
B. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERISTICAS ESPERMATICAS EN SEMEN PORCINO HETEROSPÉRMICO REFRIGERADO COLECTADO CON Y SIN DILUYENTE DE COLECCIÓN.	57
1. <u>Evaluación espermática a las 24 horas</u>	57
2. <u>Evaluación espermática a las 72 horas</u>	59
3. <u>Evaluación espermática a las 120 horas</u>	60
4. <u>Evaluación espermática a las 168 horas</u>	62
C. EVALUACIÓN REPRODUCTIVA DE CERDAS, SOMETIDAS	63

A INSEMINACIÓN ARTIFICIAL CON EL USO DE SEMEN PORCINO HETEROSPERMICO REFRIGERADO COLECTADO CON Y SIN DILUYENTE DE COLECCIÓN.	
1. <u>Tasa de concepción</u>	63
2. <u>Tasa de fertilidad</u>	63
3. <u>Tasa de prolificidad</u>	65
D. EVALUACIÓN PRODUCTIVA DE CERDAS SOMETIDAS A INSEMINACIÓN ARTIFICIAL CON EL USO DE SEMEN PORCINO HETEROSPERMICO REFRIGERADO COLECTADO CON Y SIN DILUYENTE DE COLECCIÓN.	
1. <u>Peso de crías al nacimiento</u>	68
2. <u>Peso de camada al nacimiento</u>	68
3. <u>Porcentaje de natimortos</u>	68
E. EVALUACIÓN ECONÓMICA EN CERDAS, INSEMINADAS CON SEMEN PORCINO HETEROSPERMICO REFRIGERADO COLECTADO CON Y SIN DILUYENTE DE COLECCIÓN.	
V. <u>CONCLUSIONES</u>	71
VI. <u>RECOMENDACIONES</u>	72
VII. <u>LITERATURA CITADA</u>	73
ANEXOS	

RESUMEN

En el Centro de Transferencia Genética “Reprogenes” y Granjas Asociadas, ubicado en el Km 2 ½ vía a Guano, en el Cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo, se evaluó el dipol como diluyente de recolección seminal y su efecto sobre la conservación y fertilidad de semen refrigerado de verraco, en dosis seminales y en cerdas de la raza York Shire-Landrace que se encontraban en tercer y cuarto parto. Los tratamientos fueron distribuidos bajo un Diseño Completamente al Azar, evaluando diferentes variables durante 120 días de experimentación. Al finalizar el experimento se determinó los mejores promedios en las características espermáticas hasta las 168 horas de evaluación, para el semen heterospérmico de verraco colectado con el uso de Dipol, alcanzando promedios de 83,30 %, 3,31 puntos y 82,87 % para la motilidad masal, motilidad individual y morfología espermática respectivamente. Por otro lado las dosis seminales elaboradas con el semen heterospérmico colectado mediante el uso de Dipol, no presentó desarrollo bacteriano hasta las 168 horas de evaluación, manteniendo un pH relativamente neutro, en tanto que el grupo control existe desarrollo bacteriano a partir de las 72 horas. También la mayor fertilidad en cerdas sometidas a inseminación artificial, fue determinada en aquellas inseminadas con semen heterospérmico colectado con el diluyente de colección, alcanzando el 100,0 % de fertilidad. Por lo que se recomienda Utilizar Dipol como diluyente de colección, para el semen porcino diluido para su posterior conservación en refrigeración, ya que presentó resultados satisfactorios desde el punto de vista reproductivo, productivo y económico.

ABSTRACT

At “Reprogenes” Gene Transfer Center and associated farms, located at Km2 ¹/₂ Riobamba-Guano, Riobamba canton, Chimborazo province, Dipol use was evaluated as diluent for seminal samples collection and its effect over the conservation and fertility of boar frozen semen, the seminal dose was applied to York Shyre-Landrace female pigs in their third and fourth birth. The treatments were distributed under a complete randomized design, evaluating different variables during the experiment which lasted 120 days. After finishing the experiment, the best average related to the spermatic characteristics after 168 hours of evaluation was determined for the boar heterospermic semen collected, by means of Dipol which reached an average of 83,30%, 3,31 points and 82,87% for the gross and individual motility and spermatic morphology respectively. On the other hand the doses made of heterospermic semen collected using Dipol, didn't show any bacterial growth after 168 hours of evaluation keeping a neutral pH relatively, while in the control group (without Dipol) there is bacterial growth after 72 hours of evaluation. The highest fertility rate in female pigs under artificial insemination was determined in those which were inseminated with heterospermic semen collected with the collecting diluent, reaching a 100% of fertility. That is why it is recommended to use Dipol as collecting diluents for diluted pig semen and its future preservation under refrigeration, since it showed good results from the reproductive, productive and economic viewpoint.

LISTA DE CUADROS

No.	Pág.
1. CONDICIONES METEOROLÓGICAS IMPERANTES EN LA ZONA.	40
2. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO PRIMERA FASE.	43
3. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO SEGUNDA FASE.	43
4. ESQUEMA DEL ADEVA.	45
5. CALIFICACION DE MOVIMIENTO EN MASA.	48
6. CALIFICACION DE MOTILIDAD INDIVIDUAL.	49
7. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MACROSCOPICAS Y MICROSCOPICAS DEL SEMEN HETEROSPERMICO UTILIZADO PARA LA ELABORACIÓN DE DÓISIS SEMINALES.	52
8. CARACTERÍSTICAS SEMINALES DEL SEMEN REFRIGERADO, EN LA EVALUACIÓN DEL DIPOL COMO DILUYENTE DE RECOLECCIÓN.	58
9. CARACTERÍSTICAS REPRODUCTIVAS Y PRODUCTIVAS DETERMINADAS EN CERDAS INSEMINADAS CON SEMEN REFRIGERADO, EN LA EVALUACIÓN DEL DIPOL COMO DILUYENTE DE RECOLECCIÓN.	66
10. EVALUACIÓN ECONÓMICA EN CERDAS, INSEMINADAS CON SEMEN REFRIGERADO COLECTADO CON Y SIN DILUYENTE DE COLECCIÓN.	70

LISTA DE GRAFICOS

No.		Pág.
1.	pH determinado en el semen heterospérmico refrigerado, en la evaluación del Dipol como diluyente de recolección seminal.	54
2.	Tasa de Concepción y Fertilidad determinada en cerdas inseminadas con semen refrigerado, en la evaluación del Dipol como diluyente de recolección.	63
3.	Prolificidad promedio determinada en cerdas inseminadas con semen refrigerado, en la evaluación del Dipol como diluyente de recolección.	67

LISTA DE ANEXOS

1. Prueba t Student, para el contraste de la motilidad masal en semen refrigerado, en la evaluación del Dipol como diluyente de recolección.
2. Prueba t Student, para el contraste de la motilidad individual en semen refrigerado, en la evaluación del Dipol como diluyente de recolección.
3. Prueba t Student, para el contraste de la vitalidad espermática en semen refrigerado, en la evaluación del Dipol como diluyente de recolección.
4. Prueba de hipótesis según X^2 , para el contraste de frecuencias de desarrollo bacteriano en semen refrigerado, durante la evaluación del Dipol como diluyente de recolección.
5. Prueba de hipótesis según X^2 , para el contraste de la Tasa de Concepción, en cerdas inseminadas con semen heterospérmico colectado con Dipol como diluyente de recolección.
6. Prueba de hipótesis según X^2 , para el contraste de la Tasa de Fertilidad, en cerdas inseminadas con semen heterospérmico colectado con Dipol como diluyente de recolección.
7. Análisis de varianza de las características reproductivas y productivas en cerdas sometidas a inseminación artificial, con el uso del Dipol como diluyente de recolección seminal en semen refrigerado.
8. Prueba de hipótesis según X^2 , para el contraste del porcentaje de natimortos, en las camadas de cerdas inseminadas con semen heterospérmico colectado con Dipol como diluyente de recolección.
9. Análisis bacteriológico del laboratorio.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad el incremento de la eficiencia reproductiva porcina, ha sido posible gracias a los resultados logrados con el uso de la inseminación artificial (IA), que a pesar de las importantes ventajas que ofrece, su práctica no se ha generalizado en nuestro país, entre otras causas, debido a la dificultad para almacenar el semen por períodos prolongados. Por ello, desde principios de la década de los años 80 se ha trabajado en el desarrollo de diluyentes para el semen del cerdo, denominados de "larga duración", de "larga vida" o de "larga conservación" los cuales permiten almacenar el semen fresco por períodos de 4 y hasta 10 días, manteniendo la capacidad fertilizante dentro de niveles apropiados, sin embargo estos no son capaces de asegurar una correcta asepsia del semen durante el periodo de refrigeración hasta su utilización, nos indica, García, R. (2004).

Considerando que la contaminación bacteriana o viral se produce en los eyaculados de verraco en forma natural y que los principales contaminantes bacterianos pueden provenir de; los testículos y glándulas anexas, prepucio, aparato urinario, o de localizaciones diversas (piel del verraco, materias fecales, polvo, manos del operador, material de colecta y de preparación de las dosis). Por otro lado la contaminación microbiológica del semen por agentes patógenos, puede ocasionar una reducción de la performance reproductiva (fertilidad y prolificidad), de las granjas a través de la mortalidad espermática así como procesos de endometritis, mortalidad embrionaria, o enfermedad sistémica, manifiesta, Madec, F. et al, (2005).

Para controlar el crecimiento bacteriano, la mayoría de centros de inseminación artificial, además de extremar las medidas de higiene, utilizan diluyentes que incorporan en su composición antibióticos, sin embargo se ha podido comprobar, que el efecto de dichos antibióticos es insuficiente, debido a que la contaminación del semen colectado es frecuentemente observada, lo cual compromete su utilización en IA, pudiendo incluso generar procesos infecciosos en las hembras, según, Madec, F. et al, 2005, indicó., por lo cual se están desarrollando y

utilizando diferentes diluyentes de recolección seminal a fin de controlar la carga microbiológica al momento de la recolección.

En base a lo anteriormente expuesto el Dipol representa una alternativa práctica como diluyente de recogida de semen porcino, específicamente desarrollado para la higienización rápida del eyaculado y el control de la contaminación bacteriana previo a la dilución final con los diluyentes habituales, este diluyente de recolección, está compuesto principalmente de antibióticos de amplio espectro, que protegen a los espermatozoides, consecuentemente se logra obtener una mayor tasa de fertilidad y mayores rendimientos económicos, indicó, Mena, J. (2012), por lo que en la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos:

- Evaluar el Dipol como diluyente de recolección seminal y su efecto sobre la conservación de semen refrigerado de verraco.
- Valorar la influencia del Dipol sobre la fertilidad de semen refrigerado de verraco, utilizado en cerdas multíparas.
- Realizar un análisis económico y evaluar la rentabilidad de la utilización de diluyente de recolección seminal a través del indicador beneficio - costo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

A. MANEJO REPRODUCTIVO DEL VERRACO

1. Ciclo sexual de verraco

Padilla, M. (2006), indica que la pubertad señala el momento en la vida de un animal, en el que se alcanza la capacidad reproductiva. El macho llega a la pubertad cuando empieza a producir andrógenos y espermatozoides, y sus órganos reproductivos han madurado de tal suerte que el pene está libre de su vaina y permite la cópula con la hembra para preñarla.

Camacho, D. y Morejon, E. (2000), expresan que en el momento de alcanzar la pubertad la fertilidad del verraco es baja pero aumenta considerablemente en los meses siguientes, el máximo de fertilidad parece alcanzarse a los 2,5 años de edad, aunque la fertilidad del verraco al año de edad es suficiente para permitir cruzamientos regulares.

2. Espermatozoides, semen y plasma seminal

Muñoz, E. y Paucar, F. (2005), manifiestan que el mecanismo encargado de la formación, almacenamiento y posterior expulsión de los espermatozoides se denominan espermatogénesis. Es la suma de las divisiones mitóticas y meióticas de células espermáticas precursoras que ocurren dentro del túbulo seminífero del parénquima testicular.

Según los autores Martínez, E. et al. (2006), exponen que el período de espermatogénesis dura 34 días y una vez formado el espermatozoide y liberado en el túbulo seminífero, inicia el recorrido del epidídimo, proceso que le toma aproximadamente otros 10 días y durante el cual sufre una serie de cambios en su maduración que le confieren su capacidad fecundante.

CMA, (2006), indica que el espermatozoide, para poder ser fecundante tiene que:

- Poseer una óptima movilidad que le permita penetrar el canal cervical.
- Ascender a las partes altas del tracto reproductivo femenino.
- Sufrir la capacitación y la reacción acrosómica.
- Atravesar la zona pelúcida del ovocito.
- Sufrir la recondensación nuclear.

Camacho, D. y Morejon, E, (2000), manifiestan que el plasma seminal de los animales de eyaculación de tipo uterino (porcinos y equinos) se caracteriza por un elevado contenido electrolítico, escasa capacidad tampón, gran riqueza en azúcares y elevada dotación enzimática circunstancias que justifican el comportamiento de dicho material en cuando a su capacidad fecundante, tiempo de conservación in vitro, posibilidades de dilución.

3. Producción espermática

Camacho, J. y Gallegos, A. (2005), exponen que el esperma es el resultante en el momento de la eyaculación de una mezcla de espermatozoides, provenientes del epidídimo, con el plasma seminal. La palabra esperma es sinónimo de eyaculado y, en tal caso el eyaculado es una suspensión celular semigelatinosa resultante de la mezcla de la secreción testicular con las secreciones correspondientes a las glándulas paragenitales o anexas al aparato genital masculino en el momento de la eyaculación.

Camacho, J. y Gallegos, A. (2005), señalan que el eyaculado del verraco se caracteriza por su volumen, alta proporción de material gelatinoso y prolongado período de eyaculación, siendo heterogéneo, tanto por la composición del plasma como por su contenido en las células espermáticas. La cantidad total de espermatozoides en el eyaculado del verraco es de 15,000 – 50,000 millones.

4. Eyaculado y sus fracciones

Moreno, D. (2000), reporta que la eyaculación en todas las especies constituye la expulsión forzada de semen, el cual está dado por un reflejo por el que se contraen y vacían el epidídimo, la uretra y las glándulas sexuales accesorias del macho.

a. Fracción preespermática

Córdova, A. y Muñoz, R. (2010), expresan que está constituida por las secreciones de la próstata, vesículas seminales y algunos grumos procedentes de las glándulas de Cowper. Estos grumos de textura gelatinosa, reciben comúnmente el nombre de “tapioca”, y cumplen la función de tapón del cuello uterino impidiendo el retroceso. La fracción es prácticamente transparente sin espermatozoides y con un volumen de 10 – 35 ml.

b. Fracción espermática o rica en espermatozoides

Córdova, A y Muñoz, R. (2010), manifiestan que está constituida por espermatozoides y secreciones de las vesículas seminales y de la próstata. Contiene gran concentración de espermatozoides. Tiene un color blanquecino-lechoso y su volumen oscila entre 50 - 150 ml. El volumen es variable dependiendo de los factores que influyan en la producción espermática (raza, edad, nutrición, ritmo, método de recogida, etc.).

c. Fracción postespermática o pobre en espermatozoides

Cordova, A y Muñoz, R. (2010), indican que está constituida principalmente de secreciones de la próstata y glándulas de Cowper, pobre en espermatozoides, de color blanquecino transparente, con grumos gelatinosos a lo largo de su emisión, con volumen aproximado de 200 mm.

5. Colecta de semen

Camacho, J. y Morejon, E. (2000), expresan que el principal requisito durante la eyaculación del verraco es la presión que ejerce el cuello uterino de la cerda sobre la zona espiral del pene. Esto puede ser fácilmente simulado por presión manual del pene en prostitución. Se han empleado algunos métodos artificiales para recoger el eyaculado completo y el método de recogida puede afectar el volumen y concentración del esperma.

Camacho, J. y Morejon, E. (2000), manifiestan que el ritmo de recogidas debe de ajustarse a los márgenes de 3 a 7 días siendo adecuadas colectas cada 3 a 4 días en verracos adultos y 1 vez por semana en reproductores jóvenes de menos de 1 año de edad.

B. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SEMINAL

Mellisho, E. (2010), señala que el espermatozoide es una célula terminal, cuyo rol principal es el transporte de un paquete, constituido por el genoma nuclear y el centriolo, hasta el ovocito. Para realizar esta tarea, el espermatozoide está equipado con una batería de estructuras especializadas (una membrana plasmática que muestra áreas delimitadas, organelos con disposición específica tales como la vaina mitocondrial, y especializaciones de los mismos tales como el flagelo y el acrosoma) los que garantizan la interacción particular con el tracto genital femenino y el ovocito y sus envolturas.

Los autores Camacho, J. y Morejon, E. (2000), indican que la viabilidad celular espermática decrece rápido y substancialmente luego de la eyaculación.

1. Control macroscópico

Las muestras de semen se estudian en cuanto a sus características físicas:

volumen, color, olor, pH y viscosidad.

a. Volumen

Mellisho, E. (2010), reporta que el volumen varía según la edad, tamaño testicular, raza y el estado fisiológico de cada verraco, entre 50 a 150 ml de fracción espermática y un eyaculado de 250 ml, aproximadamente.

b. Color

Córdova, A y Muñoz, R. (2010), indican puede variar de un blanco cremoso a un blanco lechoso, pero en todo caso su apariencia ha de ser opaca, lo que indica una gran concentración de espermatozoides.

c. Olor

Camacho, J. y Morejón, E. (2005), exponen que el olor del semen del verraco es sui generis y se caracteriza por estar afectado ligeramente por las feromonas del aparato genital. El semen tiene su propio olor en el caso de estar contaminado por orina o secreciones prepuciales adquiere un olor muy fuerte característico.

d. pH

Camacho, J. y Morejon, E. (2000), reportan que el pH del eyaculado de un verraco depende de la proporción de constituyente aportado de las glándulas anexas.

Camacho, J. y Morejon, E. (2000), señalan que puede variar su valor por manipulación, tiempo, contaminación bacteriológica, concentración, etc. Debe medirse inmediatamente obtenido el semen. Para un eyaculado recién obtenido se admiten valores de 6,4 a 7,4.

e. Viscosidad

Córdova, A y Muñoz, R. (2010), manifiestan que la viscosidad del esperma del verraco varía dependiendo de las glándulas genitales de donde procede la secreción y de si estas poseen contenido en espermatozoides. Dentro de la fracción no gelatinosa, la viscosidad es proporcional a la concentración en espermatozoides.

2. Control microscópico

a. Motilidad

Eumedia, J. (2010), indica que es la valoración cuantitativa del movimiento de los espermatozoides. La observación de la motilidad deberá realizarse inmediatamente después de la recogida ya que los espermatozoides de ésta pierden rápidamente el movimiento al disminuir la temperatura, aunque sólo de forma transitoria, presentando acinesis. El observar las muestras por el microscopio para establecer la motilidad y ritmo de este, proporciona una medida efectiva del nivel de fertilidad de la muestra en particular. Identificando si el semen está en una buena calidad.

b. Motilidad en masa

Caicedo, G. y Pérez, M. (2002), señalan que luego de la recolección, se coloca en un porta objetos una gota de semen y se observa la microscopio con el lente de menor aumento, a temperatura de 25 a 35 °C, para lo cual hay que trabajar en platina calentable, sin utilizar cubre objetos. La motilidad en masa indica la concentración y viabilidad de las células espermáticas. Debe evaluarse en términos del “movimiento de ondas” fenómeno que se debe a la concentración y alta proporción de espermatozoos en movimiento activo. Muñoz y Paucar, (2005) reportan que la actividad del movimiento ondulatorio puede dividirse en 4 categorías:

- Muy bueno: torbellino intenso con ondas oscuras y claras.
- Bueno: ondas en torbellino más lentas, no tan intensas.
- Regular: movimiento lento con menos ondas.
- Malo: muy poca actividad en torbellino o ninguna.

c. Motilidad individual

Pérez, F. (2002), indica que para observar el movimiento individual de las células se mezcla una gota de semen con un pequeño volumen de una solución salina fisiológica y se observa al microscopio bajo un cubre objetos, con lente de gran aumento (40 X).

d. Concentración

Córdova, A y Muñoz, R. (2010), manifiestan que la concentración es la determinación del número de espermatozoides por unidad de volumen en el eyaculado. La valoración de este parámetro es fundamental, ya que junto con el volumen del eyaculado determinan el número de dosis seminales para la IA. Se emplean varios métodos, sin embargo, desde el punto de vista práctico, la técnica que aquí se describe es muy útil. La técnica se denomina recuento directo, en la cual se utiliza un hemocitómetro (cámara de Neubauer) y una pipeta de Thomas para glóbulos rojos. La solución utilizaza para la inmovilización de los espermatozoides está compuesta de citrato de sodio y formol al 3% en diluciones con el esperma de 1:200 ó 1:100.

Córdova, A y Muñoz, R. (2010), exponen que el conteo se realiza directamente en el microscopio contando los espermatozoides de cinco cuadros grandes del rayado de la cámara en ambos lados.

e. Morfoanomalías

Muñoz, E. y Paucar, F. (2005), expresan que el estudio de la forma del esperma

se lo realiza midiendo el porcentaje del esperma normal y anormal.

C. DILUYENTES DE SEMEN DE VERRACO

Los principios básicos de dilución y conservación son: sementales de óptima calidad, correcta evaluación de la calidad espermática, dilución y conservación adecuados de los eyaculados.

1. Concepto

Maqueda, L. (2006), señala que por diluyente entendemos a la solución acuosa que permite aumentar el volumen del eyaculado hasta conseguir las dosis necesarias y preservar las características funcionales de las células espermáticas manteniendo el nivel de fertilidad adecuado.

Lecoz, P. (2005), expone que 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 tracto genital femenino. En el eyaculado, esta actividad metabólica solo puede mantenerse durante un periodo de tiempo muy limitado.

Lecoz, P. (2005), reporta que para poder conservar los espermatozoides durante periodos 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.

Maqueda, L. (2006), manifiesta que las ventajas que aportan los diluyentes de larga duración son la posibilidad de transporte a largas distancias, permiten realizar pruebas diagnósticas sobre el semen antes de ser utilizadas, como pruebas mediante técnicas PCR (Polymerase Chain Reaction) para detectar la presencia de diversos virus o análisis completos de la calidad seminal, permite una mejor organización de las tareas en los centros de recogida seminal y facilita

en gran medida la distribución de las muestras a las granjas de reproducción. Que algunos de los factores a considerar en la elección del diluyente son la relación entre su precio y calidad, la temporada del año, así como el tiempo de transporte del semen y el tiempo que pasa entre la producción del mismo y la inseminación, aunque la vida media del semen también se ve afectada por factores como la calidad de semen, la frecuencia de recolección, la tasa de dilución y qué fracciones del semen se colectan.

2. Requisitos que debe cumplir un diluyente

Bonet, C. y et al, (2009), señala que los diluyentes deben cumplir dos objetivos principalmente: Aumentar el volumen del eyaculado, sin afectar la calidad seminal, para aumentar el número de inseminaciones.

Bonet, C. y et al, (2009), reporta que conservar la capacidad fecundante de los espermatozoides durante el mayor tiempo posible. Un diluyente permite la conservación de las células espermáticas por:

- Su aporte nutritivo (glucosa).
- Su capacidad tampón (bicarbonato sódico, citrato sódico, TRIS).
- El control de los parámetros físico-químicos (presión osmótica, pH, pK y fuerza iónica de interacción con el espermatozoide y plasma seminal).
- La captación de iones Ca^{++} , Mg^{++} y Zn^{++} (sustancias quelantes como el Etilen Disódico Diamino Tetraacetato - EDTA).
- El control en la precipitación de las proteínas.
- El control de la acción enzimática sobre el semen.
- El control que ejerce sobre el metabolismo de la célula espermática y la preservación de su membrana, y su control sobre la contaminación.
- La adición de antibióticos (penicilina estreptomicina, gentamicina, etc.) a los diluyentes es esencial para controlar el crecimiento bacteriano en el esperma de verraco.

3. Componentes de los diluyentes

Los diluyentes de semen normalmente contienen:

a. Nutrientes

Maqueda, L. (2006), manifiesta que el espermatozoide tiene capacidad de producir la energía necesaria para mantener su metabolismo celular y generar el movimiento del flagelo, principalmente a través de las vías glicolíticas. Estos procesos se desarrollan en las mitocondrias localizadas en la porción intermedia del espermatozoide. La fuente de energía más frecuentemente utilizada en la composición de los diluyentes es la glucosa, aunque otras fuentes como galactosa, fructosa, ribosa y trealosa han sido utilizadas sin tener muchas ventajas sobre la glucosa.

b. Buffers

Maqueda, L. (2006), indica que el pH del semen recién eyaculado se encuentra próximo a 7.4 ± 0.2 , al igual que otros fluidos orgánicos, y cuando se reduce este pH al mismo tiempo se reduce el metabolismo energético del espermatozoide y su motilidad. El metabolismo glicolítico que desarrolla el espermatozoide (carbohidrato principal es glucosa) hace que el pH intracelular disminuya y el metabolismo celular quede reducido. El ácido láctico es el principal metabolito de este proceso, por lo que las sustancias buffer son necesarias en la preservación del semen ayudando a controlar el pH.

c. Electrolitos

Según el autor Maqueda, L. (2006), reporta que en los verracos el plasma seminal se encuentra con una presión osmótica de 290-325 mOsm, y es capaz de tolerar un rango de presiones osmóticas bastante amplio (240-380 mOsm). Diversos

estudios han evaluado la tolerancia a diversas presiones osmóticas, llegando a la conclusión que ni la motilidad ni la viabilidad espermática se ve afectada por la presión osmótica en rangos comprendidos entre 250 y 290 mOsm, mientras que cuando se reduce por debajo de 200 mOsm se detecta una reducción significativa de la motilidad.

d. Antibióticos

Según el autor Gadea, J. (2004), señala que en la mayoría de los casos el tejido testicular y las glándulas accesorias del verraco están libres de bacterias y por tanto la contaminación bacteriana del eyaculado se produce durante el proceso de recogida seminal. Para controlar el crecimiento microbiano en el diluyente es necesario añadir un agente antibiótico, ya que los componentes del diluyente (glucosa) así como la temperatura a las que se conservan las dosis (15-16°C), permiten el crecimiento de la mayoría de bacterias gram negativas entre las que se incluyen (E. Coli, Salmonella y Pseudomonas).

Según Althouse, G. (2000), reporta la contaminación bacteriana principalmente produce una serie de alteraciones entre las que se encuentra una disminución de la motilidad, aglutinaciones espermáticas, aumento del porcentaje de acrosomas alterados y una reducción del pH hasta niveles ácidos (5,7-6.4).

Almond, G. (2002), expresa que conducen a una reducción en el tiempo de conservación de las dosis seminales. Por tanto, la adición del antibiótico en la adecuada concentración favorecerá la supervivencia espermática y se incrementarán los resultados de fertilidad. Además, de la aplicación del antibiótico adecuado en la concentración necesaria, se puede hacer un gran avance en este sentido si se mejoran las condiciones higiénicas en las que se produce la recogida seminal y el procesado de las dosis seminales.

Gadea, J. (2004), indica que la adición de penicilina y estreptomina (1 g/L) fue en un principio la combinación más utilizada, posteriormente se han utilizado con

éxito aminoglucósidos, entre los que se encuentra la gentamicina, neomicina y la kanamicina, en concentraciones próximas a los 200 mg/L. Últimamente, se está aplicando una nueva generación de antibióticos (ceftiofur, apramycina, etc), sin que tengamos aún resultados concluyentes sobre su uso. A nivel normativo hay dos referencias fundamentales, la Oficina Internacional de Epizootias (OIE) y la Unión Europea (UE).

La OIE regula, en su código internacional de sanidad animal (2001), señala que las condiciones aplicables a los diluyentes. Básicamente aconseja que cuando en los diluyentes se encuentre como componente la leche, la yema de huevo o cualquier otra proteína de origen animal, estos productos deben estar libres de patógenos o esterilizados. Así mismo se permite la adición de antibióticos siempre que sean declarados en los certificados veterinarios internacionales.

Por otra parte, en el ámbito de la Unión Europea, la Directiva 90/429/CEE del Consejo, que regula las normas de policía sanitaria aplicables a los intercambios intracomunitarios y a las importaciones de esperma de animales de la especie porcina. Regula que se deberá utilizar una combinación de antibióticos, eficaces en particular contra los leptospiras y los micoplasmas. Dicha concentración deberá tener al menos un efecto equivalente a las concentraciones siguientes: mínimo: 500 UI de estreptomina por mililitro, 500 UI de penicilina por mililitro, 150 mg de lincomicina por mililitro, 300 mg de espectinomicina por mililitro. En esta misma normativa se indica que inmediatamente después de añadir los antibióticos se deberá conservar el esperma diluido a una temperatura de al menos 15°C durante 45 minutos como mínimo.

e. Estabilizadores de membrana

Maqueda, J. (2006), manifiesta que se adicionan con el fin de prevenir o retardar alteraciones no deseadas en la estructura y la función de las membranas de los espermatozoides. Las principales sustancias utilizadas son sero albúmina bovina (BSA), hidroxitolueno butilado (BTH), etilén disódico diamino tetraacetato (EDTA),

polivinilpirrolidona (PVP-40), y alcohol polivinílico.

Según Agrovit, (2008), expresa que la diversidad de fórmulas, comprobadas con buenos resultados para diluir y conservar el semen durante varios días permiten garantizar la capacidad fecundante del eyaculado; sin embargo, no resulta suficiente sólo conocer las formulaciones, en ocasiones la mala preparación del diluyente bien sea por error en el pesaje de reactivos, utilización de productos de mala calidad incluyendo agua

4. Tipos de diluyentes

Agrovit, (2008), señala que considerando 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), o aquellos que tienen por objetivo la conservación a largo plazo (más de 4 días hasta los 10 días), para mantener un semen en refrigeración y también existen para los de congelación.

Los primeros se utilizan principalmente en estructuras de distribución de las dosis seminales a corta distancia (propias de los sistemas europeos, donde la producción de dosis seminales en la misma granja es frecuente); mientras que, los de largo plazo son propios de estructuras como las presentes en los USA o Noruega donde la distancia entre el lugar de producción seminal y el lugar donde va a ser utilizado es grande.

a. Diluyentes de colección seminal (Dipol)

La empresa Magapor, (2012), ha desarrollado el concepto DIPOL, un diluyente de recogida específicamente indicado para la higienización rápida del eyaculado y el control de la contaminación bacteriana, previo a la dilución final con los diluyentes habituales.

Mena, J. (2012), señala que la contaminación bacteriana es un hecho indeseado que se produce en los eyaculados de verraco de forma natural, que afecta a la calidad seminal. Para controlar ese crecimiento bacteriano, muchos centros de inseminación artificial utilizan diluyentes que, en su composición, incorporan antibióticos, pero cuyos efectos no son suficientes.

Mena, J. (2012), reporta que el DIPOL garantiza la higiene, seguridad y productividad de los eyaculados, controlando la contaminación y representa una alternativa práctica como diluyente de recogida de semen porcino, este diluyente de recolección, está compuesto principalmente de antibióticos de amplio espectro, que protegen a los espermatozoides, consecuentemente se logra obtener una mayor tasa de fertilidad y mayores rendimientos económicos.

Este tipo de diluyente de recolección tiene como finalidad de eliminar bacterias que se van a desarrollar durante la conservación del semen refrigerado por 7 días que tiene la duración del diluyente convencional.

(1). Composición

Mena, J. (2012), expone que el Dipol, no contiene sustancias de origen animal, pero si un aporte importante de electrolitos, azúcares y antibióticos.

Según la directiva Europea 90/429/CEE, cuya concentración tiene un efecto equivalente a un mínimo de: 500 UI de estreptomicina por mililitro, 500 UI de penicilina por mililitro, 150 mg de lincomicina por mililitro, 300 mg de espectinomicina por mililitro, particularmente eficaces contra los Leptospiras y los Micoplasmas.

(2). Modo de empleo

Según Mena, J. 2012 indica cómo se debe emplear el dipol como diluyente de recolección:

- Se debe diluir el contenido de un sobre de Dipol en 1 lt de agua bidestilada.
- Realizar la extracción sobre el diluyente de recogida.
- El efecto de higienización desde la eyaculación y se prolonga durante el tiempo previo a la dilución final. Es tiempo-dependiente consiguiendo resultados máximos a los 40 minutos, una vez reconstituido, almacenar a 15°C.

b. Diluyentes de conservación seminal

Según Almond, G. y Poolperm, P. (2002), reportan que los primeros diluyentes rusos estaban basados en soluciones de glucosa con tartrato de sodio o potasio o sulfato sódico y peptonas, manteniendo en cualquier caso bajos niveles de electrolitos. Posteriormente en la década de los 50, se produjo el desarrollo de los diluyentes para el ganado bovino, basados en yema de huevo con fosfato o citrato y leche, y se hicieron algunas adaptaciones para conservar semen porcino.

Según Almond, G. y Poolperm, P. (2002), reporta que de entre todos, cabe destacar la adaptación del diluyente Illinois Variable Temperature que se utilizaba para la conservación de semen en el ganado vacuno a temperatura ambiente.

Gadea, J. (2004), señala que este IVT medio está basado en una solución de glucosa, citrato, bicarbonato y yema de huevo, pero necesitaba ser gaseado con CO₂ para reducir la actividad metabólica,

(1). Diluyentes de corta duración

Hernández, C. (2012), indica que se utilizan principalmente en donde la distribución de las dosis seminales es corta distancia, este tipo de diluyente dura de 1-3 días. Ventajas: una de las principales ventajas es bajo costo en su preparación y se obtienen resultados reproductivos similares, se utiliza una concentración espermática baja con relación a la monta natural, permitiendo con esto realizar más inseminaciones con una sola recolección. Desventajas: corta duración de la viabilidad espermática.

(2). Diluyentes de larga duración

Gadea, J. (2004), expone que las ventajas que aportan los diluyentes de larga duración son la posibilidad de transporte a largas distancias, permiten realizar pruebas diagnósticas sobre el semen antes de ser utilizadas, como pruebas mediante técnicas PCR (Polymerase Chain Reaction) para detectar la presencia de diversos virus o análisis completos de la calidad seminal, permite una mejor organización de las tareas en los centros de recogida seminal y facilita en gran medida la distribución de las muestras a las granjas de reproducción. El primero de los diluyentes de los denominados de larga duración fue el Zorlesco, que se caracteriza por ser un medio bastante más complejo, con la adición de TRIS como regulador del pH, albúmina sérica bovina (BSA) y cisteína en su composición.

Johnson, L. (2000), reporta Esta cisteína (como otros compuestos con grupos sulfhidrilo) permitiría estabilizar las membranas e inhibir el proceso de capacitación.

Gadea, J. (2004), indica que la utilización de este diluyente en condiciones de campo no produjo unos resultados satisfactorios, en parte debido a desequilibrios en su composición que suponen una presión osmótica final reducida. En los últimos años han aparecido nuevos diluyentes (Acromax, X-Cell, Androhep Plus, Vital, SpermAid, Mulberry III, etc) que se encuadran dentro del grupo de larga duración. Lamentablemente, la composición cuantitativa de estos medios no es conocida, ya que está protegida por razones comerciales y, aunque no dudamos de las bondades de estos diluyentes, hasta el momento se dispone de escasa información de los resultados de fertilidad en estudios comparativos realizados por centros independientes, por tanto deberemos esperar hasta que esta información se haga pública.

(3). Diluyentes para congelación de esperma porcino

Johnson, L. (2000), reporta que en cuanto a los diluyentes empleados en los

procesos de congelación del semen porcino hemos de decir que están basados en la utilización de la yema de huevo y glicerol como agentes crioprotectores, una concentración elevada de azúcares y la adición de un agente detergente.

De los diluyentes utilizados destacamos el medio lactosa - yema de huevo que es el más frecuentemente empleado y el descrito por Johnson, L. (2000), denominado BF-5, en cuya composición se incluye glucosa, yema de huevo y Tris como agente regulador del pH, que se utiliza en los procesos de congelación en píldoras (pellets) sobre nieve carbónica.

D. DILUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL SEMEN

Pérez, F. (2002), señala que la dilución del espermatozoide persigue el aumento del volumen eyaculado y en consecuencia el rendimiento de este en la inseminación artificial, sin perder la bondad del mismo, los métodos diluyos conservadores son interesantes al pretender aumentar el volumen del material recolectado y, al mismo tiempo, rodean a los zoospermos de condiciones óptimas para el mantenimiento de la vitalidad y capacidad fecundante a través del tiempo.

Basadona, D. y Cuenca, L. (2008), expresan que los medios artificiales diluyos conservadores deben proporcionar a los espermatozoides el material energético adecuado para la conservación de la vitalidad espermática, las condiciones biofísicas necesarias para la persistencia de aquellos en el medio líquido sin peligro de precipitación, regulando además, la presión osmótica, manteniendo el pH y la no modificación de la carga eléctrica en los zoospermos, como condiciones fundamentales.

1. Factores que alteran a los espermatozoides

Basadona, D. y Cuenca, L. (2008), indica que los factores que pueden alterar o dañar a los espermatozoides son:

a. Oxígeno

Es un factor que provoca excitación en los espermatozoides, que hace se muevan, con lo que el movimiento los agota, elimina sus reservas y estos mueren.

b. Temperatura

El espermatozoide sale a una T° aproximada de 37°C . De ahí para abajo se conserva bien; si bajamos hasta la congelación el aguante depende de la especie; en porcinos es de 12 a 15°C . Pero un T° de 42°C para arriba destruye totalmente a los espermatozoides, pues sus estructuras proteicas se coagulan.

c. Acción de sustancias químicas

Pueden provocar el llamado shock químico. Estas sustancias pueden estar como residuos en aparatos recolectores, que parece que puedan estar limpios, pero luego aparecen y reaccionan.

d. Luz

La luz intensa, sobre todo el rayo de sol directo, debido al contenido de infrarrojos elimina los espermatozoides.

La luz intensa activa al espermatozoide igual que el oxígeno, con lo que se fatiga y muere.

e. pH

Un pH alcalino provoca una excitación igual que el oxígeno. Un pH ácido paraliza al espermatozoide.

f. Características del agua

Se recomienda el uso del agua biodestillada sin agentes pirógenos. El agua de uso corriente es muy dañina.

Pérez, F. (2002), manifiesta que es muy recomendable antes de llevar al área de inseminación las dosis seminales tomar muestras al azar, atemperar y observar en el microscopio para determinar la calidad y motilidad del semen, cuando se va a usar semen de 3 días es mejor verificar cada una de las dosis seminales.

2. Conservación del semen diluido

Pérez, F. (2002), reporta que se entiende como semen conservado aquel que puede ser conservado al menos un día después de su recogida, mientras que el semen fresco se utiliza diluido o no, inmediatamente después de haber sido recogido, manteniéndose a una temperatura de 37 ° C hasta el momento de la inseminación.

Camacho, D. y Morejon, E. (2000), señalan que la temperatura óptima para la conservación 15 a 20 °C en un medio salino. El mayor éxito se alcanza en el acondicionamiento de un refrigerador tipo servidor que con un buen termostato conservan adecuadamente la temperatura. El almacenamiento se lo hace en frascos de cristal de 550 ml, en bolsas recolectoras de semen de polietileno o frascos de polietileno de 100 ml.

El semen de verraco por más de dos a tres horas, es necesario añadir al esperma un medio que equilibre la acción de las sustancias del plasma seminal, manteniendo las células en condiciones de inactividad metabólica, tal como se encontraban en el epidídimo, para poder recuperar posteriormente su actividad en el momento de la inseminación.

Basadona, D. y Cuenca, L. (2008), indican que tomaremos en cuenta los siguientes parámetros:

a. Fuerza iónica

Basadona, D. y Cuenca, L. (2008), expresan que teniendo en cuenta que en el plasma seminal hay una concentración iónica alta estimulante del metabolismo celular, el primer punto a considerar es evitar la mayor cantidad posible de plasma seminal.

Según Basadona, D. y Cuenca, L. (2008), indican en segundo lugar el medio de conservación deberá tener poca fuerza iónica, incrementándose únicamente con sustancias cuya intervención en el medio es necesaria para la conservación de las células.

b. Presión osmótica

Según Basadona, D. y Cuenca, L. (2008), señalan la presión osmótica normal del plasma seminal del verraco es de 290 a 325 Osm. Es recomendable que los diluyentes sean isotónicos o ligeramente hipertónicos.

c. pH

Según Basadona, D. y Cuenca, L. (2008), manifiestan que conviene que sea ligeramente ácido por dos motivos, el primero es debido a que el metabolismo celular es menos activo y el segundo porque se produce la disociación del bicarbonato en CO que actúa como inhibidor del metabolismo oxidativo.

d. Composición

Según Basadona, D. y Cuenca, L. (2008), expresan que las sustancias que

componen el diluyente deben cumplir las necesidades fisiológicas de la célula para favorecer su mantenimiento.

e. Título de la dilución

Lecoz, M. (2005), expone que el título de la dilución es fundamental; si por una parte hemos considerado importante la calidad del medio, también lo es el equilibrio con las sales del plasma para favorecer tanto la conservación como la recuperación de las células.

f. Velocidad de enfriamiento

Camacho, D. y Morejon, E. (2000), señalan que es muy importante que la célula pueda recubrirse con las sustancias lipoproteicas del plasma seminal y de esta manera soportar mejor la temperatura de conservación. Para ello el ritmo de descenso de la temperatura debe ser muy lento durante las 4 ó 5 primeras horas.

g. Temperatura de conservación

Basadona, D. y Cuenca, L. (2008), expresan que para disminuir el metabolismo del semen recurrimos a descender la temperatura, quedando de manifiesto que a menos de 20 ° C, las células quedan paulatinamente en anabiosis. Hay un punto crítico entre los 15 y 10 ° C que las células no son capaces de soportar; produciendo lesiones irreversibles al acrosoma.

h. Sustancias bactericidas

Según indica, Pérez, F. (2002), la proliferación de gérmenes es uno de los problemas que inciden en la conservación y para evitarla se utiliza la adición de antibióticos y sulfamidas. Si encontramos con la contaminación de bacterias las dosis seminales puede bajar la fertilidad de las cerdas, o también causar

problemas infecciosos locales, como también pueden llegar a ser hasta los problemas sistemáticos.

E. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

Juan, D. (2011), expresa que la Inseminación artificial en el ganado porcino es una técnica que ha aumentado enormemente su utilización debido a la notable mejora del valor genético de las pjaras, mejorando algunas características productivas como lo son: cerdos más prolíficos, mejor precocidad, mejor conversión, menor capa de grasa y carne de mejor calidad. Pero así mismo, para alcanzar estas características de alta producción se debe tener en cuenta factores de gran relevancia en los programas de inseminación artificial, que en algunos casos son despreciados, como la correcta recolección de semen, programar el procedimiento a intervalos óptimos, preparación sexual del verraco entrenado y la correcta técnica de recolección.

INTA, (2003), manifiesta que la inseminación artificial es una técnica que permite incorporar germoplasma de alto valor genético a un costo relativamente bajo y al mismo tiempo reducir el riesgo de introducción de enfermedades en el criadero.

1. Detección de estro

Agrovit, (2008), señala que la importancia de la detección del celo en el sistema de IA no debe ser sobrestimado. Es absolutamente vital para el éxito de cada inseminación que el productor sea exacto en la estimación del inicio del estro. Es más efectivo detectar el estro dos veces al día que una sola vez, a pesar de que se consuma más tiempo y mano de obra. El problema que se presenta con la doble detección diaria es que solamente se pueden obtener beneficios si ambos chequeos se realizan correctamente.

Agrovit. (2008), expone que la frecuencia de la detección del estro determinará la exactitud de la estimación de su iniciación. Para que sea más eficiente la

detección debe hacerse a primera hora de la mañana, antes de la alimentación de las cerdas y por lo menos una hora después. Si esto no es posible, la tarde o el anochecer puede servir, si la temperatura ambiental no es muy alta. El principio es realizar la detección del estro cuando las lechonas o las cerdas adultas no estén distraídas o frustradas.

Villa, M. (2005), indica es más efectivo detectar el estro dos veces al día que una sola vez, a pesar de que se consuma más tiempo y mano de obra. El problema que se presenta con la doble detección diaria es que solamente se pueden obtener beneficios si ambos chequeos se realizan correctamente y separados por 12 horas aproximadamente.

2. Pasos para inseminación artificial

Llovera, M. (2009), manifiesta que para realizar la inseminación artificial con éxito, debemos seguir los siguientes pasos:

- Presionar la grupa de la cerda. Tome de la caja de poliestireno expandido, solamente la dosis de semen a utilizar y colóquela en el bolsillo al abrigo de la luz. La misma puede ser calentada a 34 – 35 °C durante 10 minutos.
- Limpie la vulva con gasa y agua destilada, abra los labios vulvares e introduzca el catéter previamente lubricado con unas gotas de semen o lubricador.
- Existen distintos tipos de catéteres: pipetas descartables tipo "tirabuzón" o "esponja" y de goma llamada pipeta de Melrose.
- La limpieza del material debe ser realizada con agua. No deben usarse jabones, detergentes, ni desinfectantes.

- Desplace suavemente la pipeta hacia adelante y arriba dirigiéndola hacia la columna vertebral.
- Cuando la misma toque el cervix uterino rote la pipeta en el sentido contrario a las agujas del reloj para que el extremo del mismo quede trabado en los pliegues del cuello uterino, que se encuentran turgentes y facilitan el sellado perfecto del catéter, acople el frasco al extremo libre del catéter introduciendo lentamente el contenido.

Llovera, M. (2009), reparta que en las cerdas destetadas el contenido desciende fácilmente por gravedad, en las cachorras a veces es necesario una ligera presión.

Llovera, M. (2009), señala que el vaciando el contenido y teniendo cuidado de no introducir aire, desacople el frasco, gire la pipeta en el sentido de las agujas del reloj y retire el catéter suavemente. La duración de la siembra debe ser entre 5 y 10 minutos.

- No introduzca nunca aire en el tracto vaginal.
- Si observara pérdida de semen, desacople el catéter y comience nuevamente.
- Por cada siembra utilice 1 catéter.
- La técnica de siembra rápida (1 minuto) da resultados pobres.
- Cuando trabaje con pipetas de Melrose lávelas inmediatamente cuando finalice la siembra, y esterilícelas. No use nunca productos químicos.
- Transporte al lugar donde realizará la siembra únicamente las dosis a utilizar para evitar muerte espermática en las otras.
- Anote cada siembra realizada (día, número de macho, raza y si hubiese alguna observación, por ejemplo sangre en el extremo de la pipeta).
- Dirija siempre la pipeta hacia la columna para evitar el ingreso a la uretra y aumentar su efectividad.
- Luego de la siembra la cerda debe permanecer tranquila.

- Cualquiera sea la metodología utilizada la siembra debe ser atraumática, higiénica y lo más parecida a la monta natural.

3. Factores que afectan a la fertilidad y prolificidad en el ganado porcino

Según el autor Pallás, R. (2012), manifiesta que tanto la prolificidad como la fertilidad son los parámetros reproductivos más importantes que repercuten directamente en la rentabilidad de una explotación, tanto es así que son considerados factores primarios de producción. El límite máximo teórico del tamaño de camada es el número de oocitos liberados en un ciclo sexual, siendo más correcto hablar de oocitos fecundados.

Según el autor, Pallás, R. (2012), expresa que el tamaño final de camada normalmente, y salvo excepciones, no está fuertemente determinado por la tasa de ovulación, ya que, en general, la cerda produce muchos más óvulos de los que es capaz de mantener como embriones viables a lo largo de la gestación, siendo muy alta, además, la tasa de fertilidad con semen procedente de verracos normales (90 - 100%).

Pallás, R. (2012), manifiesta que la fertilidad y prolificidad son dos parámetros directamente relacionados, de forma que, aunque con las excepciones que confirman la regla, buenas tasas de fertilidad vienen acompañadas generalmente de alta prolificidad, y por el contrario, bajas fertilidades aparecen con camadas poco numerosas y desiguales en número. De tal forma que podemos afirmar que la producción numérica de una explotación depende directamente en primera instancia de ambos factores.

a. Factores que afectan a la fertilidad

Pallás, R. (2012), señala que dentro de este parámetro se encuentran los principales factores:

(1). Momento de inseminación con respecto a la ovulación.

Los resultados de fertilidad y prolificidad varían notablemente en función de lo cerca o lejos que se realice la inseminación del momento de ovulación. A este respecto hay que hacer las siguientes consideraciones nos indica el autor, Pallás, R. (2012):

- En general, y para aproximadamente el 70 % de las cerdas, la duración del estro es de 48 -72 horas, iniciándose el reflejo de inmovilidad frente al verraco en cualquier momento entre 2 y 25 horas desde el primer signo externo del celo. Otro 15 % de las cerdas presentan celos de menos de 40 horas y el otro 15 % de más de 72 h.
- Las sucesivas investigaciones han demostrado que hay muy poca ovulación antes de las 24 horas primeras después de la aparición del reflejo de inmovilidad, produciéndose la máxima ovulación aproximadamente 36 - 44 horas después del inicio de la inmovilización
- Los ovocitos tienen una vida limitada tras la ovulación, entre 10 y 20 horas, y deben entrar en contacto con los espermatozoides inmediatamente después de la misma o en las 8 horas siguientes.
- Los espermatozoides necesitan estar entre 4 y 6 horas en el tracto reproductivo de la hembra antes de poder fecundar algún óvulo, periodo denominado capacitación espermática.
- La vida del semen de verraco después de la cubrición es de alrededor de 24 horas, pudiendo ser fecundados los óvulos entre 6 y 24 horas después de la cubrición. Por lo tanto, el mejor momento para una inseminación simple sería entre 12 y 16 horas después de iniciado el primer reflejo de inmovilidad.

- Realizar cubriciones antes de las 6 primeras horas desde que la cerda comenzó la inmovilización puede resultar en un tamaño menor de camada, dado que esta cubrición podría no ser efectiva en el período de ovulación.
- En el otro extremo, realizar la cubrición demasiado tarde en el segundo día del reflejo de inmovilidad podría no solamente aumentar la dificultad en cubrir a una cerda que ha perdido la fase de estro.
- Todo régimen de cubriciones debe tener en cuenta estos factores y asegurarse de que el útero contiene espermatozoides viables antes y durante la ovulación.
- El período óptimo se inicia 12 horas antes de la ovulación, por lo que un inadecuado momento de cubrición puede dar como resultado un fracaso total en la concepción, es decir, una repetición cíclica.
- Por otro lado el factor determinante de la duración del celo y por lo tanto del momento de la ovulación es el intervalo destete-cubrición, de tal forma que se ha demostrado que animales que salen en celo antes del 4^o día presentan celos muy largos, los que salen en celo entre el 4^o y 7^o día presentan celos normales de 56 a 72 horas.

(2). Calidad Seminal

Pallás, R. (2012), reporta que dentro del apartado de calidad seminal se pueden incluir tanto las morfoanomalías y los acrosomas como la pérdida de vitalidad de los espermatozoides a lo largo del proceso de conservación. El natural proceso de envejecimiento de los espermatozoides que se produce a lo largo de la conservación también determina que las producciones se resientan cuando se utiliza un semen refrigerado transcurrido cierto tiempo. (Pallás, R. 2012).

Si bien esto es cierto, hay que considerar que existen enormes diferencias entre individuos, razas y distintas genéticas y cruzamientos, influyendo enormemente el tipo de diluyente utilizado, la calidad del agua y de los materiales usados en la preparación de las dosis, la cantidad de espermatozoides por dosis, el proceso de elaboración (homogeneidad de las temperaturas, contaminación, etc.) y la edad y ritmo de recogida del verraco.

Pallás, R. (2012), expone que normalmente, los machos con un alto porcentaje de formas anormales o de acrosomas dañados ven menguados sus resultados productivos especialmente a partir del 4^a día de conservación. Como norma general no se deberían utilizar dosis seminales con menos del 70 % de espermatozoides viables o con un porcentaje inferior al 70 % de acrosomas normales. En la actualidad existen pruebas laboratoriales sencillas en las que se ha visto una correlación alta con los resultados de fertilidad y prolificidad, tales como son el ORT o Test de Resistencia Osmótica y el HOST o Test de Endósmosis. En general, la calidad de las dosis seminales preparadas en los centros de inseminación es bastante adecuada, de tal forma que el efecto del macho en la prolificidad queda limitado a su influencia sobre las reabsorciones embrionarias, como se verá más adelante.

(3). Condición corporal

Dentro de esto encontramos los siguientes parámetros indica el autor, Pallás, R. (2012):

- Estado de carnes: Este es un factor importante a la hora de garantizar una buena ovulación, ya que las cerdas no deberán estar ni demasiado gordas ni demasiado flacas, pues un animal con el ovario engrasado verá reducida su tasa de ovulación o incluso anulada, ocurriendo lo mismo con un animal extremadamente delgado que podrá, incluso, llegar a perder la función reproductora.

- Estado fisiológico: Este aspecto hace referencia al predominio anabólico o catabólico en el animal en el momento de la ovulación. Así, cerdas en las que se deja pasar un celo se recuperan del catabolismo y presentan tasas de ovulación superiores.

Este hecho resulta especialmente notorio en aquellos individuos cuyo equilibrio energético se ve especialmente comprometido, como es el caso de las cerdas de primer y segundo parto.

(4). Manejo

Según el autor, Pallás, R. (2012), expresa que también los factores de manejo son importantes a la hora de controlar las reabsorciones embrionarias, influyendo tanto en la fertilidad y prolificidad. El hecho de subalimentar a la cerda hasta el momento de la cubrición o de administrarle un exceso de energía durante el primer tercio de la gestación, sobre todo a las primerizas, se asocian con incrementos en el porcentaje de reabsorciones embrionarias, por lo que ambos manejos deben ser rechazados de nuestras explotaciones.

Pallás, R. (2012), expone que eficiencias de calcio, fósforo, vitamina A, E, zinc, cobre, yodo, etc. y otros micronutrientes también originan pérdidas de fertilidad y prolificidad.

(5). Estrés

Es de sobra conocido el importante papel que juegan los factores de estrés en cuanto al mantenimiento de unos buenos parámetros reproductivos, siendo necesario limitar al máximo la acción de aquellos factores estresantes que más se dejan notar a nivel reproductivo, indica el autor, Pallás, R. (2012), como son:

- Temperatura: El estrés térmico constituye uno de los factores más importantes a tener en cuenta, puesto que afecta tanto a la fertilidad como a la prolificidad, y tanto al macho como la hembra. En este sentido, la espermatogénesis se ve influenciada negativamente a partir de los 29°C y temperaturas superiores a los 30°C incrementan también los porcentajes de reabsorción embrionaria. La utilización de sistemas de refrigeración tanto en el caso de los machos como en las gestaciones son inversiones que se recuperan con facilidad.
- Sistemas de alimentación: La alimentación automática, por el hecho de permitir que todos los animales coman al mismo tiempo, elimina un factor estresante importante.
- Sistemas de sujeción en gestación con collera o cincha: Con cualquiera de estos sistemas de sujeción la cerda se encuentra bastante incomoda que le lleva a un estado de estrés permanente. Además, numerosas cerdas se sueltan molestando a las demás.
- Macho: La presencia del macho con las cerdas durante demasiado tiempo parece representar más un factor de estrés negativo que un estímulo.
- Movimiento: En general, hay que evitar cualquier manejo (vacunaciones, por ejemplo) o movimiento antes de los 35-40 días de gestación. Agrupamiento de animales después de la cubrición: Esta práctica incrementa el porcentaje de reabsorciones y repeticiones, sobre todo si se alimentan con tolva.
- Vacunaciones cercanas a la cubrición: La posible reacción febril, y el estrés del manejo perjudican la salida a celo y disminuyen la tasa de ovulación.
- Cubriciones en potro o con lazo: Afortunadamente prácticas en desuso que originan un gran estrés en la hembra en el momento de la cubrición alterando los mecanismos hormonales que rigen la ovulación.

- **Cojeras:** La presencia en la granja de alto número de hembras con problemas de aplomos, cojeras o lesiones en las pezuñas empeora sensiblemente el resultado reproductivo de la explotación. Las citoquinas liberadas durante cualquier proceso de inflamación y daño tisular interfieren la regulación hormonal del proceso reproductivo.

b. Factores que afectan a la prolificidad

Dentro de este parámetro se encuentran los principales factores, indica el autor, Pallás, R. (2012):

(1). Tasa de ovulación

Podemos definir la tasa de ovulación como el número de óvulos que se desprenden del ovario y que desarrollan un cuerpo lúteo. Este valor depende de gran cantidad de factores, siendo los principales:

- **Edad y ciclo:** En general, las menores tasas de ovulación se asocian a cerdas nulíparas aunque se ven incrementadas con la edad. La primera ovulación es numéricamente la más corta, mejorando los resultados en la segunda y en la tercera para estabilizarse a partir de este momento. En líneas generales podemos decir que una cerda primeriza libera entre 15 y 20 óvulos y una cerda múltipara entre 20 y 25, aunque en ambos casos encontramos enormes variaciones individuales.
- Está demostrado que el tamaño de camada en primerizas y posteriormente a lo largo de toda su vida productiva, está influido por la edad en el momento de la primera cubrición así como por el número de celos antes de la concepción. El efecto sobre la prolificidad del número de celos previos a la primera concepción se explica por la elongación del aparato genital de la hembra nulípara tras cada celo, lo que determina un mayor espacio uterino y por lo

tanto una menor reabsorción embrionaria, más que por el aumento de la tasa de ovulación

- Línea genética: No todas las líneas genéticas comerciales tienen las mismas tasas de ovulación, dependiendo de las razas que componen la F-1, el tipo de cruce etc. Esto determina, además, distinta precocidad en la pubertad, generalmente en todas bastante temprana. En la actualidad, la gran mayoría de las casas comerciales disponen de líneas de cerdas hiperprolíficas, obtenidas de diversas formas: cruces con razas chinas, esquemas de selección por hiperprolificidad, selección por BLUP de prolificidad, etc.

(2). Tasa de fecundación

Por tasa de fecundación entendemos el porcentaje de óvulos fecundados o de embriones en relación al número de cuerpos lúteos presentes en los ovarios. Este valor depende directamente de la sincronización entre la inseminación y ovulación y, en menor medida si nos movemos dentro de parámetros normales, de la cantidad y calidad d los espermatozoides.

En general, cuanto mayor es el número de espermatozoides accesorios, es decir, de espermatozoides que se encuentran adheridos a la zona pelúcida una vez que uno de ellos ha penetrado en el interior del óvulo, mayor suele ser la tasa de fecundación, estando esto íntimamente ligado a la optimización del intervalo entre la inseminación y la ovulación.

Según hemos explicado en el apartado, momento de la inseminación con respecto a la ovulación, los mejores resultados de fecundación se obtienen cuando se insemina entre 12 y 6 horas antes del inicio de la ovulación. Lógicamente, también resulta importante el número de espermatozoides, sobre todo cuando hablamos de inseminación artificial y tanto más cuanto más nos alejamos del momento de la ovulación, ya que hay que tener en cuenta que con monta natural la hembra recibe entre 50×10^9 y 120×10^9 espermatozoides, lo

que es entre 15 y 40 veces superior a lo que ocurre cuando se trata de inseminación artificial. De todas formas, se ha demostrado que dosis seminales de más de 3,000 millones de espermatozoides totales no producen mejores tasas de fertilidad y prolificidad, siendo la tendencia actual a disminuir el número de espermatozoides por dosis hasta 2,500 o incluso 2,000 millones, lo que hace que se tengan que mejorar las técnicas de recela en granja y de inseminación para asegurar un número suficiente de espermatozoides en la unión útero-tubal antes de producirse la fecundación de los óvulos.

(3). Reabsorción embrionaria

Se denomina reabsorción embrionaria a la reducción o pérdida de embriones durante su desarrollo en el claustro materno. Si esta muerte embrionaria se produce antes del día 35 en que comienza la fijación del calcio en el esqueleto fetal, los tejidos blandos son reabsorbidos continuando la cerda gestante si mantiene algún embrión más o saliendo a celo si los ha perdido todos o quedando en anestro. Si el embrión muere después del día 35, normalmente en el momento del parto aparecen fetos macerados o momificados.

Algunos autores limitan esta fase de pérdidas embrionarias a las fases previas a la implantación, unos 10-12 días post-fecundación. Sin embargo, para la mayoría, es correcto hablar de mortalidad embrionaria en cualquier fase que vaya desde la fecundación hasta el momento del nacimiento. En el ganado porcino tenemos que tener mucho cuidado porque estas pérdidas tan valiosas, son bastante considerables pudiendo variar de un 20 a un 45 %.

La mayoría de la mortalidad embrionaria en el ganado porcino sucede durante períodos críticos en el desarrollo del producto de la gestación, estos períodos son: Antes del momento de implantación y coincidiendo con los fenómenos fisiológicos de diferenciación de blastocisto, su eclosión de la zona pelúcida y su migración por los cuerpos uterinos antes de fijarse en el tejido uterino.

Durante los 40 a 50 días de gestación, siendo en este caso la causa típica la superpoblación de los cuernos uterinos. Tanto la prolificidad como la fertilidad son los parámetros reproductivos más importantes que repercuten directamente en la rentabilidad de una explotación, tanto es así que son considerados factores primarios de producción. En la cerda se observa un proceso fisiológico de reabsorción que siempre se ha explicado como una defensa natural frente a camadas excesivamente numerosas que en la naturaleza no tendrían viabilidad. Existe también una forma de reabsorción embrionaria completamente fisiológica que se relaciona con el mantenimiento de la especie y se produce cuando una cerda presenta cuatro o menos óvulos fecundados, los cuales son reabsorbidos presentándose un nuevo celo. Por tanto, camadas con dos o tres lechones suelen estar relacionadas con problemas a lo largo de la gestación. Las causas que determinan esta pérdida y que repercuten directamente sobre la prolificidad, son múltiples, pero pueden ser clasificadas según su origen en:

- Factores genéticos: Las anomalías cromosómicas existentes en el cerdo se asocian con intersexualidad y mortalidad embrionaria. El número de estas anomalías varía entre las distintas razas y líneas genéticas oscilando entre el 0,1 y el 0,6 %, aunque algunos verracos individualmente pueden alcanzar el 5 %. Todos estos procesos repercuten en la reproducción de forma que; Disminuyen o anulan la fertilidad. Disminuyen el tamaño de camada. Propagan anomalías genéticas a todos sus descendientes. En definitiva, todas estas alteraciones genéticas conducen a embriones con una viabilidad reducida que los predispone a morir prematuramente. Otro aspecto interesante a comentar a este respecto es la diferente viabilidad de los embriones según procedan de progenitores puros o híbridos, debido al diferente nivel de heterosis de los mismos y del embrión que se ha formado. Así, la mejora en la viabilidad del lechón parece ser debida al mayor vigor híbrido del embrión procedente de un cruzamiento, así como al ambiente uterino que la cerda híbrida le ofrece. De ahí que una camada $A \times (B \times C)$ nacida de una cerda $(B \times C)$, en general, será un 15 % mayor que la media de las camadas de raza pura A, B y C.

- Factores espermáticos: Ya se ha comentado anteriormente que los machos con un alto porcentaje de formas anormales o de acrosomas dañados ven menguados sus resultados productivos especialmente a partir del 4ª día de conservación y que por lo tanto, como norma general no se deberían utilizar dosis seminales con menos del 70 % de espermatozoides viables o con un porcentaje inferior al 70 % de acrosomas normales. Se supone que la manipulación del semen (choques térmicos, osmóticos, largas conservaciones, contaminación, etc.) aparte de afectar a la integridad del espermatozoide, fundamentalmente a la integridad de su membrana, puede afectar negativamente a la viabilidad embrionaria. También se ha comentado anteriormente la existencia de pruebas laboratoriales sencillas en las que se ha visto una correlación alta con los resultados de fertilidad y prolificidad, tales como son el Test de Resistencia Osmótica (ORT) y el Test de Endósmosis (HOST). Existe también la influencia de la edad del macho, ya que los machos jóvenes tienden a tener menor fertilidad y prolificidad, conociéndose este efecto como “efecto del macho joven”.
- Factores inmunológicos: No cabe duda que los factores inmunológicos influyen en el ambiente uterino y tienen un papel muy importante en la reproducción. Una hembra cuando es cubierta y queda gestante está en contacto con antígenos que proceden del esperma y del feto. El plasma seminal y también el espermatozoide en sus distintas fracciones (cabeza, tracto intermedio y cola) contienen muchas porciones antigénicas. El tracto genital de la hembra y en particular el útero, está dotado de células inmunológicamente competentes que fagocitan espermatozoides, y procesan sus antígenos para reconocimiento por el patrón de defensa inmunológica. Además el semen es quimiotácticamente atractivo para macrófagos y neutrófilos, lo que hace que los espermatozoides sean fagocitados.

Por otro lado, otros antígenos extraños que llegan al tracto genital tienen efectos adyuvantes, y así, respuestas inmunes a antígenos espermáticos pueden ser exageradas en presencia de infecciones del aparato genital. Para intentar obviar este problema, fundamentalmente en cerdas nulíparas.

- Factores endocrinológicos: El ambiente uterino en los primeros momentos de la gestación está regulado por los niveles hormonales, fundamentalmente por la progesterona que es la hormona que predomina y tiene como función la producción de proteínas en el medio uterino que actúan como factores luteotróficos y embriotróficos. Un fallo funcional de los cuerpos lúteos determina niveles bajos de progesterona durante el principio de la gestación originando también una mayor incidencia de muerte embrionaria. Por el contrario, niveles altos de progesterona se asocian con bajas tasas de reabsorción.
- Tamaño del útero: Este parece ser uno de los principales factores limitantes del tamaño de camada, ya que limita el espacio físico para dar cabida a las superficies placentarias de los fetos, habiéndose demostrado que un mayor tamaño de la placenta se asocia con menor reabsorción embrionaria. En las nulíparas, el efecto sobre la prolificidad del número de celos previos a la primera concepción se explica por la elongación del aparato genital de la hembra nulípara tras cada celo, lo que determina un mayor espacio uterino y por lo tanto una menor reabsorción embrionaria, más que por el aumento de la tasa de ovulación. Algunos autores afirman que por cada día de retraso en la cubrición desde la aparición del primer celo se ganan de 0,016 a 0,062 lechones en el primer parto. Los animales con alta ovulación y baja mortalidad embrionaria al principio de la gestación son más propensos a experimentar muerte embrionaria más tardía por superpoblación uterina. El mayor tamaño de camada de algunas razas y, especialmente de las razas chinas como la Meishan, es consecuencia del mayor tamaño del útero que determina una menor muerte embrionaria y no de una mayor tasa de ovulación.
- Distancia en la implantación de los embriones: Cuanto más regular es esta distancia y más próximos se encuentran los embriones dentro de un límite, menor es el porcentaje de reabsorciones.
- Enfermedades: Está claro que cualquier patógeno presente en los fluidos uterinos conduce a un aumento de las reabsorciones embrionarias, siendo el status sanitario de la granja uno de los factores que más directamente afectan

a la tasa de reabsorción embrionaria, incrementándose ésta en caso de existir una patología reproductiva o sistémica como pueden ser; Infecciones bacterianas del tracto reproductivo: streptococcus, staphilococcus, brucellas, etc. Virus: Parvovirus, enterovirus, Enfermedad de Aujeszky, P.R.R.S., etc. Micotoxinas: Zearalenone producida por hongos del género Fusarium, Ergotamina producida por el Cornezuelo del centeno o Claviceps púrpura.

Duración de la lactación: Altos porcentajes de reabsorción embrionaria son asociados con lactaciones demasiado cortas. La explicación a este fenómeno la encontramos en que el proceso de involución uterina fisiológicamente dura unos 27 - 30 días, siendo bastante difícil reducir este tiempo (aplicación de PGF2 α después del parto), por lo que lactaciones de menos de 18 días, aunque se alargue algún día el intervalo destete-celo, hacen que en el momento de la cubrición la involución uterina no se haya completado y los embriones encuentren un ambiente no adecuado para su desarrollo.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO

La presente investigación se desarrolló en las instalaciones del Centro de Transferencia Genética “Reprogenes” y Granjas Asociadas, ubicado en el Km 2 ½ vía a Guano, en el Cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo, las dosis seminales fueron enviadas al laboratorio LIVEXLAB, ubicada en Carlos Alvarado N50-09 y los Álamos, en la Ciudad de Quito, Provincia de Pichincha, la misma tuvo una duración de 120 días.

Las condiciones meteorológicas donde se realizó la presente investigación presentan los parámetros que se detallan en el cuadro 1.

Cuadro 1. CONDICIONES METEOROLÓGICAS IMPERANTES EN LA ZONA.

PARAMETROS	PROMEDIO
Altitud, (msnm)	2713
Temperatura, (°C)	17,0
Precipitación, (mm/año)	42,8
Humedad relativa, (%)	61,4

Fuente:es.wikipedia.org/wiki/Cantón_Guano. (2013).

B. UNIDADES EXPERIMENTALES

El presente trabajo experimental se desarrolló en dos fases definidas de antemano; La primera correspondiente a la evaluación seminal y la segunda a la determinación de fertilidad del semen en cerdas multíparas. Para la primera fase se utilizarón un total de 30 dosis seminales, en donde el tamaño de la unidad experimental fue una botella de semen heterospérmico de 100 ml provenientes 2 Verracos de la raza York Shire de 2 años de edad, las mismas que fueron

distribuidas en 2 tratamientos motivo de estudio con 15 repeticiones cada uno. En la segunda fase de la investigación se utilizaron un total de 20 cerdas F1 York Shire-Landrace, de tercero y cuarto parto, en donde el tamaño de la unidad experimental fue de una cerda múltipara, las mismas que fueron distribuidos en 2 tratamientos motivos de estudio con 10 repeticiones.

C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES

Los materiales, equipos e instalaciones que se utilizó en la presente investigación son las siguientes:

1. Materiales

- Corral de extracción
- Maniquí o Potro
- Termo de colecta
- Funda de recolección
- Termómetro
- Materiales de vidrio
- Agua Bidestilada
- Diluyente
- Botellas de semen
- Cateter
- Verracos
- Colorante Eosina - Nidrosina

2. Equipos

- Microscopio
- Espermiódensímetro
- Baño María

- Cámara de conservación
- Computadora
- Impresora
- Cámara fotográfica

3. Instalaciones

Las instalaciones utilizadas pertenecieron al laboratorio LIVEXLAB y las del Centro de Transferencia Genética “Reprogenes” y Granjas Asociadas, utilizándose:

- Laboratorio de Procesamiento seminal.
- Jaulas de Gestación.
- Jaulas de Maternidad.

D. TRATAMIENTO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Se estudió el efecto del Dipol como diluyente de recolección seminal y su efecto sobre la conservación y fertilidad de semen refrigerado de verraco, en cerdas comprendidas en el tercer y cuarto parto frente a un tratamiento testigo.

Tanto para el estudio de la conservación seminal como para la evaluación de la fertilidad en cerdas multíparas se empleó un diseño Completamente al Azar, el mismo que se ajusta al siguiente modelo lineal aditivo:

$$X_j = u + a_i + \epsilon_{ij}$$

X_j = Variable dependiente.

u = Media general.

a_i = Efecto de los tratamientos.

ϵ_{ij} = Efecto del error experimental.

Los esquemas del experimento que se emplearon en el desarrollo de la presente investigación se exponen en los cuadros 2 y 3, donde consta el total de unidades experimentales, tratamientos y repeticiones.

Cuadro 2. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO PRIMERA FASE.

TRATAMIENTO	CODIGO	T.U.E.	REPET.	TOTAL/DOSIS
T1	TSD	1	15	15
T2	TCD	1	15	15
TOTAL				30

T.U.E. = Tamaño de la unidad experimental 1 dosis semanal.

T1= Tratamiento sin Dipol.

T2= Tratamiento con Dipol.

Cuadro 3. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO SEGUNDA FASE.

TRATAMIENTO	CODIGO	T.U.E.	REPET.	TOTAL/ CERDAS
T1	TSD	1	10	10
T2	TCD	1	10	10
TOTAL				20

T.U.E. = Tamaño de la unidad experimental 1 cerda múltipara.

T1= Tratamiento sin Dipol.

T2= Tratamiento con Dipol.

E. MEDICIONES EXPERIMENTALES

Las variables que se consideró dentro del presente proceso investigativo son las siguientes:

1. Evaluación de la conservación seminal

a. Características macroscópicas

- Color
- Olor
- Volumen de Eyaculado (cc)
- pH

b. Características microscópicas

- Concentración, (1×10^6 Spz./ml).
- Motilidad Masal, (%).
- Motilidad Individual, (Pts).
- Vitalidad, (%).
- Identificación de desarrollo bacteriano, (%).

2. Evaluación de la fertilidad seminal en cerdas

- Tasa de Concepción, (%).
- Tasa de Fertilidad, (%).
- Prolificidad, (No).
- Peso de Crías al nacimiento, (Kg).
- Porcentaje de Natimortos, (%).

3. Evaluación económica

- Ingresos, (USD).
- Egresos, (USD).
- Relación Beneficio/Costo, (USD).

F. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA

Los datos fueron procesados en los Softwars SAS 8,2 y Excel 2008, mediante los siguientes procedimientos estadísticos:

- Estadística descriptiva.
- Prueba t de Student, ($\alpha \leq 0,05$ y $\alpha \leq 0,01$).
- Prueba X^2 , ($\alpha \leq 0,05$ y $\alpha \leq 0,01$).
- Análisis de Varianza ADEVA.
- Prueba Tukey, ($\alpha \leq 0,05$ y $\alpha \leq 0,01$).

El esquema del ADEVA, obtenido en las variables productivas y reproductivas de cerdas inseminadas, se presentó en el cuadro 4, donde consta a la fuente de variación y los grados de libertad del total, tratamientos y error experimental.

Cuadro 4. ESQUEMA DEL ADEVA.

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD
Total	19
Tratamientos	1
Error experimental	18

G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

1. Primera fase

a. De campo

Para la presente investigación se realizó con un total de 8 recolecciones de semen en diferentes días de 2 verracos de la raza York Shire al mismo tiempo a

fin de obtener un eyaculado heterospérmico, mediante el método manual para la recolección del semen, una vez que el verraco se estimule en el maniquí se, proporcionó un masaje en el prepucio para que evacuen el líquido prepucial y a continuación se aplicó la presión correspondiente con la consecuente extensión completa del pene erecto del verraco hasta completar la eyaculación.

En el caso del tratamiento testigo el eyaculado de los dos verracos se recogió en un termo de colecta en el que previamente se colocó una funda de colección con filtro a la cual se añadió 100 ml de diluyente convencional, mezclándose con los eyaculados durante las recolecciones.

En el segundo caso para efecto de la evaluación del Dipol, se procedió a la preparación del mismo, disolviendo el sobre de Dipol en 1000 ml de agua bidestilada atemperada a 37 °C.

Para posteriormente utilizar 100 ml del mismo dentro de la funda de colección con filtro, en donde se mezcló con los eyaculados obtenidos de los 2 verracos de raza york Shire de 1,5 años de edad.

b. De laboratorio

Se tomaron las muestras del eyaculado heterospérmico, para luego realizar los exámenes macroscópicos y microscópicos, determinándose el volumen, color, olor y pH, así como la motilidad masal e individual, la morfología espermática y concentración.

Luego de contrastado el semen fue necesario diluirlo y empacarlo en dosis de 100 ml, para su posterior evaluación a las 24, 72, 120 y 168 horas posteriores.

Finalmente las muestras se enviaron al laboratorio LIVEXLAB a fin de determinar el desarrollo bacteriano en las dosis seminales a las 24, 72, 120 y 168

horas posteriores al procesamiento del semen.

2. Segunda fase

Para la presente investigación se utilizó 20 cerdas que se encontraban en el tercer o cuarto parto, pertenecientes a las granjas asociadas a la empresa, donde se procedió a realizar una sincronización del celo con el uso de Regumate planificando de antemano la presencia de celo, para su posterior inseminación con dos dosis seminales obtenidas con y sin Dipol, cada 24 horas.

Una vez que las cerdas gestantes parieron se evaluó la concepción, fertilidad y el tamaño de la camada al nacimiento, entre otras variables productivas.

H. METODOLOGÍA DE LA EVALUACIÓN

1. Características macroscópicas

a. Volumen

Se determinó directamente, mediante el uso de una balanza eléctrica, considerando que 1 g de semen es equivalente a 1 ml del mismo.

b. Color

Se visualizó directamente, obteniéndose una coloración blanco cremoso u lechoso para un semen normal.

c. Olor

Se le calificó de acuerdo a la apariencia individual, olor proteico neutro.

d. pH

Se utilizó el papel indicador universal.

2. Características microscópicas

a. Motilidad en masa

Para lo cual se colocó una gota de eyaculado fresco en la placa del porta objetos a temperatura de 37 °C para que no sufran un shock térmico los espermatozoides ocasionando la muerte de ellos.

Se observó al microscopio con el lente (10 X Objetivo), la calidad de movimientos en remolino se calificó en una escala de 0 a 100 como se detalla en el cuadro 5.

Cuadro 5. CALIFICACION DE MOVIMIENTO EN MASA.

CALIFICACIÓN	MOVIMIENTO EN MASA
Muy buena (75 - 100)	Remolinos rápidos
Buena (50 - 75)	Remolinos lentos
Regular (25 – 50)	Oscilante
Mala (0 - 25)	Vibración

Fuente: Camacho, D. (2000).

b. Motilidad individual

Para esta evaluación se colocó una gota de eyaculado fresco en la placa del porta objetos a temperatura de 37 °C y luego un cubre objetos, se observó al microscopio con el lente de mayor aumento (40X Objetivo), cuadro 6.

Cuadro 6. CALIFICACION DE MOTILIDAD INDIVIDUAL.

CALIFICACIÓN	MOTILIDAD INDIVIDUAL
Muy buena (5)	Muy Rápido
Buena (4)	Rápido
Regular (3)	Moderado
Mala (2)	Lento
Muy Mala (1)	Muy lento

Fuente: Camacho,D. (2000).

c. Morfología espermática

Para la determinación de la morfología espermática se utilizó la técnica de tinción vital con el colorante Eosina-Nigrosina (Solución de Eosina al 0.5 % y solución de nigrosina al 10 % las mismas que permanecieron separadas hasta su utilización), utilizando un tubo de ensayo se mezcló cuatro gotas de eosina, ocho gotas de nigrosina y dos gotas de semen, posteriormente se efectúa una extensión sobre un porta atemperado a 37 °C y se seca al aire. Se procedió a la observación de espermatozoides blancos los mismos que estaban vivos antes de la tinción, para luego determinar el % de espermatozoides vivos, en varios campos evaluados.

d. Concentración espermática

Para el efecto se utilizó el Espermiodensímetro o Karras, y con la ayuda de la lectura y una tabla de equivalencia, se determinó el número de espermatozoides/cc y finalmente el número de dosis a elaborar de cada eyaculado.

3. Concepción

Se tomó en cuenta las cerdas inseminadas y cerdas que no repitieron celo a los 42 días post servicio.

$\%C = \text{\#cerdas gestantes} / \text{\#cerdas inseminadas}$.

4. Fertilidad

Se tomó en cuenta las cerdas inseminadas y cerdas que han parido.

$\%F = \text{\#cerdas paridas} / \text{\#cerdas inseminadas}$.

5. Tamaño de la camada

Se obtuvo mediante el registro, contabilizando el número de lechones nacidos.

6. Relación beneficio costo

El indicador beneficio costo se determinó mediante la relación de los ingresos obtenidos, frente a los egresos dando como resultados en unidades monetarias (USD).

$\text{Beneficio/costo} = \text{Ingresos totales (\$)} - \text{Egresos totales (\$)}$.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DEL EYACULADO DE VERRACO COLECTADO.

A continuación se describieron las características macroscópicas y microscópicas determinadas en 8 extracciones de semen proveniente de dos verracos de la raza York Shire de aproximadamente 1,5 años de edad, los mismos que posteriormente fueron procesados, conservados y utilizados en la inseminación artificial de cerdas, como se reportó en el cuadro 7.

1. Color y olor

La coloración que presentaron los eyaculados de verraco, en las diferentes extracciones fue blanco lechoso, lo que se debe a la concentración espermática sin ningún tipo de contaminante y el olor fue proteico neutro característico en el semen, con una leve impregnación de Testosterona propia de esta especie, libre de olores desagradables que podrían ser provocado por contaminación bacteriana.

Estos resultados están acordes a lo descrito por De Alba Romero, C. (2010), que dice que el color del eyaculado del verraco debe ser blanco lechoso en animales jóvenes y blanco cremoso en animales adultos, las desviaciones hacia tonalidades amarillas, verdes, rosas o castañas son indicio de suciedad o contaminación de origen patológico (pus, bacterias, orina). Los eyaculados así coloreados se excluirán de cualquier utilización.

Con respecto al olor, De Alba Romero, C. (2010), indica que el olor del esperma permite sacar ciertas conclusiones sobre la subsiguiente capacidad de empleo de eyaculado. El semen normal del verraco tiene olor proteico neutro la existencia de olores fuertes o específicos, del verraco indicando que el eyaculado se ensució con orina y secreción prepucial. Un eyaculado de este tipo contiene

Cuadro 7. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DEL SEMEN HETEROSPERMICO UTILIZADO PARA LA ELABORACIÓN DE DÓISIS SEMINALES.

CARACTERÍSTICA	Promedio	DS
Número de Extracciones (n)	8	-
Color	Blanco Lechoso	-
Olor	Proteico Neutro	-
Volumen de Eyaculado (cc)	198,50	4,00
pH	7,08	0,09
Concentración (1×10^6 Spz./ml)	350,00	20,70
Motilidad Masal (%)	99,50	0,76
Motilidad Individual (Pts.)	4,96	0,05
Formas Anormales (%)	2,00	0,23
Vitalidad (%)	99,50	0,53

por lo regular una elevada proporción de gérmenes. Ello hace que sea muy corto su plazo de empleo, no debiendo incluso utilizarse. El olor pútrido indica alteraciones patológicas, en este caso suele modificarse también el color del eyaculado. El semen que exhiba estas características debe eliminarse.

Por lo anteriormente expuesto, el semen heterospérmico utilizado en el presente experimento mostró buena calidad para estas dos características, por lo que fue viable para ser procesado.

2. Volumen del eyaculado

El volumen del eyaculado de la fracción rica, que se obtuvo en las diferentes recolecciones de semen del verraco, se presentó un promedio de $198,50 \pm 4,0$ cc, lo cual está dentro de los rangos normales de un reproductor de la raza York Shire.

Estos resultados están acordes a lo descrito por De Alba Romero, C. (2010), que dice que en el verraco el volumen sin tapioca, asciende por término medio a 150 cc y fluctúa entre 100 y 200 cc de acuerdo con la edad del animal, con la técnica de obtención del esperma y con las características individuales.

3. Potencial hidrógeno

El pH del eyaculado de la fracción rica, que se obtuvo en las diferentes recolecciones realizadas a los verracos de la raza York Shire, presentó un promedio de $7,08 \pm 0,09$, lo cual está dentro de los rangos normales, grafico 1.

Este promedio está cercano al expuesto por Ochoa, G. (2008), donde afirma que el pH normal del semen porcino es de 7,0 con variaciones de 6,8 y 7,5 y la mayor frecuencia de eyaculados con 6,9 – 7,1, un eyaculado con bajo pH tiene más valor que otro con pH elevado.

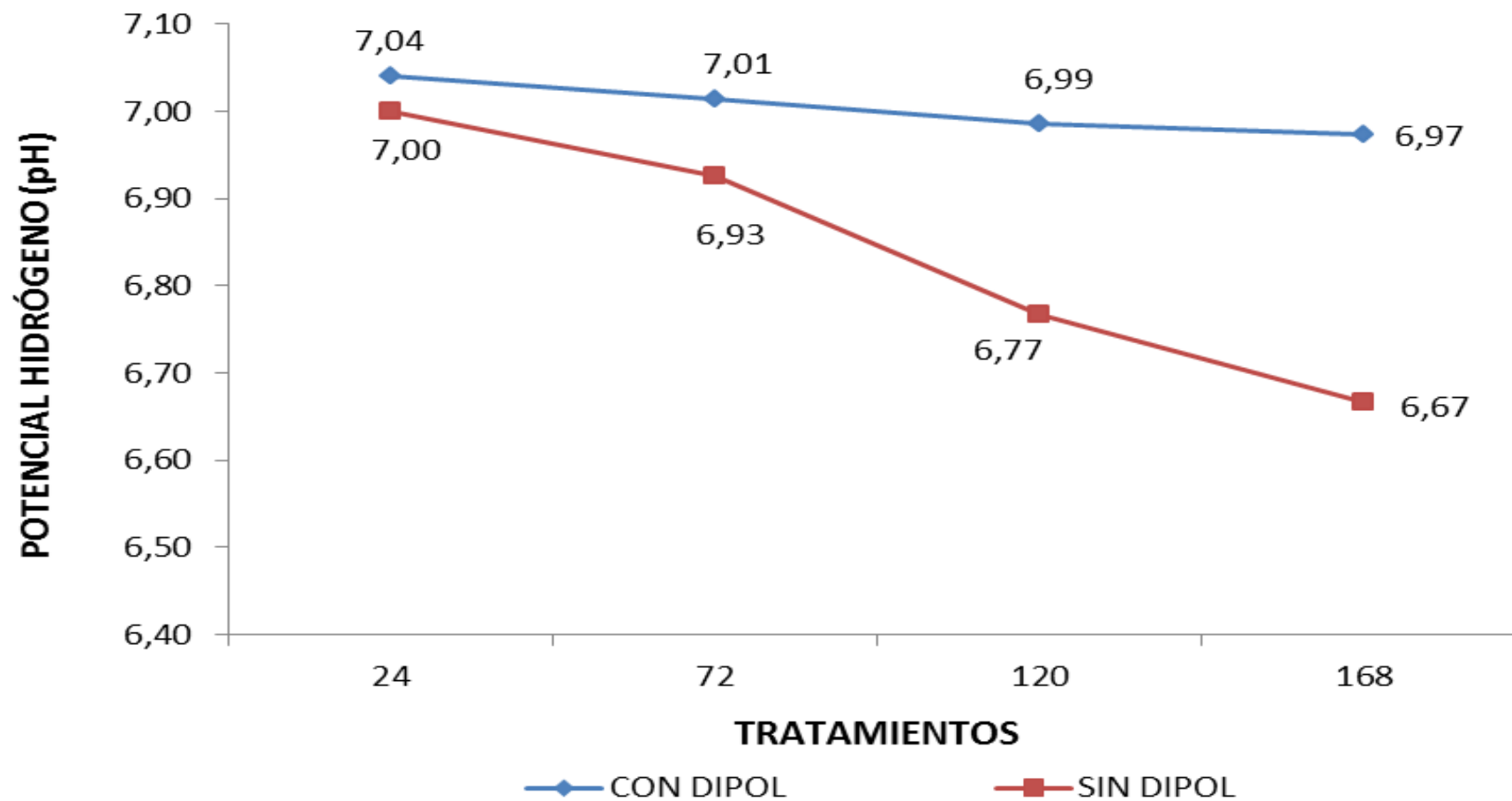


Gráfico 1. pH determinado en el semen heterospérmico refrigerado, en la evaluación del Dipol como diluyente de recolección seminal.

4. Concentración espermática

La concentración espermática es una de las características microscópicas más importantes del semen ya que de ello depende la cantidad de dosis seminales que se puedan obtener de cada eyaculado, es así que el número de espermatozoides por cc de eyaculado, registró un promedio de $350 \pm 20,70 \times 10^6$ espermatozoides/cc, lo cual está dentro de los rangos normales de un reproductor de la raza York Shire, de 1,5 año de edad.

Al respecto por De Alba Romero, C. (2010), manifiesto que la concentración espermática puede variar de acuerdo a la edad, de esta manera un verraco joven y adulto pueden presentar concentraciones de 150×10^6 spz/cc 300×10^6 spz/cc espermatozoides.

5. Motilidad masal e individual

La motilidad Masal se observó microscópicamente, en las diferentes recolecciones realizadas, presentó un promedio de $99,50 \pm 0,76$ %, lo cual está dentro de los rangos normales, de un semen de calidad, aunque para la evaluación de este parámetro se necesita mucha experiencia ya que la medición es subjetiva.

Los resultados determinados en la presente investigación son superiores a los establecidos por Acosta, M. (2004), quien evaluó 346 eyaculados obtenidos de 12 machos, con edades comprendidas entre 9 y 12 meses, utilizando dos métodos de evaluación seminal, el convencional y otro de acuerdo a las normas cubanas, determinándose promedios de (74,67 y 77,40 %), para la motilidad masal, lo que podría hallarse relacionado a la temperatura ambiental, ya que los espermatozoides son sensibles a los cambios de temperatura.

La motilidad Individual se observó microscópicamente, en las diferentes recolecciones de eyaculados de verracos de la raza York Shire, presentó un

promedio de $4,96 \pm 0,05$ puntos, lo cual indica que los espermatozoides en general presentaron movimientos progresivos y muy rápidos.

Acosta, M. (2004), en su investigación determinó, que la motilidad individual de acuerdo a la calidad de movimientos difirió entre los genotipos de sementales evaluados ($P < 0,001$), es por esta razón que en la presente investigación se utilizó semen heteróspermico, a fin de obtener un resultado medio.

6. Formas anormales

Las formas anormales se determinaron microscópicamente en los eyaculados de verracos de la raza York Shire, analizado en las diferentes recolecciones, presentó un promedio de $2,00 \pm 0,23$ %, lo que señala que los espermatozoides en general son de estructura normal; sin embargo, se determinaron espermatozoides con gota citoplasmática, cola en látigo y cola en ovillo en el porcentaje anteriormente indicado que es bajo.

De Alba Romero, C. (2010), expone que el estudio de morfoanomalías no debe arrojar más de un 20% de espermatozoides anormales, aceptándose como normal un 10%. Por lo anteriormente expuesto podemos decir que se ha contado con un semen de buena calidad antes del procesamiento, lo que puede deberse que al tratarse de un reproductor destinado a monta natural, ha permanecido en reposos por un buen período de tiempo, lo cual ha permitido obtener un semen maduro y de excelentes características.

7. Morfología

La morfología espermática se determinó por la integridad y calidad de la membrana del espermatozoide, mediante la técnica de tinción con Eosina-Nigrosina, presentó un promedio de $99,50 \pm 0,53$ %, lo que indica que el semen es clasificado de excelente calidad, ya que el mayor porcentaje de morfología presenta buena integridad de la membrana.

De acuerdo a estos resultados se pudo apreciar los espermatozoides antes de tinción presentaron integridad de su membrana plasmática, en un buen porcentaje, por lo que el semen utilizado tuvo buena capacidad fecundante luego de su procesamiento.

Por su parte Acosta, M. (2004), indico que la vitalidad espermática resultó superior al utilizar la evaluación convencional ($P < 0,01$), obteniéndose un promedio de 80,69 %.

B. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERISTICAS ESPERMATICAS, EN SEMEN PORCINO HETEROSPÉRMICO REFRIGERADO COLECTADO CON Y SIN DILUYENTE DE COLECCIÓN.

Luego del procesamiento del semen de verraco heterospérmico de la raza York Shire, se determinó resultados que difirieron en función del tiempo, sin embargo hasta las 168 horas el semen procesado presenta características vitales de acuerdo a los siguientes resultados; como se reporta en el cuadro 8.

1. Evaluación espermática a las 24 horas

La motilidad masal se observó microscópicamente a las 24 horas, presentó diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), así el mayor porcentaje de motilidad presentó el semen que fue colectado mediante el uso de Dipol con 96,99 %, seguido por la motilidad reportada en el semen porcino colectado sin el uso de diluyente de colección alcanzando un promedio de 96,58 %.

Respecto a estos resultados Ochoa, G. (2008), en su estudio sobre la evaluación de semen porcino conservado en diluyentes de larga duración, a las 24 horas de conservación, determinó una motilidad de 57,2 % al emplear Androhep, 58,6 % con Bütschwiler, 53,1 % al utilizar MR-A y 66,2 % al aplicar como diluyente Reading, promedios que son inferiores a los determinados en la presente

Cuadro 8. CARACTERÍSTICAS SEMINALES DEL SEMEN REFRIGERADO, EN LA EVALUACIÓN DEL DIPOL COMO DILUYENTE DE RECOLECCIÓN.

CARACTERÍSTICA	TRATAMIENTOS		EE	Prob.
	SIN DIPOL	CON DIPOL		
<u>Evaluación a las 24 horas</u>				
Motilidad Masal (%)	96,58b	96,99a	0,102	0,0001
Motilidad Individual (Pts.)	3,95b	4,31a	0,043	0,0001
Vitalidad (%)	91,13a	90,81a	0,179	0,0875
Desarrollo Bacteriano (%)*	-	-	-	-
<u>Evaluación a las 72 horas</u>				
Motilidad Masal (%)	86,47 b	92,06a	0,178	0,0001
Motilidad Individual (Pts.)	3,68b	3,99a	0,026	0,0001
Vitalidad (%)	84,82b	88,81a	0,191	0,0001
Desarrollo Bacteriano (%)*	6,67a	0,00a	-	>0,05
<u>Evaluación a las 120 horas</u>				
Motilidad Masal (%)	84,90b	87,10a	0,112	0,0001
Motilidad Individual (Pts.)	3,31b	3,62a	0,027	0,0001
Vitalidad (%)	79,99b	84,99a	0,207	0,0001
Desarrollo Bacteriano (%)*	13,33a	0,00b	-	<0,01
<u>Evaluación a las 168 horas</u>				
Motilidad Masal (%)	78,99b	83,30a	0,194	0,0001
Motilidad Individual (Pts.)	3,16b	3,31a	0,027	0,0004
Vitalidad (%)	77,24 b	82,87a	0,262	0,0004
Desarrollo Bacteriano (%)*	26,67a	0,00b	-	<0,01

Letras iguales no difieren estadísticamente Según t Student ($P < 0,05$ y $P < 0,01$).

*Letras iguales no difieren estadísticamente Según Chi Cuadrado X^2 ($P < 0,05$ y $P < 0,01$).

investigación, posiblemente debido a la eficiencia del Dipol, que ha permitido una higienización correcta del semen.

La motilidad individual se observó microscópicamente a las 24 horas de evaluación en el semen procesado, presentó diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), así el mayor puntaje de motilidad individual presentó el semen que fue colectado mediante la utilización de Dipol con 4,31 puntos y con un menor puntaje de motilidad individual registramos al semen heterospérmico que fue colectado sin el uso de Dipol con 3,95 puntos de motilidad. La morfología espermática determinada por la calidad de la membrana mediante tinción con Eosina-Nigrosina a las 24 horas de evaluación, no presentó diferencia significativa ($P > 0,05$), determinándose promedios de 91,13 y 90,81 % el semen porcino colectado sin y con diluyente de colección. Por otro lado a las 24 horas de evaluación, no se registró desarrollo bacteriano, en los dos grupos experimentales evaluados, presentando además un pH relativamente neutro con valores de 7,0 y 7,04 en el semen colectado sin y con Dipol.

2. Evaluación espermática a las 72 horas

La motilidad masal se observó microscópicamente a las 72 horas, presentó diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), así el mayor porcentaje de motilidad presentó el semen que fue colectado mediante el uso de Dipol con 92,06 %, seguido por la motilidad reportada en el semen porcino colectado sin el uso de diluyente de colección alcanzando un promedio de 86,47 %.

Estos resultados son superiores a los determinados por Ochoa, G. (2008), quien en su estudio sobre la evaluación de semen porcino conservado en diluyentes de larga duración, a las 72 horas de conservación, determinó una motilidad de 54,7 % al emplear Androhep, 59,0 % con Bütschwiler, 49,0 % al utilizar MR-A y 66,9 % al aplicar como diluyente Reading. Lo que puede deberse a la eliminación completa de las bacterias por parte del Dipol.

La motilidad individual que fue observada microscópicamente a las 72 horas de evaluación en el semen procesado, presentó diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), así el mayor puntaje de motilidad individual presentó el semen que fue colectado mediante la utilización de Dipol con 3,99 puntos y con un menor puntaje de motilidad individual registramos al semen heterospérmico que fue colectado sin el uso de Dipol con 3,68 puntos de motilidad.

La morfología espermática determinada por la calidad de la membrana mediante tinción con Eosina-Nigrosina a las 72 horas de evaluación, presentó diferencia significativa ($P < 0,01$), determinándose el mayor promedio en el semen recolectado mediante la utilización de Dipol con 88,81 % y con un menor porcentaje de motilidad individual registramos al semen heterospérmico que fue colectado sin el uso de Dipol con 84,82 % de motilidad.

Por otro lado a las 72 horas de evaluación, se registró desarrollo bacteriano, en el tratamiento Testigo con promedio de 6,67%, mientras que el semen recolectado mediante la utilización de Dipol no registró desarrollo bacteriano presentando además un pH relativamente neutro con valores de 6,93 y 7,01 en el semen colectado sin y con Dipol respectivamente.

3. Evaluación espermática a las 120 horas

La motilidad masal que se observó microscópicamente a las 120 horas, presentó diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), así el mayor porcentaje de motilidad registró el semen que fue colectado mediante el uso de Dipol con 87,10 %, seguido por la motilidad reportada en el semen porcino colectado sin el uso de diluyente de colección alcanzando un promedio de 84,90 %.

En relación a estos resultados, menores promedios fueron determinados por Ochoa, G. (2008), quien en su estudio sobre la evaluación de semen porcino conservado en diluyentes de larga duración, a las 120 horas de conservación, determinó una motilidad de 55,4 % al emplear Androhep, 57,8 % con Bütschwiler,

53,1 % al utilizar MR-A y 66,2 % al aplicar como diluyente Reading,

Lo que se halla directamente relacionado con el efecto del Dipol, como diluyente de recolección o higienización inicial al momento de la colecta del semen, ya que impide el desarrollo bacteriano, provocado por contaminación al momento de la colecta.

La motilidad individual se observó microscópicamente a las 120 horas de evaluación en el semen procesado, presentó diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), así el mayor puntaje de motilidad individual presentó el semen que fue colectado mediante la utilización de Dipol con 3,62 puntos y con un menor puntaje de motilidad individual registramos al semen heterospérmico que fue colectado sin el uso de Dipol con 3,31 puntos de motilidad.

La morfología espermática determinada por la calidad de la membrana mediante tinción con Eosina-Nigrosina a las 120 horas de evaluación, presentó diferencia significativa ($P < 0,01$), presentándose el mayor promedio en el semen recolectado mediante la utilización de Dipol con 84,99 % y con un menor porcentaje de motilidad individual registramos al semen heterospérmico que fue colectado sin el uso de Dipol con 79,99 % de motilidad.

Por otro lado a las 72 horas de evaluación, se registró desarrollo bacteriano, en el tratamiento Testigo con promedio de 13,33 %, mientras que el semen recolectado mediante la utilización de Dipol no registró desarrollo bacteriano presentando además un pH cercano a neutro con valores de 6,77 y 6,99 en el semen colectado sin y con Dipol respectivamente.

Respecto a los resultados obtenidos al utilizar Dipol, se puede manifestar que la contaminación bacteriana, principalmente produce una serie de alteraciones entre las que se encuentra una disminución de la motilidad, aglutinaciones espermáticas, y una reducción del pH hasta niveles ácidos (5,7-6,4). Althouse,

et al., (2000), nos indica que conducen a una reducción en el tiempo de conservación de las dosis seminales.

Por tanto, la adición del antibiótico en la adecuada concentración favoreció la supervivencia espermática. Además de la aplicación del antibiótico adecuado en la concentración necesaria, se pudo hacer un gran avance, en este sentido si se mejoran las condiciones higiénicas en las que se produce la recogida seminal y el procesado de las dosis seminales.

4. Evaluación espermática a las 168 horas

La motilidad masal que fue observada microscópicamente a las 168 horas, presentó diferencias altamente significativas ($P < 0.01$), así el mayor porcentaje de motilidad registró el semen que fue colectado mediante el uso de Dipol con 83,30 %, seguido por la motilidad reportada en el semen porcino colectado sin el uso de diluyente de colección alcanzando un promedio de 78,99 %.

La motilidad individual que se observó microscópicamente a las 168 horas de evaluación en el semen procesado, presentó diferencias altamente significativas ($P < 0.01$), así el mayor puntaje de motilidad individual presentó el semen que fue colectado mediante la utilización de Dipol con 3,31 puntos y con un menor puntaje de motilidad individual registramos al semen heterospérmico que fue colectado sin el uso de Dipol con 3,16 puntos de motilidad.

La morfología espermática determinada por la calidad de la membrana mediante tinción con Eosina-Nigrosina a las 168 horas de evaluación, presentó diferencia significativa ($P < 0.01$), presentándose el mayor promedio en el semen recolectado mediante la utilización de Dipol con 82,87 % y con un menor porcentaje de motilidad individual registramos al semen heterospérmico que fue colectado sin el uso de Dipol con 77,24 % de motilidad.

Al respecto, eficientemente Almond, G. (2002), expresa que un interesante

estudio sobre la calidad seminal en semen diluido en diversos medios (Androhep, Zorlesco, BTS y Kiev) hasta durante 15 días de conservación, mostrando que la viabilidad y actividad mitocondrial de los espermatozoides supera al 50% en el día 13 de conservación en los medios de larga conservación (Androhep y Zorlesco).

Por otro lado a las 168 horas de evaluación, se registró desarrollo bacteriano, en el semen colectado sin uso de Dipol con promedio de 26,67 %, mientras que el semen recolectado mediante la utilización de Dipol no registró desarrollo bacteriano el cual presento además un pH cercano a neutro con valores de 6,67 y 6,97 en el semen colectado sin y con Dipol respectivamente.

C. EVALUACIÓN REPRODUCTIVA DE CERDAS, SOMETIDAS A INSEMINACIÓN ARTIFICIAL CON EL USO DE SEMEN PORCINO HETEROSPERMICO REFRIGERADO COLECTADO CON Y SIN DILUYENTE DE COLECCIÓN.

1. Tasa de prolificidad

La tasa de concepción determinada mediante el método de no retorno al estro, a los 21 y 42 día post inseminación artificial y que indico la frecuencia relativa de hembras gestantes, presentó diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) según X^2 , es así que la mayor tasa de concepción con el 100 % fue registrado en las hembras inseminadas con el semen heterospermico colectado mediante el uso de Dipol, mientras que las hembras inseminadas con semen colectado sin el uso de diluyente de colección presentaron el 80,0 % de tasa de concepción, gráfico 2.

2. Tasa de fertilidad

Por su parte la Tasa de Fertilidad determinada por el número de cerdas que llegaron a parir, fue del 100% en las hembras inseminadas con semen colectado mediante el uso de Dipol y mientras el grupo de cerdas inseminadas con semen

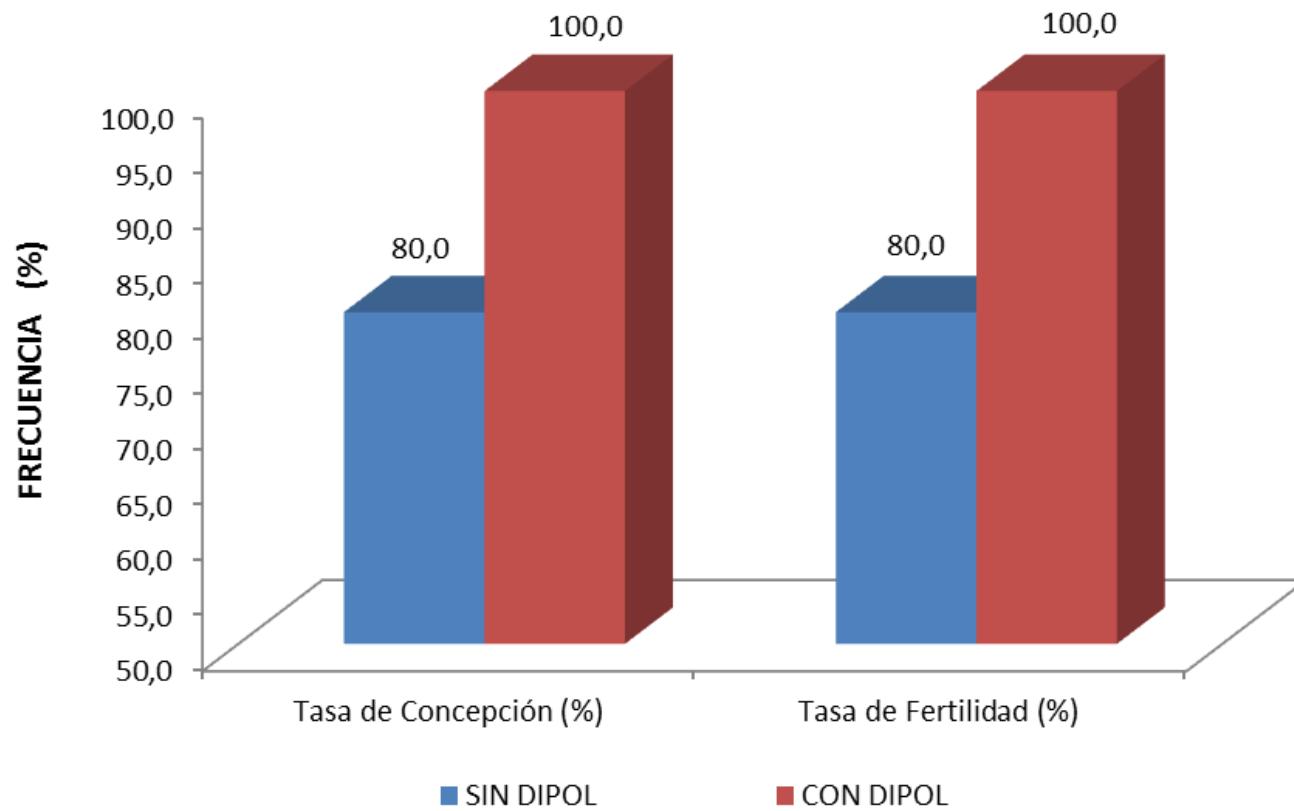


Gráfico 2. Tasa de Concepción y Fertilidad determinada en cerdas inseminadas con semen refrigerado, en la evaluación del Dipol como diluyente de recolección.

colectado sin el uso de Dipol, en el cual se determinó una fertilidad del 80%, detallando en el cuadro 9 las características reproductivas y productivas.

Al respecto Martínez, E. et al. (1986) demuestran que el diluyente MR-A es capaz de mantener la fertilidad y la prolificidad del semen conservado hasta un total de 5 días llegando a la conclusión que la fertilidad decrece significativamente cuando se conserva en este medio 7 u 8 días (84,0 vs. 67,3 %) manteniéndose similares los tamaños de camada (11,1 vs 10,7). Lo cual es inferior al valor que fue determinado en las cerdas inseminadas con semen colectado con la utilización de Dipol, lo que posiblemente se halle relacionado con la calidad seminal de las dosis utilizadas.

3. Tasa de prolificidad

La tasa de prolificidad presentó diferencias estadísticas ($P < 0,01$), de esta manera las cerdas que fueron inseminadas con semen colectado mediante la utilización de Dipol, registró 12,0 crías/ camada y con menor prolificidad se presentó las cerdas inseminadas con semen colectado sin el uso de Dipol con 10,38 crías /camada, detallado en el cuadro 9.

Estas diferencias se debió principalmente a la morfología de los espermatozoides, la misma que responde al tiempo empleado en el enfriamiento del eyaculado, gráfico 3. Estos resultados son superiores a los determinados por Weitze, K. (1990), al analizar la prolificidad del semen conservado 3 y 5 días en Androhep, BW25 y Kiev, sin encontrar diferencias al estudiar la fertilidad.

Johnson, L. (2000), indica que al estudiar el diluyente BTS frente al medio MR-A hasta los 4 días de conservación, obteniendo resultados significativamente mejores en el MR-A en cerdas multíparas tanto para fertilidad con un porcentaje de 79,3 como para el tamaño de camada con 11,4 lechones/camada, sin embargo al utilizar Dipol se determinaron promedios superiores, posiblemente relacionados con una mejor calidad seminal libre de contaminantes.

Cuadro 9. CARACTERÍSTICAS REPRODUCTIVAS Y PRODUCTIVAS DETERMINADAS EN CERDAS INSEMINADAS CON SEMEN REFRIGERADO, EN LA EVALUACIÓN DEL DIPOL COMO DILUYENTE DE RECOLECCIÓN.

CARACTERÍSTICA	TRATAMIENTOS		EE	Prob.
	SIN DIPOL	CON DIPOL		
<u>Evaluación reproductiva</u>				
Tasa de Concepción (%)*	80,00b	100,00a	-	<0,01
Tasa de Fertilidad (%)*	80,00b	100,00a	-	<0,01
Prolificidad (No.)	10,38b	12,00a	0,19	0,0001
<u>Evaluación productiva</u>				
Peso de Crías al nacimiento (Kg.)	1,34a	1,33a	0,08	0,5545
Peso de Camada al nacimiento (Kg.)	13,85b	15,94a	0,27	0,0001
Porcentaje de Natimortos (%)*	1,09a	0,83a	-	>0,05

Letras iguales no difieren estadísticamente Según Tukey (P<0,05 y P<0,01).

*Letras iguales no difieren estadísticamente Según Chi Cuadrado X^2 (P<0,05 y P<0,01).

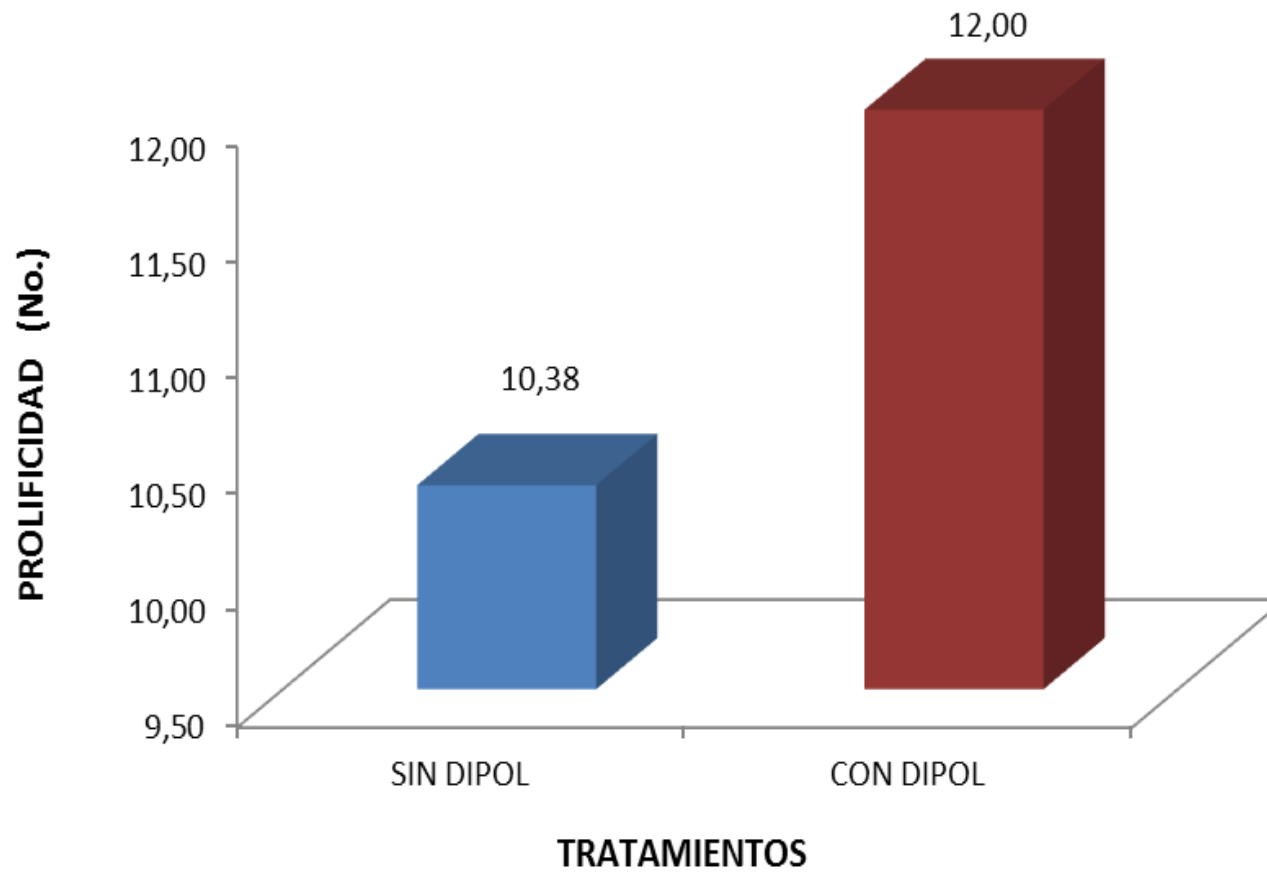


Gráfico 3. Prolificidad promedio determinada en cerdas inseminadas con semen refrigerado, en la evaluación del Dipol como diluyente de recolección.

D. EVALUACIÓN PRODUCTIVA DE CERDAS SOMETIDAS A INSEMINACIÓN ARTIFICIAL CON EL USO DE SEMEN PORCINO HETEROSPERMICO REFRIGERADO COLECTADO CON Y SIN DILUYENTE DE COLECCIÓN.

1. Peso de crías al nacimiento

El peso de crías al nacimiento en la presente investigación registró los siguientes promedios 1,34 y 1,33 Kg para los tratamientos mediante la utilización de semen colectado sin y con Dipol respectivamente, disponiéndose de unidades homogéneas en cuanto esta variable.

2. Peso de camada al nacimiento

El peso de camada al nacimiento presentó diferencias altamente diferente ($P < 0.01$), así el mayor peso de camada registró las cerdas inseminadas con semen colectado mediante la utilización de Dipol con 15,94 Kg y con menor peso se determinó el tratamiento Testigo con 13,85 Kg, indicándonos que el mejor tratamiento tenemos cuando utilizamos el diluyente de recolección, pudiendo observar el cuadro 9 para mayor referencia.

3. Porcentaje de natimortos

El porcentaje de natimortos durante la presente investigación, presentó diferencias estadísticas ($P < 0.01$) según X^2 , es así que el mayor porcentaje de natimortos con el 1,09 % fue registrado en las hembras inseminadas con el semen colectado sin el uso de Dipol.

Mientras que el menor porcentaje de natimortos reportó las hembras inseminadas con semen colectado con el uso de Dipol con 0,83%.

E. EVALUACIÓN ECONÓMICA EN CERDAS, INSEMINADAS CON SEMEN PORCINO HETEROSPERMICO REFRIGERADO COLECTADO CON Y SIN DILUYENTE DE COLECCIÓN.

Para el análisis económico se consideraron, los egresos determinados por los costos en los dos grupos experimentales y los ingresos obtenidos mediante la cotización de las reproductoras y los lechones destetados, donde se obtuvo el mejor Beneficio - Costo en las Cerdas Inseminadas con semen colectado mediante el uso de Dipol con 1,75 USD.

Lo que quiere decir que por cada dólar invertido con la utilización de Dipol, se obtuvo un beneficio neto de 0,75 USD, según el indicador de Beneficio - Costo de las cerdas inseminadas con semen refrigerado colectado sin el uso de Dipol que alcanzó un índice de 1,41 USD.

Estos resultados nos permitieron determinar que la utilización de un diluyente de recolección de semen como es el caso de Dipol, permito obtener mejores resultados lo que repercute sobre los ingresos y beneficios de la explotación al incrementar los índices reproductivos y productivos de esta especie, detallando en el cuadro 10.

Cuadro 10. EVALUACIÓN ECONÓMICA EN CERDAS, INSEMINADAS CON SEMEN PORCINO HETEROSPERMICO REFRIGERADO COLECTADO CON Y SIN DILUYENTE DE COLECCIÓN.

CONCEPTO	TRATAMIENTOS	
	SIN DIPOL	CON DIPOL
EGRESOS		
Cotización de Reproductoras ¹	2500,00	2500,00
Alimento Gestación ²	1306,80	1386,00
Alimento Lactancia ³	868,80	1004,40
Diluyente de Colección ⁴	0,00	1,50
Inseminación Artificial ⁵	200,00	200,00
Sanidad ⁶	80,00	100,00
Servicios Básicos ⁷	5,00	5,00
Mano de Obra ⁸	340,00	340,00
Depreciación de Inst. y Equipos ⁹	20,00	20,00
TOTAL EGRESOS	5320,61	5556,90
INGRESOS		
Cotización de Reproductoras ¹⁰	2500,00	2500,00
Cotización de Lechones ¹¹	4982,40	7200,00
TOTAL INGRESOS	7482,40	9700,00
BENEFICIO/COSTO (USD)	1,41	1,75

1. Cotización por Reproductora \$ 250,0.

2. Costo del Kg Balanceado Gestación \$ 0,55.

3. Costo del Kg Balanceado Lactancia \$ 0,62.

4. Costo Diluyente de Colección \$ 1,50/Extracción.

5. Costo de dosis seminal y catéter \$ 10,0.

6. Costo de Desinfectantes, Hierro, Micoplasma \$ 10/Camada.

7. Costo de mano de obra \$ 170/Mes.

8. Costo de depreciación de instalación y equipos \$ 20,0/ Tratamiento.

9. Cotización por Reproductora \$ 250,0.

10. Cotización por Lechón \$ 60,0.

V. CONCLUSIONES

1. En la Zona Andina del Ecuador se ha determinado los mejores promedios de las características espermáticas hasta las 168 horas de evaluación, para el semen de verraco heterospérmico colectado con el uso de Dipol, alcanzando promedios de 83,30 %, 3,31 puntos y 82,87 % para la motilidad masal, motilidad individual y morfología espermática respectivamente.
2. Las dosis seminales elaboradas con el semen heterospérmico colectado mediante el uso de Dipol, no presentó desarrollo bacteriano hasta las 168 horas de evaluación, manteniendo un pH relativamente neutro, en tanto que el grupo control existe desarrollo bacteriano a partir de las 72 horas incrementándose de 6,67 a 26,67 % hasta las 168 horas de conservación.
3. La mayor fertilidad en cerdas sometidas a inseminación artificial, fue determinada en aquellas inseminadas con semen heterospérmico colectado con el diluyente de colección, alcanzando el 100,0 % de fertilidad.
4. Mediante el uso del semen de verraco heterospérmico colectado con el uso de Dipol e inseminación artificial, se ha obtenido mayor tasa de prolificidad alcanzando 12,0 lechones/camada, lo que repercute sobre el peso de camada al nacimiento alcanzando un promedio de 15,94 Kg.
5. El mejor Beneficio - Costo fue determinado en las Cerdas Inseminadas con semen colectado mediante el uso de Dipol e inseminación intrauterina profunda con 1,75 USD, lo que quiere decir que por cada dólar invertido con la utilización Dipol se obtiene un beneficio neto de 0,75 USD.

VI. RECOMENDACIONES

Se recomienda:

1. Utilizar Dipol como diluyente de colección, para el semen porcino diluido para su posterior conservación en refrigeración, ya que presentó resultados satisfactorios desde el punto de vista reproductivo, productivo y económico.
2. Realizar más investigaciones en lo que se refiere a la evaluación de dosis seminales con diluyentes de recolección a partir de las 168 horas, ya que esta investigación presento un muy buen resultado hasta esas horas.
3. Manejar los materiales de recolección seminal con una asepsia estricta con el fin de evitar la contaminación del eyaculado por agentes patógenos presentes en el medio.

VII. LITERATURA CITADA

1. AGROVIT, 2008. [en línea], Inseminación artificial en porcinos, disponible en:
<http://www.agrobit.com>.
2. ALTHOUSE G. C., KUSTER C.E., CLARK S.G., WEISIGER R.M., 2000. Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. Theriogenology. Disponible en: <http://www.uclm.es>.
3. ALMOND G., POOLPERM P., 2002. Semen contamination and choosing antibiotics. Proceedings of the North Carolina Healthy Hogs Seminar, en;
<http://mark.asci.ncsu.edu>.
4. ALBA, ROMERO, C.2008.Apuntes sobre contaminación seminal, disponible en:
email: calba@minitub-iberica.com.
5. BASADONA, D. Y CUENCA, L. 2008. [en línea], Inseminación artificial, Disponible en: <http://www.uclm.es>.
6. BONET, A. et al, 2009. [en línea], Elaboración y conservación de dosis seminales, Disponible en: <http://www.uco.es>.
7. CAMACHO, D. Y MOREJON, E. 2000. Valoración de la Calidad de Semen Porcino Utilizando el Test de Endósmosis y Test de Resistencia Osmótica, Quito, Universidad Central del Ecuador, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
8. CAMACHO, J. Y GALLEGOS, A. 2005. [en línea], colegio de Postgrados, Disponible en: <http://www.ciap.org.ar>.

9. CAICEDO, G. y PEREZ, M. 2002 Conferencias sobre producción espermática, Curso de reproducción porcina, I.N.I.A, España.
10. CMA, Colegio María Auxiliadora, 2006, [en línea], Partes de un espermatozoide, Ecuador, Disponible en: <http://www.cma.aldeae.net>.
11. CORDOVA, A. Y MUÑOZ, R. 2010. [en línea], Características del semen de verraco y su evaluación práctica, Disponible en: <http://66.147.240.151/~porcicul/articulos/?seccion=ia&tema=iar021>.
12. GADEA, J. 2004. [en línea], Los Diluyentes de Inseminación Artificial Porcina, España, Departamento de Fisiología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia, Disponible en: <http://www.agroinformacion.com>.
13. EUMEDIA, J. 2010. [en línea], Mejora de la calidad seminal en inseminación artificial, Disponible en: <http://www.adiveter.com.pdf>.
14. GARCÍA, R.J. 2004. Improvement in reproductive performance in pigs with artificial insemination and MR-A long term preservation diluent. In: 25th Annual Meeting of the American Association of Swine Practitioners. Chicago, pág. 1-5.
15. HAFEZ, E. S.E. 2001. Reproducción e Inseminación Artificial en animales, 6ta edición, México, Interamericana-McGraw-Hill. HERNÁNDEZ, C. 2012: <http://www.slideshare.net/kibaultor/tipos-de-diluyentes-en-la-inseminacin-artificial>.
16. INTA, 2003. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, [en línea], Reproducción, Disponible en: <http://www.inta.gov.ar>.

17. JOHNSON, L. WEITZE K. FISER P. MAXWELL W. 2000. Storage of boar semen. Anim. Reprod. Sci, pág. 62, 143 –172.
18. JUAN DMVZ, 2011. [en línea], Recolección y Análisis del Semen de Verraco, Disponible en: <http://www.buenastareas.com>.
19. LECOZ, P. 2005. Inseminación Artificial, [en línea], La página del cerdo. Disponible en:
http://www.3tres3.com/inseminacion_artificial/index.php.
20. LLOVERA, M. 2009. [en línea], Técnicas de inseminación artificial. Disponible en:
<http://www.sian.info.ve/porcinos/eventos/fericerdo/llovera>.
21. MADEC, F; VANNIER, P. 2005. La contamination de la semence de verrat: risques encourus et règles à respecter. In: Le Point Vétérinaire, vol.21, pág. 121 - 129.
22. MELLISHO, E. 2010. [en línea], Manual de Laboratorio e Reproducción Animal, Disponible en:
http://www.tarwi.lamolina.edu.pe/~emellisho/Reproduccion_archivos/Practica%204-eval-semen.pdf
23. MENA, J. 2012. . [en línea], Diluyente de recolección seminal porcino. Disponible en: <http://www.magapor.com/es/>
24. MAQUEDA, L. 2006. Engormix, [en línea], Conservación de la calidad del semen: diluyentes, empaques, temperatura y transporte, Disponible en: http://www.engormix.com/s_articles_view.asp?AREA=POR&art=113>

25. MINITUBE, 2001. Spermnotes, Volumen XI, Issue 4, summer, 2006.
26. MARTÍNEZ, E. Sebastián, J. Sánchez, R. Garcia, C. Martín, S. 2006, factores que afectan a la inseminación artificial. An. Vet. Murcia 2, pág. 115-120
27. MOISA, S. 2001. [en línea], Inseminación Artificial Porcina, Disponible en: www.manant.unt.edu.ar/Departamentos/pro_animal/General_I/Monografias.
28. MORENO, D. 2000. Comparación de 3 Diferentes Catéteres en Inseminación Artificial en Porcinos, Quito, Universidad Central del Ecuador, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, pág. 56 - 74
29. MUÑOZ, E. Y PAUCAR, F. 2005. Comparación de tres Diluyentes para Semen Bovino, Quito, Universidad Central del Ecuador, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Oficina Internacional de Epizootías (OIE). International Animal HealthCode – 2001 pág. 92-9044-526-2.
30. OCHOA, G. 2008. Evaluación in vitro e in vivo de semen porcino conservado en diluyentes de larga duración, facultad de medicina veterinaria y zootecnia, México, disponible en: email: rortega9_@hotmail.com.
31. PALLÁS, R. 2012. Veterinario. Director Técnico KUBUS, S.A.Madrid - ESPA – disponible en: <http://www.infopork.com/post/2974>.
32. PADILLA, M. 2006. [en línea], Manual de Producción Porcina. Disponible en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/a00111.pdf>.
33. PÉREZ, F. 2002. Reproducción Animal, Inseminación Artificial y Transplante de embriones. 1era edición, España, Científico médica.

34. RODRIGUEZ-MARTINEZ, 2000. [en línea], Evaluación del semen congelado: Métodos tradicionales y de actualidad, Disponible en: <www.ivis.org>

35. VILLA, M. 2005. [en línea], Inseminación Artificial en cerdas, Argentina, Disponible en: <www.agrobit.com/Info_tecnica/Ganad>

ANEXOS

Anexo 1. Prueba t Student, para el contraste de la motilidad masal en semen refrigerado, en la evaluación del Dipol como diluyente de recolección.

a. Motilidad masal a las 24 horas

PARÁMETRO	CON DIPOL	SIN DIPOL
Media	96,97	96,58
Varianza	0,25	0,07
Observaciones	15,00	15,00
Coeficiente de correlación de Pearson	0,47	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	14,00	
Estadístico t	3,52	
P(T<=t) una cola	0,002	**
Valor crítico de t (una cola)	1,76	
P(T<=t) dos colas	0,003	
Valor crítico de t (dos colas)	2,145	

b. Motilidad masal a las 72 horas

PARÁMETRO	CON DIPOL	SIN DIPOL
Media	92,06	86,47
Varianza	0,19	0,75
Observaciones	15,00	15,00
Coeficiente de correlación de Pearson	-0,03	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	14,00	
Estadístico t	21,92	
P(T<=t) una cola	1E-12	**
Valor crítico de t (una cola)	1,76	
P(T<=t) dos colas	3E-12	
Valor crítico de t (dos colas)	2,145	

c. Motilidad masal a las 120 horas

PARÁMETRO	CON DIPOL	SIN DIPOL
Media	87,10	85,00
Varianza	0,33	0,00
Observaciones	15,00	15,00
Coeficiente de correlación de Pearson	0,53	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	14,00	
Estadístico t	17,12	
P(T<=t) una cola	4E-11	**
Valor crítico de t (una cola)	1,76	
P(T<=t) dos colas	9E-11	
Valor crítico de t (dos colas)	2,14	

d. Motilidad masal a las 168 horas

PARÁMETRO	CON DIPOL	SIN DIPOL
Media	83,30	79,00
Varianza	0,90	0,30
Observaciones	15,00	15,00
Coeficiente de correlación de Pearson	0,29	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	14,00	
Estadístico t	17,77	
P(T<=t) una cola	3E-11	**
Valor crítico de t (una cola)	1,76	
P(T<=t) dos colas	5E-11	
Valor crítico de t (dos colas)	2,14	

Anexo 2. Prueba t Student, para el contraste de la motilidad individual en semen refrigerado, en la evaluación del Dipol como diluyente de recolección.

a. Motilidad individual a las 24 horas

PARÁMETRO	CON DIPOL	SIN DIPOL
Media	4,31	3,95
Varianza	0,01	0,05
Observaciones	15,00	15,00
Coefficiente de correlación de Pearson	0,04	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	14,00	
Estadístico t	5,69	
P(T<=t) una cola	2E-05	**
Valor crítico de t (una cola)	1,76	
P(T<=t) dos colas	5E-05	
Valor crítico de t (dos colas)	2,14	

b. Motilidad individual a las 72 horas

PARÁMETRO	CON DIPOL	SIN DIPOL
Media	3,99	3,68
Varianza	0,01	0,01
Observaciones	15,00	15,00
Coefficiente de correlación de Pearson	0,19	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	14,00	
Estadístico t	9,34	
P(T<=t) una cola	1E-07	**
Valor crítico de t (una cola)	1,76	
P(T<=t) dos colas	2E-07	
Valor crítico de t (dos colas)	2,14	

c. Motilidad individual a las 120 horas

PARÁMETRO	CON DIPOL	SIN DIPOL
Media	3,62	3,31
Varianza	0,01	0,01
Observaciones	15,00	15,00
Coeficiente de correlación de Pearson	-0,28	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	14,00	
Estadístico t	7,15	
P(T<=t) una cola	2E-06	**
Valor crítico de t (una cola)	1,76	
P(T<=t) dos colas	4E-06	
Valor crítico de t (dos colas)	2,14	

d. Motilidad individual a las 168 horas

PARÁMETRO	CON DIPOL	SIN DIPOL
Media	3,30	3,16
Varianza	0,00	0,01
Observaciones	15,00	15,00
Coeficiente de correlación de Pearson	0,08	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	14,00	
Estadístico t	4,14	
P(T<=t) una cola	0,00	**
Valor crítico de t (una cola)	1,76	
P(T<=t) dos colas	0,00	
Valor crítico de t (dos colas)	2,14	

Anexo 3. Prueba t Student, para el contraste de la vitalidad espermática en semen refrigerado, en la evaluación del Dipol como diluyente de recolección.

a. Vitalidad espermática a las 24 horas

PARÁMETRO	CON DIPOL	SIN DIPOL
Media	90,80	91,13
Varianza	0,16	0,77
Observaciones	15,00	15,00
Coeficiente de correlación de Pearson	0,24	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	14,00	
Estadístico t	-1,42	
P(T<=t) una cola	0,08	ns
Valor crítico de t (una cola)	1,76	
P(T<=t) dos colas	0,17	
Valor crítico de t (dos colas)	2,14	

b. Vitalidad espermática a las 72 horas

PARÁMETRO	CON DIPOL	SIN DIPOL
Media	88,81	84,82
Varianza	0,58	0,49
Observaciones	15,00	15,00
Coeficiente de correlación de Pearson	-0,12	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	14,00	
Estadístico t	14,00	
P(T<=t) una cola	6E-10	**
Valor crítico de t (una cola)	16131	
P(T<=t) dos colas	1E-09	
Valor crítico de t (dos colas)	2,14	

c. Vitalidad espermática a las 120 horas

PARÁMETRO	CON DIPOL	SIN DIPOL
Media	84,99	79,99
Varianza	0,54	0,74
Observaciones	15,00	15,00
Coeficiente de correlación de Pearson	-0,15	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	14,00	
Estadístico t	15,80	
P(T<=t) una cola	1E-10	**
Valor crítico de t (una cola)	1,76	
P(T<=t) dos colas	2E-10	
Valor crítico de t (dos colas)	2,14	

d. Vitalidad espermática a las 168 horas

PARÁMETRO	CON DIPOL	SIN DIPOL
Media	82,87	77,24
Varianza	1,53	0,56
Observaciones	15,00	15,00
Coeficiente de correlación de Pearson	-0,43	
Diferencia hipotética de las medias	0,00	
Grados de libertad	14,00	
Estadístico t	12,77	
P(T<=t) una cola	2E-09	**
Valor crítico de t (una cola)	1,76	
P(T<=t) dos colas	4E-09	
Valor crítico de t (dos colas)	2,14	

Anexo 4. Prueba de hipótesis según X^2 , para el contraste de frecuencias de desarrollo bacteriano en semen refrigerado, durante la evaluación del Dipol como diluyente de recolección.

a. Desarrollo bacteriano a las 24 horas

Ha: La Frecuencia de desarrollo bacteriano a las 24 horas, no se distribuye equitativamente en el semen heterospérmico colectado mediante el uso de Dipol y grupo Testigo.

Ho: La Frecuencia de desarrollo bacteriano a las 24 horas, se distribuye equitativamente en el semen heterospérmico colectado mediante el uso de Dipol y grupo Testigo.

TRATAMIENTO	POSITIVOS		NEGATIVOS		X^2 Calc	GL	X^2 Tab 0,05	X^2 Tab 0,01
	VO	VE	VO	VE				
SIN DIPOL	0,00	0,00	100,00	100,00			7,81	
CON DIPOL	0,00	0,00	100,00	100,00	0,00	3	NS	11,3 NS
CONCLUSIÓN:	Ho: Aceptada.							

b. Desarrollo bacteriano a las 72 horas

Ha: La Frecuencia de desarrollo bacteriano a las 72 horas, no se distribuye equitativamente en el semen heterospérmico colectado mediante el uso de Dipol y grupo Testigo.

Ho: La Frecuencia de desarrollo bacteriano a las 72 horas, se distribuye equitativamente en el semen heterospérmico colectado mediante el uso de Dipol y grupo Testigo.

TRATAMIENTO	POSITIVOS		NEGATIVOS		X ² Calc	GL	X ² Tab	X ² Tab
	VO	VE	VO	VE			0,05	0,01
SIN DIPOL	6,67	3,33	93,33	96,67			7,81	
CON DIPOL	0,00	3,33	100,00	96,67	6,90	3	NS	11,3 NS
CONCLUSIÓN:	Ho: Aceptada.							

c. Desarrollo bacteriano a las 120 horas

Ha: La Frecuencia de desarrollo bacteriano a las 120 horas, no se distribuye equitativamente en el semen heterospérmico colectado mediante el uso de Dipol y grupo Testigo.

Ho: La Frecuencia de desarrollo bacteriano a las 120 horas, se distribuye equitativamente en el semen heterospérmico colectado mediante el uso de Dipol y grupo Testigo.

TRATAMIENTO	POSITIVOS		NEGATIVOS		X ² Calc	GL	X ² Tab 0,05	X ² Tab 0,01
	VO	VE	VO	VE				
SIN DIPOL	13,33	6,67	86,67	93,33				
CON DIPOL	0,00	6,67	100,00	93,33	14,29	3	7,81 *	11,3 **

CONCLUSIÓN: Ho: Rechazada.

d. Desarrollo bacteriano a las 168 horas

Ha: La Frecuencia de desarrollo bacteriano a las 168 horas, no se distribuye equitativamente en el semen heterospérmico colectado mediante el uso de Dipol y grupo Testigo.

Ho: La Frecuencia de desarrollo bacteriano a las 168 horas, se distribuye equitativamente en el semen heterospérmico colectado mediante el uso de Dipol y grupo Testigo.

TRATAMIENTO	POSITIVOS		NEGATIVOS		X ² Calc	GL	X ² Tab	X ² Tab
	VO	VE	VO	VE			0,05	0,01
SIN DIPOL	26,67	13,33	73,33	86,67				
CON DIPOL	0,00	13,33	100,00	86,67	30,77	3	7,81 *	11,3 **
CONCLUSIÓN:	Ho: Rechazada.							

Anexo 5. Prueba de hipótesis según X^2 , para el contraste de la Tasa de Concepción, en cerdas inseminadas con semen heterospérmico colectado con Dipol como diluyente de recolección.

Ha: La Tasa de Concepción, no se distribuye equitativamente en las cerdas inseminadas con semen heterospérmico colectado mediante el uso de Dipol y Sin Dipol.

Ho: La Tasa de Concepción, se distribuye equitativamente en las cerdas inseminadas con semen heterospérmico colectado mediante el uso de Dipol y Sin Dipol.

TRATAMIENTO	POSITIVOS		NEGATIVOS		X^2 Calc	GL	X^2 Tab 0,05	X^2 Tab 0,01
	VO	VE	VO	VE				
SIN DIPOL	80,00	90,00	20,00	10,00				
CON DIPOL	100,00	90,00	0,00	10,00	22,22	3	7,81 *	11,3 **
CONCLUSIÓN:	Ho: Rechazada.							

Anexo 6. Prueba de hipótesis según X^2 , para el contraste de la Tasa de Fertilidad, en cerdas inseminadas con semen heterospérmico colectado con Dipol como diluyente de recolección.

Ha: La Tasa de Fertilidad, no se distribuye equitativamente en las cerdas inseminadas con semen heterospérmico colectado mediante el uso de Dipol y Sin Dipol.

Ho: La Tasa de Fertilidad, se distribuye equitativamente en las cerdas inseminadas con semen heterospérmico colectado mediante el uso de Dipol y Sin Dipol.

TRATAMIENTO	POSITIVOS		NEGATIVOS		X^2 Calc	GL	X^2 Tab 0,05	X^2 Tab 0,01
	VO	VE	VO	VE				
SIN DIPOL	80,00	90,00	20,00	10,00				
CON DIPOL	100,00	90,00	0,00	10,00	22,22	3	7,81 *	11,3 **

CONCLUSIÓN: Ho: Rechazada.

Anexo 7. Análisis de varianza de las características reproductivas y productivas en cerdas sometidas a inseminación artificial, con el uso del Dipol como diluyente de recolección seminal en semen refrigerado.

a. Tasa de prolificidad

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	17	17,61			
Tratamiento	1	11,73	11,73	31,96	<,0001
Error	16	5,87	0.36		

%CV	DS	MM
5,37	0,60	11,27

Tukey	Mean	N	Tratamiento
A	12,00	10	CON DIPOL
B	10,37	8	SIN DIPOL

b. Peso de crías

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	17	0,01			
Tratamiento	1	0,00	0,00	0,36	0,55
Error	16	0,01	0,00		

%CV DS MM
 1,83 0,02 1,33

Tukey	Mean	N	Tratamiento
A	1,33	8	SIN DIPOL
A	1,32	10	CON DIPOL

Anexo 8. Prueba de hipótesis según X^2 , para el contraste del porcentaje de natimortos, en las camadas de cerdas inseminadas con semen heterospérmico colectado con Dipol como diluyente de recolección.

Ha: El porcentaje de natimortos, no se distribuye equitativamente en las camadas de cerdas inseminadas con semen heterospérmico colectado mediante el uso de Dipol y Sin Dipol.

Ho: El porcentaje de natimortos, se distribuye equitativamente en las camadas de cerdas inseminadas con semen heterospérmico colectado mediante el uso de Dipol y Sin Dipol.

TRATAMIENTO	POSITIVOS		NEGATIVOS		X^2 Calc	GL	X^2 Tab	X^2 Tab
	VO	VE	VO	VE			0,05	0,01
SIN DIPOL	1,09	0,96	98,91	99,04				
CON DIPOL	0,83	0,96	99,17	99,04	0,04	3	7,81 ns	11,3 ns

CONCLUSIÓN: Ho: Aceptada.

Anexo 9. Análisis bacteriológico del laboratorio.



Carlos Alvarado N50-09 y Los Álamos
 Telf: 2411-637 / 095003160 Fax: 2412-494
 e-mail: resultados@livex.com.ec Quito-Ecuador

INFORME DE RESULTADOS

CASO:	Ñ- 0144	MUESTRAS:	Semen
CLIENTE:	Carina Salazar	ESPECIE:	Porcina
DIRECCION DEL CLIENTE:	No informa	RAZA:	No informa
HACIENDA:	No informa	SEXO:	M
DIRECCION DEL PREDIO:	Chimborazo	EDAD:	2 años
TELEFONO:	2 377-480		
MEDICO REMITENTE:	No informa	RESPONSABLE:	C. Montalvo
FECHA DE RECEPCION:	2013-01-24	CONDICIONES AMBIENTALES DE ENSAYO:	18 ° C – 25 ° C
FECHA DE ANALISIS:	2013-01-24		
FECHA DE EMISION DEL INFORME:	2013-01-30		

Pruebas Solicitadas: Cultivo - antibiograma

Tratamientos antes de la toma de muestra: NR

ANAMNESIS: No informa

Prueba:	CULTIVO - ANTIBIOGRAMA	Método:	CULTIVO (LVX / MAL/ 105-00)
----------------	-------------------------------	----------------	------------------------------------

IDENTIFICACIÓN: Ñ- 0144 – 01 – LUIGI DIA 1 CON DICOL

RESULTADO

Sin desarrollo bacteriano

ANTIBIOGRAMA

No justifica

IDENTIFICACIÓN: Ñ- 0144 – 02 – LUIGI DIA 1 SIN DICOL

RESULTADO

Sin desarrollo bacteriano

ANTIBIOGRAMA

No justifica



Carlos Alvarado N50-09 y Los Álamos
 Telf: 2411-637 / 095003160 Fax: 2412-494
 e-mail: resultados@livex.com.ec Quito-Ecuador

IDENTIFICACIÓN: Ñ- 0144 – 03 – LUIGI DIA 7 SIN DICOL

RESULTADO

Desarrollo de *Pseudomonas sp.*

ANTIBIOGRAMA

SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
Enrofloxacin	Amikacina	Cefalexina
	Ceftazidima	Ceftriaxona
		Ampicilina
		Gentamicina
		Sulfatrimetoprim
		Imipenem
		Piperaciclina
		Carbenicilina

*Este informe no podrá ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación de la Gerencia.

*NOTA: ESTE RESULTADO ES UNICAMENTE VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

ATENTAMENTE,

Micrb. Cristina Montalvo
 Directora LIVEXLAB

Micrb. Gabriela Paredes
 Coordinadora de Bacteriología