



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

**“EVALUACIÓN DE SEMEN PORCINO SOMETIDO A DILUCIÓN EN DOS ETAPAS
TÉRMICAS Y SU EFECTO REPRODUCTIVO SOBRE LA INSEMINACIÓN
ARTIFICIAL EN CERDAS”**

TRABAJO DE TITULACIÓN

Previo a la obtención del título:
INGENIERO ZOOTECNISTA

AUTOR:
PAUL CLEMENTE VILLA SAMANIEGO

Riobamba – Ecuador
2015.

Esta tesis fue aprobada por el siguiente Tribunal

Ing. M.C. Lucia Monserrat Silva Déley.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

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

Ing. M.C. Luís Gerardo Flores Mancheno.
ASESOR DE TESIS

Riobamba, 30 Abril de 2015.

AGRADECIMIENTO

A mis maestros, de la Carrera de Ingeniería Zootécnica, por su aporte científico en mi preparación profesional, y en especial al Centro de Transferencia Genética “Reprogenes,” por haberme permitido demostrar el potencial académico durante el desarrollo de la presente investigación.

Un profundo agradecimiento a mi hermano Ing. Guillermo Villa por involucrarme en las sendas del progreso científico, con el inicio y culminación de este gran trabajo, que detalla el talento del estudiante politécnico, de igual manera a cada uno de los miembros del tribunal de tesis: Ing. Edgar Hernández, Ing. Luis Flores, Ing. Lucia Silva, por su aporte en el desarrollo y culminación de mi investigación.

DEDICATORIA

A Dios por ser mi guía, durante el transcurso de mi carrera profesional, de igual manera a mí amada hija quien es mi razón de vivir Damaris y mi eterno amor Marlene gracias por tu paciencia y apoyo incondicional.

A mis amados padres Eduardo y Eugenia quienes me llevaron siempre por el buen camino a mis queridos hermanos en especial Guillermo por tus sabios consejos pilar fundamental en el desarrollo como profesional.

A los docentes de la Facultad de Ciencias Pecuarias gracias por permitirme prepararme en sus aulas y aportar con un grano de conocimiento para el desarrollo de mi País.

A la juventud estudiosa de la ESPOCH.

Paul Villa S.

CONTENIDO

	Pág.	
Resumen		v
Abstract		vi
Lista de Cuadros		vii
Lista de Gráficos		viii
Lista de Anexos		ix
I. <u>INTRODUCCIÓN</u>		1
II. <u>REVISIÓN DE LITERATURA</u>		3
A. COLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DEL SEMEN		3
B. RITMO DE COLECTA		3
1. <u>Partes del eyaculado a recoger</u>		4
2. <u>Conservación de la calidad semen</u>		5
C. DILUYENTES		5
D. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DEL SEMEN PORCINO		7
E. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS		8
1. <u>Color</u>		8
2. <u>Olor</u>		8
3. <u>pH</u>		8
4. <u>Volumen</u>		9
F. CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICA		9
1. <u>Concentración espermática</u>		9
2. <u>Formas anormales</u>		10
3. <u>Motilidad en masa</u>		11
4. <u>Motilidad individual</u>		11
5. <u>Vitalidad</u>		12
G. EMPAQUE Y TRANSPORTE DEL SEMEN		12
H. MANEJO DE LA TEMPERATURA		13
1. <u>Velocidades de enfriamiento</u>		13
2. <u>Adaptación térmica</u>		14
3. <u>Daños espermáticos en la adaptación térmica</u>		15
I. CUIDADOS DEL SEMEN PARA LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL		16

1. <u>Bioseguridad, higiene y desinfección</u>	16
2. <u>Puntos críticos de manejo</u>	18
J. FACTORES A TENERSE EN CUENTA EN LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL	19
K. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL PORCINA	20
III. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	23
A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	23
B. UNIDADES EXPERIMENTALES	23
C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES	24
1. <u>Materiales</u>	24
2. <u>Equipos</u>	24
3. <u>Instalaciones</u>	25
D. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	25
E. MEDICIONES EXPERIMENTALES	27
1. <u>Primera Fase</u>	27
2. <u>Segunda Fase</u>	27
F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA	27
G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	28
1. <u>Primera fase</u>	28
a. Dilución control en una etapa térmica	28
b. Dilución en dos etapas térmicas	29
2. <u>Segunda fase</u>	29
H. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN	29
1. <u>Concentración</u>	29
2. <u>Motilidad masal</u>	30
3. <u>Motilidad individual</u>	30
4. <u>Vitalidad espermática</u>	31
5. <u>Peso de las cerdas al servicio</u>	31
6. <u>Peso de las cerdas al final de la gestación</u>	31
7. <u>Tasa de concepción</u>	31
8. <u>Tasa de fertilidad</u>	31
9. <u>Tasa de prolificidad</u>	32
10. <u>Peso de crías y camada al nacimiento</u>	32

11. <u>Análisis Económico</u>	32
IV. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	33
A. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DEL EYACULADO DE VERRACO, ANTES DE SER SOMETIDO A DILUCIÓN PARA SU POSTERIOR CONSERVACIÓN EN REFRIGERACIÓN.	33
1. <u>Color y olor</u>	33
2. <u>Volumen del eyaculado</u>	35
3. <u>Potencial hidrógeno</u>	35
4. <u>Concentración espermática</u>	35
5. <u>Motilidad masal e individual</u>	36
6. <u>Formas anormales</u>	37
7. <u>Vitalidad</u>	37
B. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS ESPERMÁTICAS, EN SEMEN PORCINO HETEROSPÉRMICO, SOMETIDO A DOS SISTEMAS DE DILUCIÓN TÉRMICA.	38
1. <u>Evaluación espermática a las 24 horas</u>	38
a. Motilidad masal	38
b. Motilidad individual	43
c. Vitalidad espermática	43
2. <u>Evaluación espermática a las 72 horas</u>	43
a. Motilidad masal	43
b. Motilidad individual	44
c. Vitalidad espermática	44
3. <u>Evaluación espermática a las 120 horas</u>	44
a. Motilidad masal	44
b. Motilidad individual	45
c. Vitalidad espermática	45
4. <u>Evaluación espermática a las 168 horas</u>	45
a. Motilidad masal	45
b. Motilidad individual	46
c. Vitalidad espermática	46
C. EVALUACIÓN REPRODUCTIVA DE CERDAS INSEMINADAS	47

CON EL USO DE SEMEN PORCINO HETEROSPERMICO REFRIGERADO, SOMETIDO A DOS SISTEMAS DE DILUCIÓN TÉRMICA.	
1. <u>Duración de la gestación</u>	47
2. <u>Tasa de concepción y fertilidad</u>	49
3. <u>Prolificidad</u>	51
D. EVALUACIÓN PRODUCTIVA DE CERDAS INSEMINADAS CON EL USO DE SEMEN PORCINO HETEROSPERMICO REFRIGERADO, SOMETIDO A DOS SISTEMAS DE DILUCIÓN TÉRMICA.	51
1. <u>Peso inicial y final</u>	51
2. <u>Peso post parto</u>	53
3. <u>Peso de crías al nacimiento</u>	53
4. <u>Peso de camada al nacimiento</u>	54
5. <u>Porcentaje de natimortos</u>	54
E. EVALUACIÓN ECONÓMICA EN CERDAS INSEMINADAS CON EL USO DE SEMEN PORCINO HETEROSPÉRMICO SOMETIDO A DOS SISTEMAS DE DILUCIÓN TÉRMICA.	54
V. <u>CONCLUSIONES</u>	57
VI. <u>RECOMENDACIONES</u>	58
VII. <u>LITERATURA CITADA</u>	59
ANEXOS	

RESUMEN

En el Centro de Transferencia Genética Reprogenes, ubicada en la Ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo, se realizó la evaluación de semen porcino heterospérmico, de la línea comercial Camborough 22, sometido a dilución en una y dos etapas térmicas y su efecto reproductivo sobre la inseminación artificial en cerdas Landrace-York Shire utilizando un diseño completamente al azar, para la evaluación seminal y un diseño de bloques completamente al azar, para la evaluación reproductiva en cerdas, durante un lapso de 160 días de investigación. Al finalizar el experimento, se determinó el mejor promedio en las características espermáticas a las 168 horas de evaluación, para el semen de verraco heterospérmico sometido a un sistema de enfriamiento en dos etapas térmicas, alcanzando promedios de 79,55 %, 4,52 puntos y 76,58 % para la motilidad masal, motilidad individual y vitalidad espermática respectivamente. La mayor fertilidad presentaron las cerdas inseminadas con semen expuesto a un sistema de enfriamiento en dos etapas térmicas, alcanzando el 93,33 % de fertilidad y la mayor tasa de prolificidad, alcanzando 13,50 lechones/camada, lo que repercute sobre el peso de camada al nacimiento alcanzando un promedio de 17,92 kg, y determinándose el mayor índice Beneficio - Costo alcanzando un valor con 1,84 USD. Por lo que se recomienda utilizar el sistema de enfriamiento en dos etapas térmicas para el semen porcino durante su procesamiento y conservación en refrigeración, ya que presentó resultados satisfactorios desde el punto de vista reproductivo, productivo y económico y socializar la información obtenida en la presente investigación a nivel de Centros de procesamiento de semen porcino y Granjas semi-intensivas e intensivas recomendando la utilización del sistema de enfriamiento en dos etapas térmicas.

ABSTRACT

In Reprogenes transfer genetic center, located in Riobamba city, Chimborazo province, was carried out the evaluation of porcine semen heterospérmico, commercial line Camborough 22, subjected to dilution in one and two thermal stages and its effect on the insemination in reproductive sows Landrace-York Shire using a completely randomized design, for seminal evaluation and a design of completely randomized blocks, for reproductive evaluation in sows, during a period of 160 days of research. The experiment determined that the best average in the spermatic characteristics at 168 hours of evaluation, for the porcine semen heterospérmico subjected a cooling system in two thermal stages, reaching averages of 79,55%, 4.52 points and 76,58% for mass and individual motility and spermatic vitality respectively. The most fertility presented sows inseminated with semen exposed to cooling system in two thermal stages, reaching 93,33% of fertility and increased prolificacy rate, reaching 13,5 piglets a litter, which affects the litter weight at birth reaching an average of 17,92 Kg, and determined the highest benefit – cost reaching a value in 1,84 USD. So it recommended to use the cooling system in two thermal stages for the porcine semen during processing and conservation in refrigeration, since it presented satisfactory results from the reproductive, productive and economic point of view and socialize the information obtained at processing centers of porcine semen level and intensive and semi-intensive farms recommending the use of cooling system in two thermal stages.

LISTA DE CUADROS

No.		Pág.
1.	DIFERENTES TIPOS DE MOVIMIENTO DE LOS ESPERMATOZOIDES.	11
2.	VITALIDAD ESPERMATICA DE SEMEN PORCINO	12
3.	CONDICIONES METEOROLÓGICAS EN LA CIUDAD DE RIOBAMBA.	23
4.	ESQUEMA DEL EXPERIMENTO.	26
5.	ESQUEMA DEL EXPERIMENTO.	26
6.	CUADRO DEL ADEVA PARA LA PRIMERA FASE.	28
7.	CUADRO DEL ADEVA PARA LA SEGUNDA FASE.	28
8.	CALIFICACION DE MOVIMIENTO EN MASA	30
9.	CALIFICACION DE MOTILIDAD INDIVIDUAL.	30
10.	CONTRASTACIÓN DEL EYACULADO HETEROESPERMICO DE VERRACO, ANTES DE SER SOMETIDO A DILUCIÓN PARA SU POSTERIOR CONSERVACIÓN EN REFRIGERACIÓN.	34
11.	EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MICROSCOPICAS DE SEMEN PORCINO HETEROSPÉRMICO, SOMETIDO A DOS SISTEMAS DE DILUCIÓN TÉRMICA, DURANTE 168 HORAS EN REFRIGERACIÓN.	39
12.	EVALUACIÓN REPRODUCTIVA Y PRODUCTIVA DE CERDAS YORK-LANDRACE INSEMINADAS CON SEMEN PORCINO HETEROSPÉRMICO REFRIGERADO, SOMETIDO A DOS SISTEMAS DE DILUCIÓN TÉRMICA.	48
13.	EVALUACIÓN ECONÓMICA DE LA PRODUCCIÓN DE CERDAS YORK-LANDRACE INSEMINADAS CON SEMEN PORCINO REFRIGERADO, SOMETIDO A DOS SISTEMAS DE DILUCIÓN TÉRMICA.	55

LISTA DE GRÁFICOS

No.		Pág.
1.	Motilidad Masal en semen porcino heterospérmico, sometido a dos sistemas de dilución térmica, durante 168 horas de evaluación.	40
2.	Motilidad Individual en semen porcino heterospérmico, sometido a dos sistemas de dilución térmica, durante 168 horas de evaluación.	41
3.	Vitalidad espermática en semen porcino heterospérmico, sometido a dos sistemas de dilución térmica, durante 168 horas de evaluación.	42
4.	Tasa de concepción y fertilidad en cerdas multíparas inseminadas con semen porcino sometido a dos sistemas de dilución térmica.	50
5.	Prolificidad en cerdas multíparas inseminadas con semen porcino sometido a dos sistemas de dilución térmica.	52

LISTA DE ANEXOS

1. Análisis de Varianza de las características microscópicas de semen porcino sometido a dos sistemas de dilución térmica.
2. Análisis de Varianza de las características productivas y reproductivas de cerdas Landrace x York Shire multíparas, inseminadas con semen porcino sometido a dos sistemas de dilución térmica.
3. Prueba X^2 para características reproductivas determinadas en cerdas Landrace x York Shire multíparas, inseminadas con semen porcino sometido a dos sistemas de dilución térmica.

I. INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial ha sido, desde hace ya unos años la biotecnología reproductiva más utilizadas a nivel mundial para la mejora genética en la producción porcina, por lo que los centros de transferencia genética no escatiman esfuerzo para difundir esta técnica a nivel de grandes, medianos y pequeños productores desarrollando y probando tecnologías encaminadas a obtener semen refrigerado con los mejores parámetros de vitalidad y fertilidad espermática Mejía, A. (2010).

Considerando que las células espermáticas porcinas de un eyaculado recién colectado son altamente sensibles a la dilución y enfriamiento rápido, y que por otro lado los espermatozoides se enfrentan a la adaptación a un nuevo entorno que representa el plasma seminal, se han desarrollado diferentes sistemas de enfriamiento que permitan una mejor adaptación al plasma seminal. Chuquitarco C. (2012), de esta manera se presta mayor cuidado a las fluctuaciones de temperatura que sufre el semen utilizando materiales isotérmicos, León C. (2006), ya que la membrana celular del espermatozoide esta compuesta por lípidos, lo cual la hace altamente sensible a los cambios de temperatura, viéndose afectada por los cambios de temperaturas en un rango variable de $\pm 2^{\circ}\text{C}$. León C. (2006).

La temperatura en semen diluido debe ser reducida en forma gradual en un tiempo de 2 o 3 horas, hasta que el semen alcance la temperatura ideal para su preservación, que oscila entre 15 y 17 $^{\circ}\text{C}$, considerando que variaciones superiores a 20,0 $^{\circ}\text{C}$ o menores a 13,0 $^{\circ}\text{C}$ pueden afectar la calidad del semen, por su particular sensibilidad a cambios térmicos, Chuquitarco C. (2012).

Para alcanzar calidad espermática en el semen procesado es necesario considerar el tiempo y temperatura a los cuales los espermatozoides se adaptan eficientemente a los medios de dilución que preservarán el material espermático hasta por siete días en refrigeración. En la actualidad el protocolo de dilución generalmente utilizado por los Centros de Transferencia Genética, consta de un solo paso en donde la colección se realiza a temperatura de 37 $^{\circ}\text{C}$, sometiéndolo a una sola dilución con el diluyente a la misma temperatura, posteriormente se

reduce en un lapso de dos horas hasta los 17,0 °C, temperatura a la cual puede ser conservado en refrigeración hasta su uso, Hidalgo, D. (2013).

Actualmente, muchos centros de procesamiento de semen han adoptado procedimientos de producción que permiten controlar de mejor manera la adaptación espermática a los medios de dilución, por lo que a nivel de Europa, se está empleando un sistema que permite diluir el semen en dos etapas térmicas, es decir en dos pasos, en donde el semen es expuesto en el primer paso al diluyente en relación 1:1 a una temperatura de 37,0 °C descendiendo hasta 31 °C durante una hora, momento en el cual realizamos la segunda dilución de acuerdo al número de dosis a obtener, descendiendo finalmente a 17,0 °C en una hora y media, con lo que los espermatozoides alcanzan un mejor grado de adaptación al diluyente, presentando alta calidad durante los 7 días posteriores a la dilución, por lo que la presente investigación se evaluó este nuevo procedimiento de dilución, planteándose los siguientes objetivos:

- Evaluar las características espermáticas del semen refrigerado de verraco, sometido a dilución en dos etapas térmicas y dilución convencional (en una etapa), durante los 7 días posteriores al procesamiento.
- Determinar el método de dilución térmica más adecuado en el procesamiento de semen porcino, a través de la fertilidad y prolificidad obtenida con su uso, en inseminación artificial en cerdas.
- Realizar un análisis económico en función del método de dilución térmica aplicado dentro del procesamiento de semen porcino y su utilización en inseminación artificial en cerdas, a través del indicador beneficio-costo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

A. COLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DEL SEMEN

La IA requiere la utilización simultánea de técnicas de colecta, tratamiento, y conservación del semen así como de la inseminación en sí. La eficacia de las mismas puede ser estimada por intermedio del porcentaje de fertilidad y de partos así como por el tamaño de la camada. Rueda, M. (2006).

B. RITMO DE COLECTA

El eyaculado del verraco tiene la particularidad de movilizar una gran parte de las reservas epididimarias. De esta forma, una colecta semanal puede contener entre 80-100 mil millones de espermatozoides, para una reserva espermática de 100 a 140. Valencia, J. (2005). El aumento del ritmo de colecta agota las reservas movilizables acompañando de una disminución del volumen y de la concentración así como de un aumento de la aglutinación y del porcentaje de anomalías (gota citoplasmática). Por lo tanto es correcto, no someter al verraco a un ritmo de colecta elevado a efectos de no agotar las reservas, ni espaciar demasiado las mismas con el fin de mantener un estímulo constante a la producción del semen.

En la práctica, los mejores resultados son obtenidos con una colecta cada 5 días, o 3 colectas cada 15 días, sin embargo en realidad el protocolo de colecta debe adecuarse a cada macho. Así las granjas que inseminan todas las semanas, practican una colecta/semana; aquellas que inseminan todas las semanas sería recomendable que practiquen una colecta «a blanco», es decir, la semana precedente a la inseminación y desaconsejado coleccionar dos veces en la semana dejando a posterior dos semanas de descanso total. Caiza, D. (2009).

Barañaño, L. (2007), expone diferentes formas de proceder para coleccionar el semen del verraco: empleo de maniquí o de una cerda en celo, utilización de la técnica de la mano enguantada o de una vagina artificial, etc. El objetivo que tenemos que tener en todos los casos es el de producir semen de calidad bacteriológica aceptable a los efectos de evitar las contaminaciones bacterianas y/o virales que

perturbe la conservación del semen, o sean responsables de la transmisión de enfermedades a las cerdas. A tales efectos es altamente recomendable trabajar con maniquí limpio, duchar o desinfectar el prepucio, utilizar la técnica de la mano con dos guantes tipo vinyl (el primero destinado a limpiar la zona prepucio y vaciar el divertículo del mismo, y el segundo, limpio, destinado a atrapar el pene), filtrar el semen durante la colecta con filtros especiales o con 6 espesores de gasa, extender el pene perpendicular al cuerpo del verraco para evitar la caída del fluido prepucial en el copo colector (o utilizar una gasa que retenga el goteo del fluido prepucial en el semen).

1. Partes del eyaculado a recoger

De Alba C. (2010), dice que el eyaculado del verraco se caracteriza por presentarse en cuatro fracciones en orden de aparición. Pre-espermática (fracción clara acompañada de gel o tapioca), representa 5-20% del volumen total; espermática o rica (fracción que proviene del epidídimo) y que posee 70% de los espermatozoides del eyaculado representando 30-50% del volumen total; post-espermática (fracción epididimaria y secreción de glándulas anexas) pobre en espermatozoides pero que representa 50-60% del volumen total colectado; fracción final clara y cargada en «tapioca» la cual serviría de tapón mucoso durante la monta natural evitando así el reflujó de espermatozoides.

Para evitar la contaminación del eyaculado es importante descartar la primera fracción, desprovista de espermatozoides y cargada en bacterias. A partir de aquí podemos colectar, solamente la fracción rica, o la fracción total (fracciones 2 y 3). Es recomendable utilizar la segunda técnica ya que; el número de espermatozoides totales recolectados es mayor y por ende optimizamos el número de dosis por eyaculado si técnica de filtración fue eficaz, el gel quedará retenido sobre el filtro o gasa disminuyendo el tiempo destinado al lavado y desinfección de la sala de colecta y finalmente el porcentaje de fertilidad, de partos y el tamaño de la carnada no se ve afectado. A diferencia de las otras especies domesticas la utilización de una vagina artificial no se ha difundido, no obstante la misma permitiría evitar el problema del acostumbramiento de algunos machos a la mano de un colector en especial. Conza, B. (2004).

2. Conservación de la calidad semen

Pineda, Y. (2007). reporta que un gran número de factores afectan la calidad del semen, entre ellos, procedimientos de evaluación del semen, evaluación de la morfología espermática, reacciones bioquímicas, empaçado y transporte, control de enfermedades, técnicas de inseminación, y las interacciones entre el diluyente con factores como temperatura y tiempo de almacenamiento del semen, entre otros, siendo los más importantes los diluyentes, la temperatura, conservación y empaçado, ya que de esta manera obtendremos una buena conservación de semen en cualquier método de conservación sin dañar su composición espermática.

C. DILUYENTES

Rueda, M. y Ortega, R. (2008); manifiesta que la conservación del semen del cerdo es realizada en base a diluyentes tipo salinos (BTS, Vital, X-Cell, Kiev, Reading, Guelph. IVT, Modena, MR-A, etc.), los cuales no contienen ni leche ni yema de huevo.

Rueda, M. y Ortega, R. (2008); indica que desde su invención, las funciones de los diluyentes han sido básicamente las mismas: Aumentar el volumen de eyaculado y preservar la viabilidad de los espermatozoides. Básicamente los diluyentes proveen una fuente adecuada de nutrientes, un ambiente que proteja a los espermatozoides contra la disminución de temperatura, electrolitos para mantener una adecuada presión osmótica sustancias buffer que protejan el semen contra cambios extremos de pH y antibióticos que inhiban e crecimiento bacterial.

El plasma seminal por sí solo no permite que haya una conservación duradera del semen. Por lo tanto, se le debe añadir un medio adecuado con el fin de prolongar su vida media y mantener su habilidad de fertilización. Los principales ingredientes contenidos en los diluyentes y sus funciones son: Fuentes de energía: La energía es de suma importancia para la motilidad de los espermatozoides. La mayoría de los diluyentes contienen glucosa como principal

fuerza de energía, aunque otras fuentes como galactosa, fructosa, ribosa y trealosa han sido utilizadas sin tener muchas ventajas sobre la glucosa. Rueda, M. y Ortega, R. (2008).

Buffers: El pH de la fracción rica del semen es 6.8 a 7.4 y de la fracción post-espermática es 7.0 a 7.6. Los espermatozoides y las bacterias contenidas en el semen, producen algunos metabolitos como ácido láctico, por lo que las sustancias buffer son necesarias en la preservación del semen. Buffers simples como el bicarbonato de sodio tienen una acción limitada, mientras que sustancias como el ácido 3N Morfolino propanesulfónico (MOPS) o el ácido N-2-hidroxietil piperazin-N2-etanosulfónico (HEPES) tienen una mejor acción. Rueda, M. y Ortega, R. (2008).

Electrolitos: Se utilizan para regular la presión osmótica, principalmente el cloruro de potasio y el cloruro de sodio.

Antibióticos: Los antibióticos más utilizados actualmente son gentamicina, lincomicina, neomicina y espectinomina. Rueda, M. y Ortega, R. (2008).

Estabilizadores de membrana: 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 seroalbúmina bovina BSA, hidroxitolueno butilado (BTH), etilén disódico diamino tetraacetata EDTA, polivinil pirrolidona (PVP-40), y alcohol polivinílico. Rueda, M. y Ortega, R. (2008).

Según Rueda, M. y Ortega, R. (2008); los diluyentes se clasifican en:

- Diluyentes frescos: Conservan la calidad del semen durante 1-3 días.
- Diluyentes congelados: Son más complejos en su composición y preservan el semen hasta un número alto de días.
- Diluyentes de larga duración para semen refrigerado: Son más complejos en su composición y preservan el semen hasta por 8 días.

Ochoa, G. y Ortega, R. (2008), expone que la elección de uno u otro depende de muchos factores entre los cuales destacaremos: la relación precio/calidad, el periodo del año, el hecho de si el semen va a ser transportado o no, la categoría de las hembras a inseminar, sin embargo es necesario recalcar que la tecnología de la larga conservación del semen no se limita exclusivamente a la elección de tal o cual diluyente, en efecto el diluyente mágico no existe. Ochoa, G. y Ortega, R. (2008); por ejemplo si utilizamos verracos seleccionados por su calidad seminal, con un ritmo de colecta de una vez/semana, practicando una tasa de dilución de 1/10, colectando solo la fracción rica, sin transportar el semen, diluyentes relativamente simples como el diluyente yema de huevo citrato de permitirían alargar la vida útil clásicamente considerada de 3 días a 4 o 5. A pesar de estas consideraciones hoy en día el 65% de las Inseminaciones Artificiales Porcinas (IAP) en el mundo son realizadas con semen diluido y el 85% de las mismas son realizadas en un periodo de tiempo de uno a dos días después que el semen fue colectado.

D. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DEL SEMEN PORCINO

En la práctica, la capacidad fecundante de un reproductor se mide por el porcentaje de gestaciones respecto al número de cubriciones o inseminaciones realizadas. Este método, aun cuando es el más exacto, tiene el inconveniente de que los resultados se conocen tardíamente, lo cual puede ocasionar fallas graves en el caso de que el verraco presente problemas de fecundidad. De allí la necesidad de detectar, lo más pronto posible, aquellos machos con baja calidad espermática Rugeles, C. (2013). La valoración de la calidad espermática se considera de vital importancia, ya que permite decidir sobre el uso del eyaculado a los efectos de la IA; si bien la evaluación depende en gran parte de la subjetividad del evaluador, tiene alto valor de predicción, por cuanto se ha demostrado que existe una estrecha relación entre evaluación y fertilidad.

Rugeles, C. (2013) menciona que la primera inspección del eyaculado que vamos a realizar consiste en pruebas macroscópicas.

E. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS

1. Color

El color normal es de una tonalidad cremosa, si es muy claro nos indicará una escasa concentración espermática. Un color amarillento nos revelará la presencia de orina, en estos casos irá además acompañado de olor característico. Los verracos que eyaculen habitualmente con orina no deben utilizarse, ya que esta nos puede provocar fenómenos de aglutinación de los espermatozoides, Rugeles, C. (2013).

Si el tono es rosáceo nos estará señalando que hay sangre en el eyaculado; aunque en un principio esto no afecta a la conservación del semen, deberemos reconocer al verraco en busca de posibles traumatismos, Rugeles, C. (2013).

2. Olor

El olor del semen de verraco es sui generis; en caso de contaminación con orina, presentará modificaciones características, mayor volumen, escasa concentración y un pH alto. Rugeles, C. (2013).

3. pH

Es indicador de la concentración de iones de hidrógeno. La evaluación de la acidez o alcalinidad del eyaculado es de gran importancia y debe realizarse inmediatamente después de la extracción, ya que pueden presentarse variaciones amplias en poco tiempo, Ochoa, G. et. al. (2008).

El pH de las secreciones de las glándulas seminales del verraco es de reacción ácida, debido principalmente a la concentración de ácido cítrico, aunque también segregan fructuosa e inositol. La secreción de la próstata tiene un pH ligeramente alcalino. Las glándulas bulbouretrales o de Cowper aportan la fracción gelatinosa parecida a la tapioca, Ochoa, G. et. al. (2008).

Ochoa, G. et, al. (2008), señala que el pH en el verraco varía de 7 a 7,8 con media de 7,4 (ligeramente alcalino). La medición del pH se realiza con un peachímetro o con cinta de azul de bromotimol, siendo más preciso el primero. Generalmente, cuando existe una afección inflamatoria de las glándulas accesorias hay una elevación del pH. El semen con un pH alcalino resulta con escasa posibilidad fecundante.

4. Volumen

El volumen del eyaculado de un verraco depende de factores, tales como: edad, raza, frecuencia de uso y condiciones ambientales. Se mide el volumen utilizando para ello probetas o bolsas plásticas graduadas, Rugeles, C. (2013).

En el verraco el volumen sin tapioca, asciende por término medio a 150 cc y fluctúa entre 100 y 200 cc, Rugeles, C. (2013).

F. CARACTERISTICAS MICROSCÓPICA

1. Concentración espermática

La concentración expresa el número de espermatozoides por centímetro cúbico. La técnica empleada consiste en hacer una dilución 1/100 en una solución de cloruro de sodio al 0,99% la técnica que utiliza el espermio-densímetro presentan el mismo principio, el de conteo directo uno por uno en proporción a la dilución utilizada es más precisa, por lo que requiere de tiempo para su determinación. La técnica que utiliza el espectrofotómetro es más rápida, pero menos precisa, ya que la determinación está en función de la opacidad de la muestra, hecho que además de la concentración espermática, la lectura también dependerá de la concentración de proteínas plasmáticas.

Un eyaculado completo tendrá una concentración media de 300.000 espermatozoides por milímetro cúbico, con un promedio de 60 a 80 x 10⁹ espermatozoides totales, Estos valores son de gran importancia cuando se usa la IA, ya que permiten determinar el número de dosis. Cada dosis debe contener un

promedio de $3-5 \times 10^9$ células espermáticas viables para garantizar un alto porcentaje de concepción. La concentración media observada es de $338,13 \text{ esp.} \times 10^9 / \text{mm}^3$. Erazo, E. (2007).

2. Formas anormales

Vamos a determinar la presencia total de morfo anomalías y la proporción de cada una de ellas por separado. Para ello clasificaremos los espermatozoides en varias categorías:

- Espermatozoides de morfología normal.
- Espermatozoides con anomalías de cabeza.
- Espermatozoides con anomalías de cola.
- Espermatozoides con gota citoplasmática proximal.
- Espermatozoides con gota citoplasmática distal.

Las anomalías que con mayor frecuencia suelen aparecer son las correspondientes a la presencia de gotas citoplasmáticas tanto proximales como distales, así como las colas en látigo. En ambos casos se trata de malformaciones de tipo secundario que se producen durante la maduración de los espermatozoides en el epidídimo. Puede darse la circunstancia que un mismo espermatozoide presente varias morfo anomalías a la vez, en este caso se procederá contando cada una por separado y el espermatozoide como una sola célula. De esta manera podría ocurrir (en casos muy extremos) que el resultado del conteo de formas anormales fuera superior al 100%. De todas formas, para considerar que un eyaculado es de óptima calidad, se recomienda que el número total de formas anormales no exceda del 20%. Las diversas malformaciones presentes en el eyaculado pueden ser clasificadas, en función del lugar donde se han originado, en primarias y secundarias.

- Malformaciones primarias: aquellas desarrolladas en el testículo a lo largo de la espermatogénesis o la espermiogénesis. Corresponden a anomalías de la cabeza, pieza intermedia o inserción de la cola.

- Malformaciones secundarias: aquellas desarrolladas en el epidídimo a lo largo del proceso de maduración espermática, suelen corresponder a presencia de gotas citoplasmáticas. Erazo, E. (2007).

3. Motilidad en masa

Para evaluar esta característica tanto en fresco como en pos congelado se colocó una gota de 10UI y se observó al microscopio a 10X: se evaluó de acuerdo con la escala de Erazo, E. (2007).

4. Motilidad individual

La observación de la motilidad espermática debe efectuarse inmediatamente después de la recolección, por cuanto puede ser afectada por factores exógenos como excesivo calor, luz, frío, agentes químicos o extraños. El primer eyaculado después de un largo período de inactividad sexual tiene baja motilidad y elevado número de espermatozoides muertos. La técnica a seguir para evaluar la motilidad se basa en determinar el tipo de movimiento del espermatozoide en el eyaculado. Los diferentes tipos de movimiento podemos clasificarlos así en base al cuadro 1, en relación a lo expuesto por Aisen, D. y Venturino, M. (2004).

Cuadro 1. DIFERENTES TIPOS DE MOVIMIENTO DE LOS ESPERMATOZOIDES.

Valor Puntos 1-5	Características
0	Espermatozoides inmóviles.
1	Espermatozoides con movimientos lentos sin desplazamientos.
2	Espermatozoides con movimientos más vigorosos y casi ninguna o poca progresión.
3	Espermatozoides con movimientos y desplazamientos lentos.
4	Espermatozoides con progresiones rápidas.
5	Espermatozoides con movimientos progresivos muy rápidos (forma de tirabuzón).

Fuente: Aisen, D. y Venturino, M. (2004).

En el verraco se evalúa la motilidad espermática individual. Para ello, se utiliza un portaobjeto sobre el cual se deja caer una gota de semen y se le coloca un cubre objeto, observándose al microscopio con el objetivo 10x. Erazo, E. (2007).

5. Vitalidad

Erazo, E. (2007). Admite que la vitalidad consiste en verificar la proporción de espermatozoides que se hallaban vivos al realizar la preparación.

Los espermatozoides vivos se observarán sin teñir sobre fondo oscuro; frente a los que están muertos que aparecerán teñidos de rojo en toda, o parte de su estructura calificando, así en relación al cuadro 2, expuesto por Erazo E. (2007).

Cuadro 2. VITALIDAD ESPERMATICA DE SEMEN PORCINO.

Característica	Calificación
Normal	75-90%
Valor límite	60%

Fuente: Erazo, E. (2007).

G. EMPAQUE Y TRANSPORTE DEL SEMEN

Rueda, M. (2012), indica que inicialmente el semen fue empacado en botellas de plástico descartables, a posterior, a efectos de mecanizar el condicionamiento del semen, nacieron los tubos de plástico descartables.

En 1994 se comenzaron a realizar las primeras IA de campo con bolsas de plástico descartables; el interés de la mismas es múltiple: menor espacio ocupado para el almacenamiento de las bolsas en la granja o en el centro de IA; el semen es estoqueado horizontalmente permitiendo un intercambio mayor con los nutrientes del diluyente; envasado al vacío; tiempo de IA disminuido por dos: IA fisiológica ya que no es necesario forzar el ingreso de semen en el útero; etc. Finalmente, el procesamiento, empaque y transporte de semen, debe considerar estrictamente las siguientes recomendaciones:

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

También se recomienda establecer una buena relación con la compañía de mensajería que transporte el semen con el fin de mantener la calidad del semen lo menos alterada posible. Rueda, M. (2012).

H. MANEJO DE LA TEMPERATURA

Rueda, M. (2009), dice que otro factor importante en la preservación del poder fecundante del semen del verraco es la temperatura, una vez que el semen fue diluido a 32-34°C debemos reducir la temperatura del mismo en forma gradual (2 o 3 horas) hasta la temperatura de conservación.

Temperaturas de conservación de semen diluido con diluyentes clásicos tipo salino, por debajo de los 14 °C son responsables de alteraciones de la membrana del espermatozoide repercutiéndose en el poder fecundante del mismo; temperaturas por encima de los 20 °C no bajan el metabolismo espermático ni frenan el crecimiento bacteriano lo cual disminuye enormemente la vida útil del semen, Alemán, D. y Hurtado, E. (2006). La temperatura de conservación ideal del semen de verraco varía entre 15-20 °C esta induce una disminución del metabolismo y de la motilidad espermática así como contribuye a frenar el crecimiento bacteriano. Está reconocido que es muy importante controlar la fluctuación de temperatura del semen conservado.

1. Velocidades de enfriamiento

Se conoce, que el efecto de la sensibilidad de los espermatozoides de varias especies domésticas a un enfriamiento súbito de 15 a 0 °C, denominado choque por frío ("cold shock"), en el cual se produce una irreversible pérdida de motilidad

y actividad metabólica, pérdida de proteínas y enzimas celulares y el incremento de la permeabilidad de la membrana a las tinciones, Mejía, A. (2010). También se ha reportado una marcada pérdida o desintegración del acrosoma de los espermatozoides susceptibles al “choque por frío” Mejía, A. (2010). Es así que de la severidad del daño depende de la tasa de enfriamiento, el intervalo de temperatura y el rango de temperatura, estando generalmente entre los 2 a 12 °C. Cuando los espermatozoides porcinos son eyaculados están especialmente propensos al daño por frío, perdiendo rápidamente su viabilidad al enfriamiento rápido a 0 °C Roberto, J. (2012), sin embargo, se ha demostrado que la resistencia al frío se ve incrementada al hacer una pausa de 2 a 4 horas antes de disminuir la temperatura a menos de 15 °C Mejía, A. (2010). Así también Roberto, J. (2012) ha demostrado que la resistencia de los espermatozoides porcinos al choque frío se incrementa al mantenerlos a la temperatura del laboratorio (22 °C) alrededor de 16h después de la eyaculación.

2. Adaptación térmica

Se ha determinado que los espermatozoides testiculares y epididimarios de la cabeza y cuerpo del epidídimo, parecen ser más resistentes al choque frío que los espermatozoides de la cola del epidídimo y del eyaculado Roberto, J. (2012). La adición de la yema de huevo (YH) al diluyente modifica el efecto causado por el choque frío, registrando un persistencia de la motilidad aún debajo de los 8-10°C y del batido flagelar hasta los 5-7 °C (y no a los 14 °C, como ocurre sin YH), sin evidencia del arqueado flagelar y hasta un 70% de los espermatozoides motiles al descongelado Roberto, J. (2012).

La explicación del choque frío aún no es muy clara, pero se cree que está relacionada a la transición de fase de los lípidos de la membrana resultando en una separación de fase y pérdida de la permeabilidad selectiva de las membranas biológicas Roberto, J. (2012). En una revisión de Mejía, A. (2010), indica que existen muchos factores involucrados en la susceptibilidad de los espermatozoides porcinos al choque por frío, siendo los espermatozoides del epidídimo menos susceptibles al daño que los eyaculados; así mismo los espermatozoides en la totalidad del plasma seminal son más susceptibles que los

de la fracción rica. Así también los espermatozoides de los primeros 10 ml de la fracción rica son más resistentes que del resto de la fracción rica, pudiendo evitarse el centrifugado en el protocolo García, F. (2008). Otro factor importante es la incubación de los espermatozoides post eyaculado, el cual incrementa su resistencia al choque frío, como ya se mencionó.

La composición de los ácidos grasos de la membrana plasmática juega un papel importante en la susceptibilidad al estrés térmico. Especies con una ratio de ácidos grasos poliinsaturados: saturados cercanos a la unidad son más resistentes, mientras que las membranas más susceptibles tienen ratios superiores a 2.5, como el porcino. Así también la tasa de colesterol:fosfolípido es un factor importante en la determinación de la fluidez de la membrana biológicas, así un elevado ratio determina una mayor resistencia de los espermatozoides al estrés térmico Mejía, A. (2010).

3. Daños espermáticos en la adaptación térmica

Dentro del protocolo de congelación la fase de enfriamiento de 17 – 5 °C suele ser crítica como ya se indicó, pero no existen trabajos en porcinos que hayan determinado el uso de mayores velocidades de enfriamiento a las utilizadas en los protocolos actuales. En un trabajo realizado por García, F. (2008), concluye que protocolos con bajas tasas de enfriamiento (0.10 °C/min) no son mas benéficos de aquellos con altas tasas de enfriamiento (4.20 °C/min) en semen bovino, ya sea en parámetros de viabilidad espermática post descongelación, o para resultados de fertilidad post inseminación. Además concluye que los cambios parecidos a la capacitación están presentes en los espermatozoides post descongelación, pero que son independientes a la tasa de enfriamiento utilizada. Así también similares datos se han registrado en especies silvestres como el ciervo rojo ibérico, utilizando en este caso espermatozoides de la cola del epidídimo. Flores E. et al. (2006).

A pesar del daño producido en los espermatozoides debido al descenso de la temperatura, se ha observado que los espermatozoides de porcino pueden soportar temperaturas de hasta 12 °C por periodos prolongados (hasta 60 h) sin

perder su capacidad fecundante y sin disminuir significativamente su motilidad Flores, E. et al. (2006).

I. CUIDADOS DEL SEMEN PARA LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

Chalé, J. (2007), dice que la reproducción controlada de cerdos por medio del uso de Inseminación artificial requiere de muchos cuidados y el éxito es el resultado de la suma de varios factores, entre ellos el cuidado en la manipulación del semen.

Desde el manejo adecuado de los verracos, la colecta, dilución, almacenaje y transporte de las dosis seminales se deben cuidar algunos aspectos que son críticos pero que muchas veces pasamos por alto.

A continuación voy a mencionar los aspectos que a mi criterio son los más importantes a tomar en cuenta para el manejo de las dosis seminales

La Temperatura: Los cambios bruscos de temperatura son dañinos para la viabilidad del semen, el rango de temperatura para almacenar las dosis seminales es de 16 a 18 grados C. Para debemos tener el equipo adecuado para almacenar el semen diluido, es muy recomendable monitorear periódicamente la temperatura interna de la conservadora y llevar un registro de las variaciones de temperatura.

1. Bioseguridad, higiene y desinfección

El elaborar y mantener las dosis seminales con la menor carga bacteriana posible es otro de los aspectos fundamentales para producir y distribuir un semen de calidad.

Lo primero es proteger nuestro centro de inseminación de la entrada de potenciales patógenos; para lo cual hemos de observar una serie de medidas de bioseguridad. De todas formas, y dado que el objetivo de este artículo se centra en el trabajo dentro del propio centro, no profundizaremos demasiado en este campo, limitándonos a citar las normas básicas de bioseguridad que deberían

seguirse en cualquier centro de inseminación para evitar la entrada de agentes infecciosos que pudieran tanto afectar a la salud de los verracos como ser transmitidos vía semen:

- Centro alejado de otras explotaciones u otros posibles focos de contagio (carreteras, mataderos, etc).
- Vallado de todo el perímetro (impedir el acceso de personas o animales salvajes y/o domésticos).
- Restricción y registro de visitas.
- Cuarentena obligatoria y alejada del centro para todos los nuevos animales.

Pero centrándonos en el propio centro de inseminación y la actividad diaria que en él se desarrolla podemos determinar que los principales puntos de riesgo que pueden actuar como focos de origen de contaminación bacteriana son:

- Fecal.
- Pelo, piel, prepucio del verraco.
- Humanos, portadores de determinada flora cutánea.
- Agua de boca; esta ha de estar tratada con cloro.
- Agua destilada.
- Vegetales (cama y/o comida).
- Aire, sistemas de ventilación.
- Patologías del verraco; orquitis, cistitis, uretritis, etc.
- Materiales y maquinaria del laboratorio.

Así pues, una vez conocidos los posibles focos de contaminación, vamos a pasar a enumerar una serie de estrategias las cuales, incidiendo sobre dichos puntos, nos pueden ayudar a eliminar o reducir al máximo la presencia de bacterias en las dosis seminales:

- Utilizar material desechable.
- Cortar el pelo del prepucio frecuentemente.
- Emplear la técnica del doble guante para llevar a cabo la extracción.

- Vaciar el divertículo prepucial antes de la extracción y limpiar la zona alrededor.

No recoger la fracción pre-espermática pues contiene gran cantidad de bacterias procedentes del tracto uretral. Durante la extracción mantener el pene del verraco horizontal y paralelo al suelo para evitar que por el escurran impurezas al vaso de recogida.

2. Puntos críticos de manejo

Realizar la extracción de machos problemáticos al final para evitar contaminaciones cruzadas. Limpiar la sala de recogida tras cada jornada y la cuadra del verraco al menos una vez a la semana utilizando un producto desinfectante. Lavar el material reutilizable del laboratorio con un detergente neutro que no deje residuos, después aclararlo con agua destilada, y en caso de que el material lo permita, esterilizarlo por calor en la estufa (120°C durante 2h. por ejemplo). Lavar el laboratorio diariamente (suelo y superficies) con detergentes que no dejen residuos. Hacer circular cada día solución jabonosa por los circuitos y gomas de máquinas y bombas peristálticas, aclarar con agua destilada y volver a hacer circular alcohol de 70°, aclarando con agua destilada antes de su nuevo uso.

Especial relevancia, hasta el punto de convertirse en un punto crítico en si mismas, tienen las gomas y conductos de las máquinas como las líneas de envasado, bombas peristálticas en general y cualquier circuito por el que pase el semen o el diluyente. Esto obedece a que su luz interior constituye un lugar ideal para que las bacterias se acantonen, ya que se dan las condiciones idóneas de humedad y temperatura si estos sistemas no son correctamente desinfectados.

Se hace por tanto necesario resaltar la importancia que reviste la concienzuda limpieza y desinfección diaria de todo el material que entra en contacto con el semen y el diluyente, pues estos, dada su composición rica en nutrientes, se ofrecen como medios de cultivo idóneos para el desarrollo de microorganismos a pesar de la inclusión de antibióticos; a los cuales, por otra parte, cada vez es mayor el número de bacterias que presentan resistencias. No en vano, algunas de

estas especies bacterianas aisladas e identificadas en cultivos de dosis seminales (es el caso por ejemplo de *Serratia marcescens*) son las mismas responsables de no pocos procesos nosocomiales en las unidades de cuidados intensivos de los hospitales; haciendo harto complicada la tarea de los médicos a la hora de hacerles frente dada su enorme capacidad para desarrollar resistencias, incluso a antibióticos de la más reciente aparición.

Conviene reseñar, por otra parte, que la inclusión de combinaciones antibióticas en la formulación de los diluyentes tiene como objetivo el inhibir la proliferación bacteriana para conservar el mayor tiempo posible la vida útil de las dosis seminales; no el eliminar su presencia de las mismas. Cuanto más potente y de mayor espectro sea esta combinación antibiótica, mejor desarrollará su función, pero ante la presencia de presiones de infección altas o aparición de cepas resistentes no queda más alternativa que potenciar las medidas de higiene y desinfección.

J. FACTORES A TENERSE EN CUENTA EN LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

Acosta, M. (2010), indica que entre los principales factores que se tienen que controlar para que los resultados en fertilidad como en prolificidad se mejoren de manera continua cuando se utiliza la IA son:

- Capacitación práctica del personal técnico para proceder adecuadamente en cada una de las diversas rutinas desde la colección, evaluación y procesamiento del semen, hasta la aplicación de las dosis, mediante el uso de actualizados manuales de procedimientos.
- Implementación de estrategias para el control y erradicación de enfermedades que afectan la reproducción en las cerdas reproductoras.
- Mejoramiento en el diseño o modificación de las instalaciones del laboratorio y los espacios para los sementales.
- Establecimiento de adecuadas medidas y programas de bioseguridad y de programas.

- Producción de dosis de alta calidad utilizando procedimientos para evitar la contaminación del semen por microorganismos patógenos.
- Uso de agua de alta calidad y de diluyentes que permiten una larga conservación y reducen los riesgos por cambios de temperatura.
- Adecuados procedimientos para el envasado, transporte, almacenamiento y aplicación de las dosis en las granjas de pié de cría.
- Mejoramiento de los programas de manejo reproductivo y de alimentación.

Esto incluye diversas estrategias para el manejo de las cerdas de primer ingreso y las multíparas como son: detección del celo mediante el correcto uso de sementales, ya sea intactos o vasectomizados, determinación precisa del momento y la frecuencia para las inseminaciones, uso de técnicas específicas de estimulación física u hormonal durante la inseminación, así como el correcto manejo en las primeras semanas de la gestación.

En resumen, se debe considerar que el crecimiento en el uso de la IA es resultado de una serie de avances tecnológicos y de una mejor oferta de equipos e insumos. Sin embargo, en nuestras condiciones actuales la disponibilidad del factor humano de alta calidad, así como de animales sanos serán tal vez las principales limitantes para que podamos cosechar excelentes resultados.

K. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL PORCINA

De acuerdo a García P. et al (2007), la técnica y la aplicación de la inseminación artificial (IA) en todo el mundo ha cambiado considerablemente desde que fue propuesta como una herramienta práctica por investigadores rusos y japoneses hace más de sesenta años. Durante los 80, el crecimiento de la IA es paulatino y paralelo al desarrollo de nuevos y específicos diluyentes para la especie porcina, así como de adecuadas técnicas para el procesamiento y manejo del semen. Durante este período en Europa se difunde mucho el uso de los servicios de inseminadores en las regiones con mayor progreso porcícola, quienes dependen en la mayoría de los casos de Centros de IA y/o Centros de Transferencia Genética (C.T.G).

También se difunde el servicio de entrega de semen diluido por parte de los C.T.G a través de eficientes sistemas del correo oficial o de la mensajería privada. Durante este período, ocurre el uso del semen congelado, principalmente con el fin de la introducción de material genético, pero con bajos riesgos sanitarios. En la década de los 90 es cuando el uso de la IA. tiene un crecimiento explosivo en el resto del mundo, con sus respectivas variaciones de un país a otro. Además de su implementación en granjas porcícolas tecnificadas de diversos tamaños, es luego incorporada en las megas empresas donde se tienen que modificar instalaciones y sus procesos en las áreas de servicios para la adopción de esta. Se pueden utilizar verracos grandes en hembras pequeñas. Se ahorra tiempo cuando hay un grupo numeroso de hembras sincronizadas para servicio.

En las piaras comerciales, la IA. Permite crear programas de cruzamientos de fácil ejecución, sin necesidad de una gran inversión en las razas requeridas de verracos. El mejor conocimiento del estatus reproductivo del rebaño de cría resultará en la más efectiva selección de los animales reproductores. La inseminación artificial necesita establecer un nivel más elevado de manejo y puede consumir gran cantidad de tiempo si no se organiza correctamente. El productor debe desear verdaderamente que la IA tenga éxito, detallando concienzudamente todas las fases del programa. García P. et al (2007).

La IA requiere que el servicio se haga correctamente y en el momento apropiado durante el estro para obtener una alta tasa de partos y buen tamaño de camadas. La detección de celo debe hacerse por lo menos dos veces al día si se quieren obtener los mejores resultados. Para introducir nuevo material genético en el rebaño con un mínimo riesgo de enfermedades y aumentar el uso de un macho en particular, los productores deberían considerar la introducción de un programa de IA. Estos programas, al proporcionar una posibilidad viable de mejorar el rebaño, requieren mayores esfuerzos de la administración, pero producirán una más clara conciencia de cuáles son los problemas reproductivos que se presentan en el rebaño.

Se requieren muy pocos equipos especiales para establecer un programa que funcione bien. Uno de los mejores usos de un programa de IA es la introducción

de nueva genética en el rebaño usando semen comercial. El semen colectado en la misma granja es ideal para extender el uso de unos cuantos verracos superiores. Si se siguen unas cuantas sugerencias sencillas, la IA, usando semen fresco, producirá tasas de concepción y carnadas de un tamaño igual o superior a las que se logran con servicios naturales. El uso de semen congelado podría generar resultados menos favorables García P. et al (2007).

BARLOCCO, N. et al (2008), señala que la característica económica más importante en la producción porcina es el número de lechones destetados por cerda/año. Es esencial que todas las cerdas de cría conciban pronto, para camadas numerosas y desteten un alto porcentaje de los lechones nacidos.

Cuando se usa correctamente un verraco fértil, con un manejo óptimo de las hembras, aproximadamente el 95% de los óvulos normales producidos deberían ser fertilizados. El manejo para lograr el máximo rendimiento reproductivo implica servir correctamente, dar buena nutrición y que haya salud en la piara y el ambiente.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO

El trabajo experimental se desarrolló en el Centro de Transferencia Genética “REPROGENES”, ubicado en la vía Riobamba – Guano Km 2 ½ sector San Antonio de las Abras, cantón Riobamba, provincia de Chimborazo. La investigación tuvo una duración de 160 días.

Las condiciones meteorológicas imperantes en la zona se detallan en el cuadro 3.

Cuadro 3. CONDICIONES METEOROLÓGICAS EN LA CIUDAD DE RIOBAMBA.

Parámetro	Promedio
Temperatura, °C	13,5
Humedad relativa, %	66,2
Precipitación, mm/año	340,8
Heliofanía, Horas luz	8,5

Fuente: Estación meteorológica de la Facultad de Recursos Naturales. ESPOCH. (2014).

B. UNIDADES EXPERIMENTALES

Para la primera fase de la investigación el tamaño de unidad experimental fue de 2 dosis seminales de semen heterospérmico con un volumen de 100 ml, provenientes de 2 cerdos de raza Camborough 22, de 1 año de edad, con 10 repeticiones por tratamiento por lo que se utilizó un total de 40 dosis para la primera fase del experimento.

En la segunda fase, cada unidad experimental estuvo conformada por una cerda múltipara mestiza de la raza Landrace-York Shire, de 2do a 4to parto, con 15 repeticiones por tratamiento, y se utilizó un total de 30 cerdas para el estudio.

C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES

Los materiales, equipos e instalaciones que se utilizo en el desarrollo de la presente investigación se distribuyen de la siguiente manera:

1. Materiales

- Verracos Camborough 22
- Cerdas multíparas Landrace-York Shire
- Compuestos Hormonales (RegumateR)
- Jeringuillas
- Agua Bidestilada
- Diluyentes
- Pipetas
- Guante de colección
- Termometro de tarjeta
- Termo de colección
- Botellas de Inseminación
- Catéteres
- Registros
- Calculadora
- Cinta Porcinométrica
- Kit para atención al parto
- Alimento Balanceado
- Desinfectantes

2. Equipos

- Microscopio
- Baño maría
- Espermiométrico
- Cámara de conservación graduable
- Cámara fotográfica

- Computador
- Balanza electrónica

3. Instalaciones

En el presente estudio se utilizó las instalaciones del Centro de Transferencia Genética “REPROGENES” como Laboratorio e instalaciones de Granjas asociadas a la empresa para la inseminación artificial.

D. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento consto de dos fases claramente definidas; la primera corresponde a la evaluación del semen sometido a dilución en una y dos etapas térmicas para ser conservado en refrigeración, mientras que la segunda fase corresponde a la evaluación de la fertilidad y prolificidad determinado en cerdas multíparas sometidas a inseminación artificial con el uso del semen proveniente de la fase anterior. Los tratamientos en la primera fase de la investigación se distribuyeron bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) debido al manejo homogéneo que se hallaron tanto en el procesamiento de semen como en la conservación del mismo, por lo que el experimento se ajusto al siguiente modelo lineal aditivo:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : Valor de la variable en consideración

μ : Promedio

τ_i : Efecto de los tratamientos

ε_{ij} : Efecto del error experimental

En el cuadro 4, se presenta el esquema del experimento de la primera fase correspondiente a la evaluación seminal del semen refrigerado a lo largo de siete días de conservación.

Cuadro 4. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO.

TRATAMIENTOS	CÓDIGO	REPETICIONES	TUE	TOTAL DÓISIS
Dilución en 1 etapa	DUE	10	2	20
Dilución en 2 etapas	DDE	10	2	20
TOTAL				40

TUE: Tamaño de la Unidad Experimental. (2 Dosis semanales de 100 ml).

Los tratamientos en la segunda fase se distribuyeron bajo un Diseño de Bloques Completamente al Azar en consideración al número de parto, ajustándose al siguiente modelo lineal aditivo.

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : Valor de la variable en consideración

μ : Promedio

τ_i : Efecto de los tratamientos

β_j : Efecto de repeticiones o bloques

ε_{ij} : Efecto del error experimental

El esquema del experimento que se presenta en el cuadro 5, corresponde a la segunda fase de evaluación del semen refrigerado sobre la inseminación artificial en cerdas.

Cuadro 5. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO.

TRATAMIENTOS	CÓDIGO	REPETICIONES	TUE	TOTAL CERDAS
Semen dilución en 1 Etapa	DUE	15	1	15
Semen dilución en 2 Etapas	DDE	15	1	15
TOTAL				30

TUE: Tamaño de la Unidad Experimental. (Una cerda Múltipara Landrace-York Shire).

E. MEDICIONES EXPERIMENTALES

1. Primera Fase

Posterior a la dilución se evaluó las siguientes características en el semen diluido y refrigerado:

- Motilidad Masal (%), a las 24, 72, 120 y 168 horas.
- Motilidad Individual (pts.), a las 24, 72, 120 y 168 horas.
- Vitalidad Espermática (%), a las 24, 72, 120 y 168 horas.

2. Segunda Fase

En la segunda fase se evaluó las siguientes características:

- Peso de las cerdas al servicio (Kg)
- Peso de las cerdas al final de la gestación (Kg)
- Tasa de concepción (%)
- Tasa de fertilidad (%)
- Prolificidad (No. de lechones)
- Peso de camada al nacimiento (Kg)
- Análisis económico (USD)

F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA

Los resultados obtenidos en la presente investigación fueron sometidos a los siguientes procedimientos estadísticos:

- Análisis de Varianza (ADEVA)
- Separación de Medias por el método de Tukey a un nivel de significancia de $P < 0,05$ y $P < 0,01$.
- Prueba X^2 , para variables no paramétricas ($P < 0,05$ y $P < 0,01$).
- Estadística descriptiva.

El esquema del ADEVA, para la fase 1 y 2 se presenta en los cuadros 6 y 7.

Cuadro 6. CUADRO DEL ADEVA PARA LA PRIMERA FASE.

Fuente de Variación	Grados de libertad
Total	19
Tratamientos	1
Error	18

Cuadro 7. CUADRO DEL ADEVA PARA LA SEGUNDA FASE.

Fuente de Variación	Grados de libertad
Total	29
Tratamientos	1
Repeticiones	14
Error	14

G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

1. Primera fase

Inicialmente se procedió a la colección y evaluación de los eyaculados de los dos verracos utilizados, en donde se evaluaron las características macroscópicas del semen: color, olor, volumen de la fracción rica, pH, así como las características microscópicas del mismo, concentración, formas anormales, motilidad masal, motilidad individual y vitalidad espermática. Posteriormente se procedió a la aplicación de los tratamientos, en las recolecciones posteriores de acuerdo a los siguientes lineamientos:

a. Dilución control en una etapa térmica

Es la técnica convencional de dilución, en la cual, el eyaculado recolectado a 37 °C fue diluido de acuerdo a la concentración espermática en una sola etapa, hasta descender a una temperatura de 17 °C, en un lapso de 2 horas, y fue conservado en refrigeración por 7 días.

b. Dilución en dos etapas térmicas

Es la técnica propuesta de dilución, en la cual, el eyaculado recolectado a 37 °C fue diluido por primera vez a relación 1:1 con el diluyente, hasta descender su temperatura durante una hora a 31 °C, temperatura a la cual se diluye una segunda vez para posteriormente descender a la temperatura de conservación de 17 °C, en un tiempo de una hora y media, para posteriormente ser conservado en refrigeración por 7 días.

2. Segunda fase

Dentro de la segunda fase se procedió a la identificación de las granjas participantes en el estudio, posteriormente a la selección y arreglo en bloques de las cerdas como unidad experimental. Para la aplicación de los tratamientos fue necesario efectuar un programa de sincronización con el uso de progestágenos al alimento, en donde se utilizó Altrenogest (Regumate) por 18 días, suspensión de dos días y los tres días siguientes se procedió a la identificación del momento óptimo de servicio, e inseminación artificial cada 24 horas, aplicando los dos tratamientos. El diagnóstico de preñez se realizó a los 21 días por el método de no retorno al estro y posteriormente la confirmación de la concepción al día 42. Finalmente se realizó la atención al parto al día 114+3 días y se evaluaron los parámetros reproductivos. El peso de las cerdas se controló al momento del servicio y final de la gestación. El manejo sanitario se realizó de acuerdo a las políticas y procedimientos de cada granja y Reprogenes.

H. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN

Las variables experimentales que se evaluaron en la presente investigación son las siguientes:

1. Concentración

Se determinó mediante el uso del espermiodensímetro el mismo que se basó en la utilización de una dilución 1:9 de semen y una solución de cloruro de sodio al 0,9 %, aplicados dentro de un prisma en el cual se aplica un sistema de lectura

con equivalencias basadas en la densidad espermática mediante tablas, que determinaron el número de espermatozoides/ml y luego la cantidad de dosis seminales obtenidas.

2. Motilidad masal

Se colocó una gota de eyaculado fresco en la placa del porta objetos a temperatura de 37 °C, y 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 8.

Cuadro 8. 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).

3. 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), se evaluó la motilidad individual en una escala de 0 a 5 como se detallara en el cuadro 9.

Cuadro 9. 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).

4. Vitalidad espermática

Para la determinación de la vitalidad espermática se utilizó la técnica de tinción vital con el colorante Eosina-Nigrosina (Solución de Eosina al 2 % y solución de nigrosina al 4 % las mismas que permanecen separadas hasta su utilización), utilizando un tubo de ensayo se mesclo cuatro gotas de eosina, ocho gotas de nigrosina, para luego tomar una gota de este preparado y mezclar con una gota de semen, posteriormente se efectuó una extensión sobre un porta atemperado a 37 °C y se seca al aire. Se procedió a la observación con lente de inmersión en 1000 X totales y estimación de la proporción de espermatozoides blancos en porcentaje, los mismos que presentaron integridad en su membrana por lo tanto vitalidad espermática.

5. Peso de las cerdas al servicio

Para determinar el peso corporal de las cerdas se utilizo la cinta porcinométrica, mediante la determinación del perímetro torácico a nivel dorsoesternal, al momento del servicio.

6. Peso de las cerdas al final de la gestación

En esta variable se utilizó la cinta porcinométrica, mediante la determinación del perímetro torácico a nivel dorsoesternal, al final de la gestación (114 \pm 3) días.

7. Tasa de concepción

Este indicador se evaluó de acuerdo al número de cerdas que quedaron gestantes luego del servicio en relación al total de cerdas servidas, siendo efectiva la preñez al comprobar el no retorno al estro al día 42 post servicio.

8. Tasa de fertilidad

Este indicador fue evaluado de acuerdo al número de cerdas que llevaron el producto a término, es decir llegaron al parto, en relación al número de cerdas servidas.

9. Tasa de prolificidad

La tasa de prolificidad se evaluó de acuerdo al tamaño de camada al nacimiento, incluyendo lechones vivos y muertos.

10. Peso de crías y camada al nacimiento

Estas variables se evaluaron pesando únicamente los lechones nacidos vivos, y posteriormente se sumó los pesos.

11. Análisis Económico

Se determinó mediante estudios de costos y rentabilidad desde que se inició la investigación, hasta el nacimiento de las crías.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DEL EYACULADO DE VERRACO, ANTES DE SER SOMETIDO A DILUCION PARA SU POSTERIOR CONSERVACIÓN EN REFRIGERACIÓN.

A continuación describimos las características macroscópicas y microscópicas determinadas en 8 extracciones de semen proveniente de 2 cerdos de raza Camborough 22 de 1 año de edad, los mismos que posteriormente fueron procesados, conservados y utilizados en la inseminación artificial de cerdas.

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, como se reporta en el cuadro 10.

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), manifiesta 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 por lo regular una elevada proporción de gérmenes. Ello hace que sea muy corto

Cuadro 10. CONTRASTACIÓN DEL EYACULADO HETEROESPERMICO DE VERRACO, ANTES DE SER SOMETIDO A DILUCIÓN PARA SU POSTERIOR CONSERVACIÓN EN REFRIGERACIÓN.

CARACTERÍSTICA	Promedio	DS
Número de Extracciones (n)	8	-
Color	Blanco Lechoso	-
Olor	Proteico Neutro	-
Volumen de Eyaculado (mL)	187,25	6,76
pH	7,11	0,11
Concentración (1X10 ⁶ Spz./ml)	350,00	20,70
Motilidad Masal (%)	99,13	1,13
Motilidad Individual (Pts.)	4,93	0,14
Formas Anormales (%)	1,75	0,71
Vitalidad (%)	99,13	0,83

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, obtenida en las diferentes recolecciones de semen, presentó un promedio de $187,25 \pm 6,76$ mL, lo cual está dentro de los rangos normales de un reproductor de la Línea Comercial Camborough 22, cuadro 10.

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 mL 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, obtenida en las diferentes recolecciones realizadas a los verracos de la Línea Comercial Camborough 22, presentó un promedio de $7,11 \pm 0,11$, lo cual está dentro de los rangos normales, cuadro 10.

Este promedio está cercano al expuesto por Ochoa, G. et, al. (2008), donde afirman 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.

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 mL de eyaculado, presentó un promedio de $350 \pm 20,70 \times 10^6$ espermatozoides/mL, lo cual está dentro de los rangos normales de un reproductor de la Línea Comercial Camborough 22 de 1 año de edad, cuadro 10.

Al respecto por De Alba Romero, C. (2010), manifiesta 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 500×10^6 spz/cc espermatozoides.

5. Motilidad masal e individual

La motilidad masal observada microscópicamente, en las diferentes recolecciones realizadas, presentó un promedio de $99,13 \pm 1,13$ %, 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 apreciación de esta variable es subjetiva, cuadro 10.

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 observada microscópicamente, en las diferentes recolecciones de eyaculados de verracos de la Línea Comercial Camborough 22, presentó un promedio de $4,93 \pm 0,14$ puntos, lo cual indica que los espermatozoides en general presentaron movimientos progresivos y muy rápidos, cuadro 10.

Al respecto 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 ($P < 0,01$), es por esta razón que en la presente investigación se utilizó semen heterospérmico, a fin de obtener un resultado medio que permita generalizar las recomendaciones a diferentes latitudes.

6. Formas anormales

Las formas anormales determinadas microscópicamente en los eyaculados de verracos de la Línea Comercial Camborough 22, analizado en las diferentes recolecciones, presentó un promedio de $1,75 \pm 0,71$ %, 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, cuadro 10.

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 reposo por un buen periodo de tiempo, lo cual ha permitido obtener un semen maduro y de excelentes características.

7. Vitalidad

La Vitalidad espermática determinada por la integridad y calidad de la membrana del espermatozoide, mediante la técnica de tinción con Eosina-Nigrosina, presentó un promedio de $99,13 \pm 0,83$ %, lo que indica que el semen es clasificado de excelente calidad, ya que el mayor porcentaje de vitalidad indica óptima integridad de la membrana citoplasmática, cuadro 10.

De acuerdo a estos resultados se puede 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), obtuvo un promedio de 80,69 % al evaluar esta característica, el cual resulta menor al determinado en la presente investigación.

B. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS ESPERMATICAS, EN SEMEN PORCINO HETEROSPÉRMICO, SOMETIDO A DOS SISTEMAS DE DILUCIÓN TÉRMICA.

Luego del procesamiento del semen de verraco heterospérmico de la línea Comercial Camborough 22, 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 resultados presentados en el cuadro 11 y gráficos 1, 2 y 3.

1. Evaluación espermática a las 24 horas

a. Motilidad masal

La motilidad masal observada microscópicamente a las 24 horas, presentó diferencias significativas ($P < 0,01$), así el mayor porcentaje de motilidad presentó el semen que fue sometido, al sistema de enfriamiento en dos etapas térmicas, con un 97,60 %, seguido por la motilidad reportada en el semen porcino que fue sometido al sistema de enfriamiento en una etapa térmica con 93,55 %.

La repercusión del efecto de la temperatura se hace evidente a las 24 horas de evaluación, al respecto Daza, A. (2002), dice que uno de los factores de importancia en la preservación del poder fecundante del semen del verraco es la temperatura, una vez que el semen fue diluido a 32-34°C debemos reducir la temperatura del mismo en forma gradual (2 o 3 horas) hasta la temperatura de conservación. Asimismo la temperatura de conservación ideal del semen de verraco varía entre 15-20 °C esta induce una disminución del metabolismo y de la motilidad espermática así como contribuye a frenar el crecimiento bacteriano. Está reconocido que es muy importante controlar la fluctuación de temperatura del semen conservado, y es justamente lo que se tomó en consideración en la

Cuadro 11. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DE SEMEN PORCINO HETEROSPÉRMICO, SOMETIDO A DOS SISTEMAS DE DILUCIÓN TÉRMICA, DURANTE 168 HORAS EN REFRIGERACIÓN.

CARACTERÍSTICA	SISTEMAS DE DILUCIÓN EVALUADOS		\bar{X}	Prob.	% CV
	I ETAPA TÉRMICA	II ETAPAS TÉRMICAS			
<u>Evaluación a las 24 horas</u>					
Motilidad Masal (%)	93,55 b	97,60 a	95,58	0,0001 **	0,31
Motilidad Individual (Pts.)	3,67 b	4,88 a	4,28	0,0001 **	4,98
Vitalidad (%)	88,57 b	92,03 a	90,30	0,0001 **	0,50
<u>Evaluación a las 72 horas</u>					
Motilidad Masal (%)	91,80 b	95,95 a	93,73	0,0001 **	0,41
Motilidad Individual (Pts.)	3,26 b	4,54 a	3,90	0,0001 **	5,09
Vitalidad (%)	82,46 b	86,18 a	84,32	0,0001 **	0,48
<u>Evaluación a las 120 horas</u>					
Motilidad Masal (%)	81,50 b	85,30 a	83,40	0,0001 **	0,61
Motilidad Individual (Pts.)	2,82 b	4,45 a	3,64	0,0001 **	4,86
Vitalidad (%)	68,06 b	85,18 a	76,62	0,0001 **	0,83
<u>Evaluación a las 168 horas</u>					
Motilidad Masal (%)	75,75 b	79,55 a	77,65	0,0001 **	0,76
Motilidad Individual (Pts.)	2,19 b	4,52 a	3,36	0,0001 **	5,73
Vitalidad (%)	53,48 b	76,58 a	65,03	0,0001 **	1,21

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

Prob: Probabilidad.

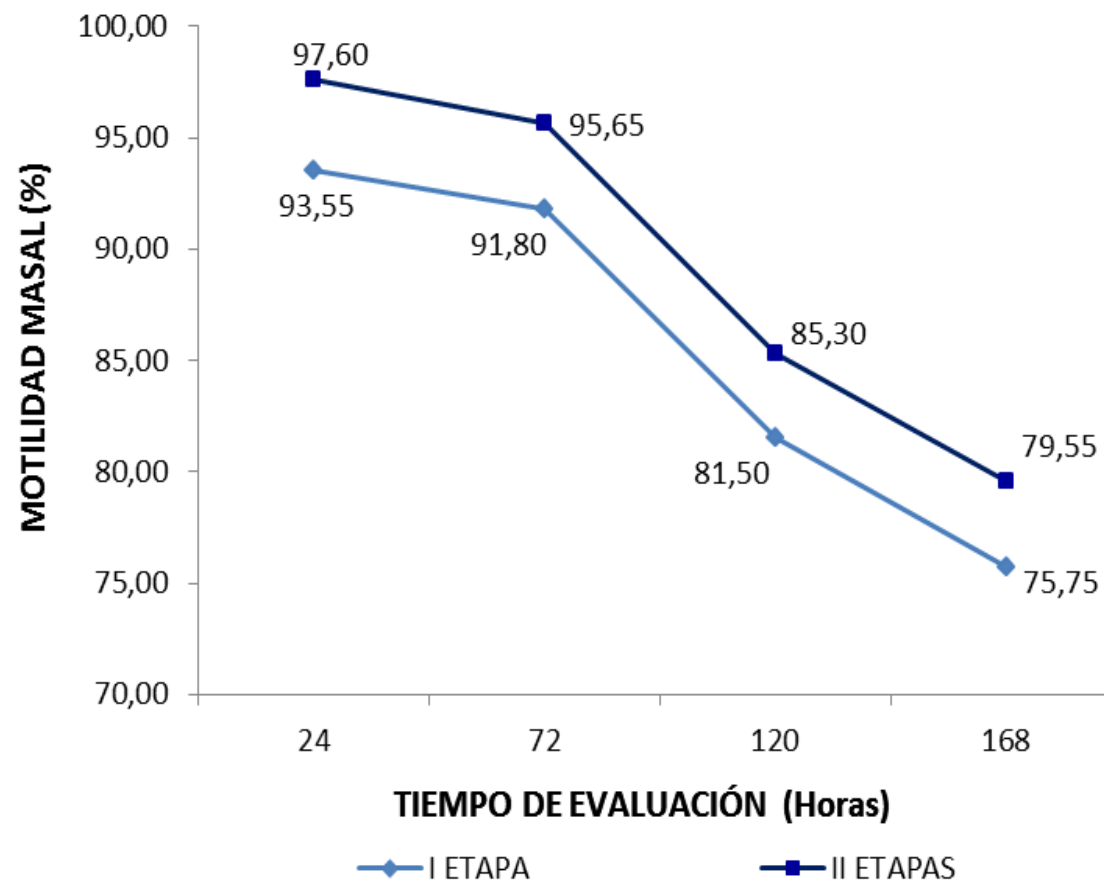


Gráfico 1. Motilidad Masal en semen porcino heterospérmico, sometido a dos sistemas de dilución térmica, durante 168 horas de evaluación.

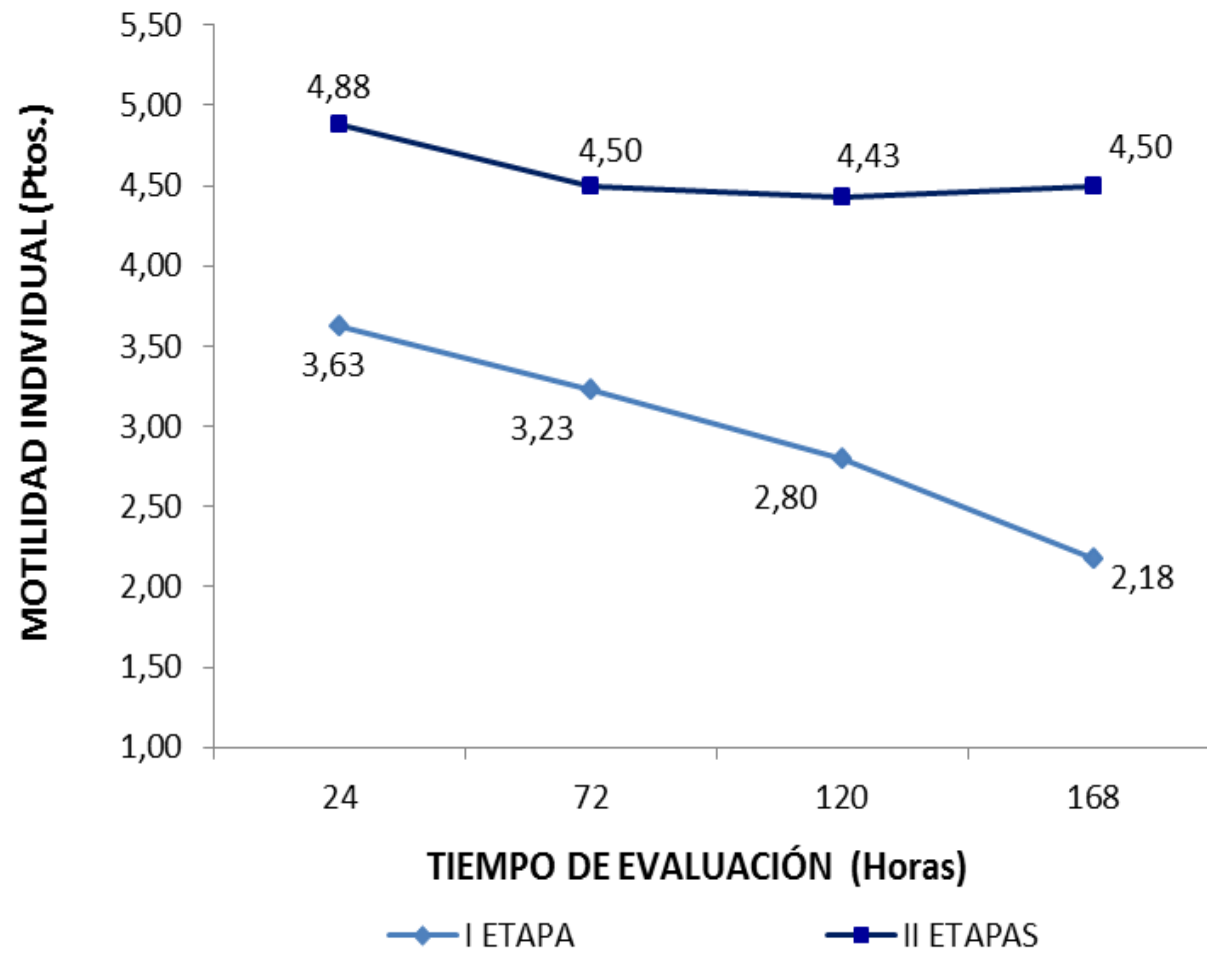


Gráfico 2. Motilidad Individual en semen porcino heterospérmico, sometido a dos sistemas de dilución térmica, durante 168 horas de evaluación.

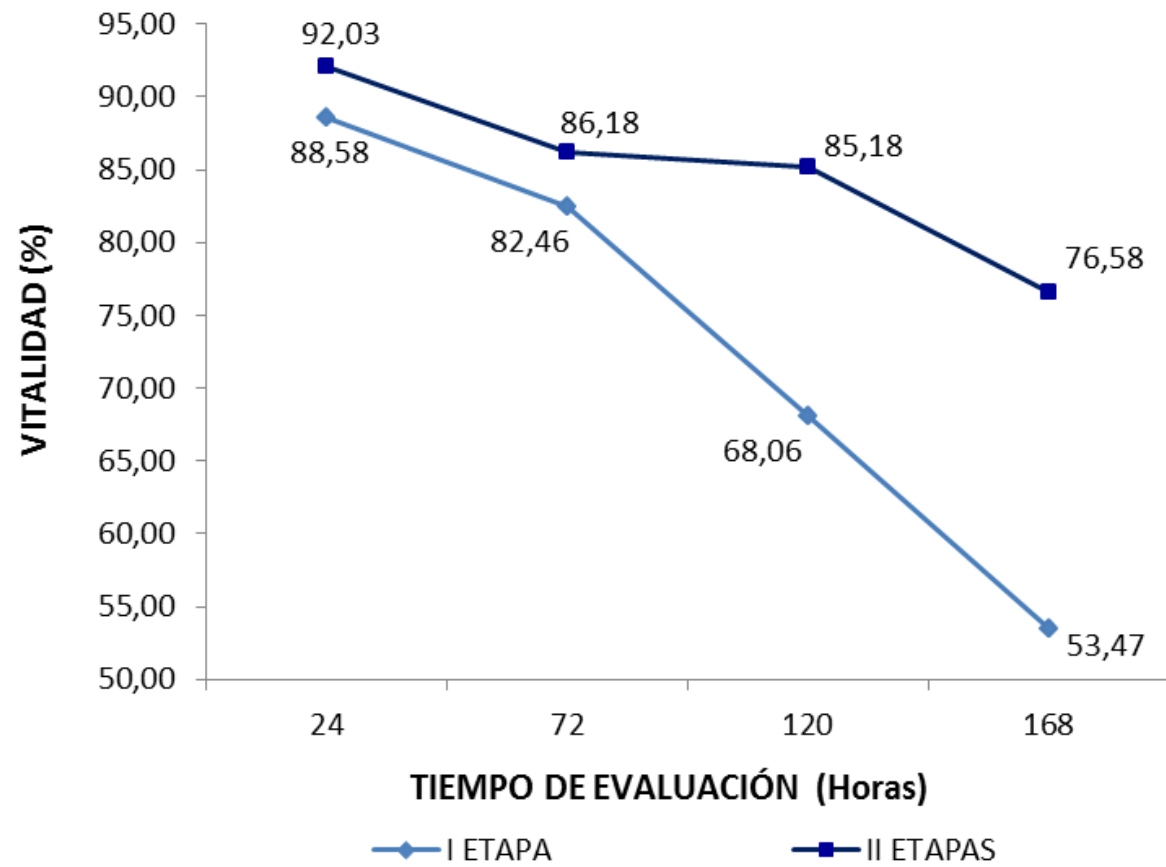


Gráfico 3. Vitalidad espermática en semen porcino heterospérmico, sometido a dos sistemas de dilución térmica, durante 168 horas de evaluación.

presente investigación ya que el semen fue conservado a temperatura constante de 17 °C.

b. Motilidad individual

La motilidad individual observada microscópicamente a las 24 horas de evaluación en el semen procesado, presentó diferencias significativas ($P < 0,01$), así el mayor puntaje de motilidad individual presentó el semen que fue sometido a dilución en dos etapas térmicas con 4,88 puntos, seguido por el semen porcino que fue sometido al período de enfriamiento convencional de con un promedio de 3,67 puntos respectivamente.

c. Vitalidad espermática

La vitalidad espermática determinada por la calidad de la membrana mediante tinción con Eosina-Nigrosina a las 24 horas de evaluación, presentó diferencia significativa ($P < 0,01$), de esta manera el mayor porcentaje de vitalidad presentó el semen que fue diluido en dos etapas térmicas con 92,03 %, seguido por la vitalidad determinada en el semen porcino que fue sometido al sistema de enfriamiento convencional en con un valor de 88,57 %.

Respecto a estos resultados hay que considerar que las temperaturas de conservación de semen diluido con diluyentes clásicos tipo salino, por debajo de los 14 °C son responsables de alteraciones de la membrana del espermatozoide repercutiéndose en el poder fecundante del mismo; temperaturas por encima de los 20 °C no bajan el metabolismo espermático ni frenan el crecimiento bacteriano lo cual disminuye enormemente la vida útil del semen Gil, P. (1996).

2. Evaluación espermática a las 72 horas

a. Motilidad masal

La motilidad masal observada microscópicamente a las 72 horas, presentó diferencias significativas ($P < 0,01$), así el mayor porcentaje de motilidad se identificó en el semen que fue sometido al sistema de enfriamiento en dos etapas

con el 95,95 %, seguido por el semen porcino diluido en una etapa térmica con el 91,80 % de motilidad.

b. Motilidad individual

La motilidad individual observada microscópicamente a las 72 horas de evaluación en los espermatozoides de semen procesado, presentó diferencia significativa ($P < 0,01$), determinándose que el mayor puntaje de motilidad correspondió al semen que fue sometido al sistema de enfriamiento en dos etapas térmicas con 4,54 puntos, seguido por la motilidad determinada en el semen porcino que fue expuesto al sistema de enfriamiento en una etapa con un puntaje de 3,2 puntos.

c. Vitalidad espermática

La vitalidad espermática determinada por la calidad de la membrana mediante tinción con Eosina-Nigrosina a las 72 horas de evaluación presentó diferencia significativa ($P < 0,01$), así el mayor porcentaje de vitalidad se presentó en el semen tratado con el sistema en dos etapas térmicas con 86,18 %, seguido por la vitalidad determinada en las dosis seminales provenientes del sistema de enfriamiento convencional en una etapa con un porcentaje de 82,46%.

3. Evaluación espermática a las 120 horas

a. Motilidad masal

La motilidad masal observada microscópicamente a las 120 horas, en el semen porcino heterospérmico de la Línea Camborough 22, presentó diferencias significativas ($P < 0,01$), así el mayor porcentaje de motilidad fue registrado en el semen expuesto a un sistema de enfriamiento en dos etapas térmicas con 85,30 %, seguido por la motilidad determinada en el semen porcino sujeto al sistema de enfriamiento en una etapa térmica con 81,50 %.

b. Motilidad individual

La motilidad individual observada microscópicamente a las 120 horas de evaluación seminal presentó diferencias significativas ($P < 0,01$), así el mayor puntaje de motilidad individual fue identificado en el semen procesado mediante el enfriamiento en dos etapas térmicas con 4,45 puntos, seguido por la motilidad determinada en el semen porcino que fue sometido a período de enfriamiento de una etapa térmica con 2,82 puntos.

c. Vitalidad espermática

La vitalidad espermática determinada por la calidad de la membrana mediante tinción con Eosina-Nigrosina a las 120 horas de evaluación, presentó diferencia significativa ($P < 0,01$), de esta manera el mayor porcentaje de vitalidad registró el semen que fue sometido a un sistema de enfriamiento en dos etapas con 85,18 %, posteriormente se determinó la vitalidad del semen que fue sometido a un sistema de enfriamiento en una etapa con un promedio de 68,06 %.

4. Evaluación espermática a las 168 horas

a. Motilidad masal

La motilidad masal observada microscópicamente a las 168 horas, presentó diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), es así que los mayores porcentajes de motilidad, fueron determinados en las dosis seminales sujetas a un sistema de enfriamiento en dos etapas térmicas con un promedio de 79,55 %, seguido por la motilidad registrada en el semen porcino sometido a enfriamiento en una etapa térmica con 75,75 %.

Los resultados obtenidos en la presente investigación se hallan por encima del valor recomendado por Bernardi, M. (2008), quien manifiesta que la evaluación subjetiva de la movilidad espermática es el parámetro más usado para seleccionar los eyaculados. Para que la fertilidad se halle comprometida, la movilidad del eyaculado deberá estar por debajo de 60%, este valor normalmente

se usa como la referencia para la selección de dosis seminales a ser utilizadas en inseminación artificial. Cuando el porcentaje de espermatozoides móviles es superior al 60 % se usan dosis seminales con dos mil millones o más de espermatozoides, sin embargo hay que considerar que a partir de este valor la movilidad espermática parece no ser un buen predictor de la fertilidad. De hecho, una correlación baja se observó entre la movilidad espermática y tamaño del camada, en inseminaciones hechas con tres mil millones espermatozoides, aun cuando la movilidad ha sido diferente, sin embargo entre algunos autores consideran a la movilidad como el componente más significativo de todos, al momento de evaluar los eyaculados.

b. Motilidad individual

La motilidad individual observada microscópicamente a las 168 horas de evaluación en el semen heterospérmico, presentó diferencia significativas ($P < 0,01$), así el mayor puntaje de motilidad presentó el semen al cual se aplicó un sistema de enfriamiento de dos etapas termicas con 4,52 puntos, seguido por el semen porcino sujeto a dilución en una etapa con un promedio de 2,19 puntos.

c. Vitalidad espermática

La vitalidad espermática determinada por la calidad de la membrana mediante tinción con Eosina-Nigrosina a las 168 horas de evaluación en el semen heterospérmico, presentó diferencias significativas ($P < 0,01$), de esta manera el mayor porcentaje de vitalidad fue identificada en el semen al cual se aplicó un sistema de enfriamiento en dos etapas térmicas con 76,58 %, seguido por el semen porcino que fue sometido a sistema de enfriamiento en etapa térmica con un promedio de 53,48 %.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación el sistema ampliamente utilizado para enfriar el semen lo más rápidamente posible hasta la temperatura final de almacenamiento de $+17^{\circ}\text{C}$, es detrimento para la calidad del semen.

Respecto a estos resultados Levis, D. (2005), manifiesta que la temperatura del eyaculado debe reducirse de forma gradual una vez que el semen fue diluido. La reducción de la temperatura debe hacerse en 2 ó 3 horas hasta que el semen alcance la temperatura ideal para su conservación, la cual es de 17-20°C. Siempre utilizando material isotérmico ya que Variaciones de 1 ó 2 °C pueden afectar la calidad seminal, ya que el semen porcino es particularmente sensible a los cambios térmicos, por tal razón es vital conservarlo a 17°C, y evitar fluctuaciones en la temperatura. La disminución de la temperatura induce una disminución del metabolismo y de la motilidad espermática, también contribuye a frenar el crecimiento bacteriano. Temperaturas inferiores a los 14°C causan alteraciones en la membrana espermática disminuyendo la calidad del semen, y temperaturas por arriba de los 20 °C aumenta el metabolismo espermático, incrementa el crecimiento bacteriano, lo cual disminuye la vida útil del semen. Lo anterior se halla relacionado a los resultados determinados en la presente investigación, ya que con dos etapas térmicas durante el enfriamiento se obtuvo una mejor conservación de los espermatozoides hasta las 168 horas, en cuanto a motilidad masal, individual y vitalidad espermática.

C. EVALUACIÓN REPRODUCTIVA DE CERDAS INSEMINADAS CON EL USO DE SEMEN PORCINO HETEROSPERMICO REFRIGERADO, SOMETIDO A DOS SISTEMAS DE DILUCIÓN TÉRMICA.

1. Duración de la gestación

La duración de la gestación presentó diferencias estadísticas ($P < 0,05$), en los diferentes grupos experimentales, es así que las cerdas que fueron inseminadas con semen diluido en una etapa térmica, presentaron el mayor tiempo para esta característica registrando promedios de 115,08 días, mientras que con menores promedios se identificó a las cerdas inseminadas con semen heterospérmico sometido a un sistema de enfriamiento en dos etapas térmicas, presentando menor tiempo de gestación y 113,64 días, cuadro 12.

Cuadro 12. EVALUACIÓN REPRODUCTIVA Y PRODUCTIVA DE CERDAS YORK-LANDRACE INSEMINADAS CON SEMEN PORCINO HETEROSPÉRMICO REFRIGERADO, SOMETIDO A DOS SISTEMAS DE DILUCIÓN TÉRMICA.

CARACTERÍSTICA	SISTEMAS DE DILUCIÓN EVALUADOS		\bar{X}	Prob.	% CV
	I ETAPA TÉRMICA	II ETAPAS TÉRMICAS			
<u>Evaluación reproductiva</u>					
Duración de la preñez, (Días)	115,08 a	113,64 b	114,40	0,0043	0,89
Tasa de Concepción, (%) ¹	80,00 a	93,33 a	86,65	>0,05	-
Tasa de Fertilidad, (%) ¹	80,00 a	93,33 a	86,65	>0,05	-
Prolificidad, (No.)	11,50 b	13,50 a	12,58	0,0001**	5,36
<u>Evaluación productiva</u>					
Peso de las cerdas al servicio, (Kg)	153,25 a	153 a	153,11	0,5214 ns	0,63
Peso al final de la gestación, (Kg)	193,6 b	197,4 a	195,66	0,0001 **	0,52
Peso de las cerdas post parto, (Kg)	165,68 b	166,91 a	166,33	0,0072 **	0,57
Peso de Crías al nacimiento, (Kg)	1,33 a	1,32 a	1,30	0,4194 ns	1,60
Peso de Camada al nacimiento, (Kg)	15,34 b	17,92 a	16,73	0,0001 **	6,18
Porcentaje de Natimortos, (%)	1,45	1,06	1,26	-	-

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

¹Letras iguales no difieren estadísticamente. χ^2 ($P < 0,05$ y $P < 0,01$).

Prob: Probabilidad-

Estas diferencias podrían estar relacionadas con la cantidad de lechones que gestaban las cerdas en los diferentes tratamientos, ya que a mayor número de fetos, menor es el periodo de gestación que según Arévalo, F. (2004), normalmente oscila entre 114 ± 3 días en esta especie.

Los resultados obtenidos en la presente investigación están acorde a lo expuesto por Daza, A. (2002), quien expone que la gestación es un periodo fisiológico generalmente de una duración de 114-115 días aunque la amplitud de variación puede ser entre 108 y 122 días. Un estudio realizado con 1542 reproductoras encontró un promedio de duración de 115,3 días, el 74 % de los partos se produjeron con una diferencia de 1 día más o menos respecto a la media y el 92 % con 2 días de diferencia observándose que el tamaño de la camada tiene influencia sobre la duración de la gestación, en el sentido de alargarse en el caso de camadas pequeñas y acortarse en camadas numerosas. Otros factores como el tipo genético de los reproductores, la alimentación, el manejo, etc, parece no tener efecto significativo sobre la duración de la gestación.

2. Tasa de concepción y fertilidad

La tasa de concepción determinada mediante el no retorno del estro al día 21 post inseminación y que indica la frecuencia relativa de hembras gestantes no presentó diferencias estadísticas según X^2 ($P > 0,05$), es así que se determinó la mayor tasa de concepción con el 93,33 % en las hembras pertenecientes al grupo inseminado con el semen sometido al sistema de enfriamiento en dos etapas térmicas, mientras que en segunda instancia se ubicó la tasa de concepción determinada en las cerdas inseminadas con semen enfriado con el sistema de dilución convencional a una etapa alcanzando un promedio de 80,0 %, cuadro 12 y gráfico 4.

Por su parte la Tasa de Fertilidad determinada por el número de cerdas que llegaron a parir, fue del 93,33 % en las hembras inseminadas con semen heterospérmico sometido a dilución en dos etapas térmicas para conservación en refrigeración, finalmente en el grupo de cerdas inseminadas con semen heterospérmico enfriado en una etapa se determinó una fertilidad del 80,00 %, lo

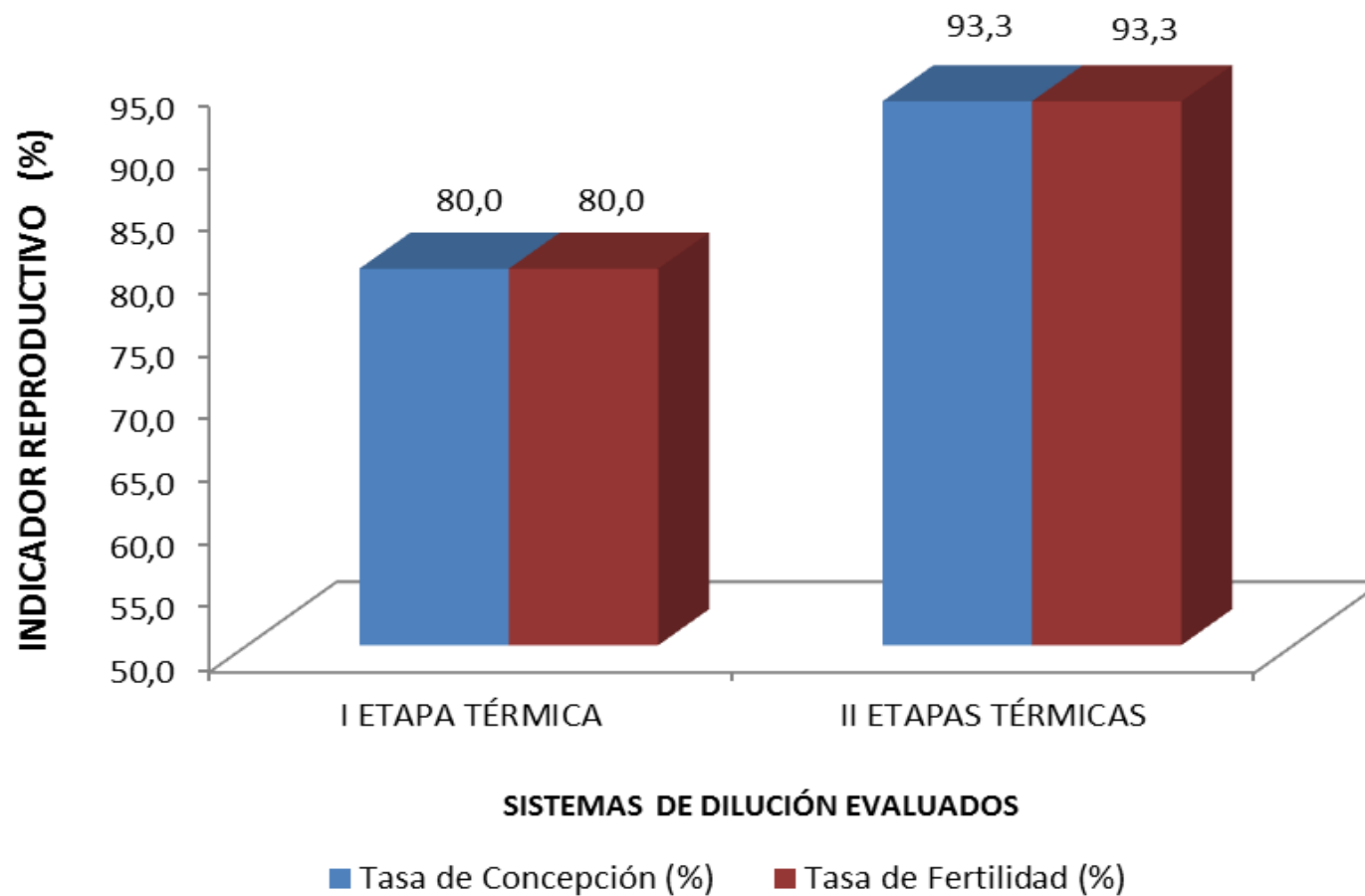


Gráfico 4. Tasa de concepción y fertilidad en cerdas multíparas inseminadas con semen porcino sometido a dos sistemas de dilución térmica.

cual puede ser atribuible al efecto del sistema de enfriamiento al cual fue sometido el semen porcino.

Al respecto Daza, A. (2002), manifiesta que a medida que pasan los días la capacidad fecundante en el semen de verraco refrigerado disminuye, registrando una tasa de fertilidad del 84,2 y 79,1 % para el 6to y 7mo día de conservación seminal, evaluando la IA en un total de 650 cerdas. Además con semen congelado se pueden obtener índices de fertilidad que oscilan entre 50-75% cuando se parte con un excelente proceso de congelación.

3. Prolificidad

La tasa de prolificidad presentó diferencias estadísticas ($P < 0,01$), de esta manera las cerdas que fueron inseminadas con semen sometido a dos etapas térmicas presentaron los mayores valores para esta característica con 13,50 crías, luego el promedio determinado en las cerdas inseminadas con semen heterospérmico sometido al sistema de enfriamiento de una etapa térmica con un prolificidad de 11,50 crías/camada. Estas diferencias pueden deberse principalmente a la viabilidad de los espermatozoides, la misma que responde al sistema y tiempo empleado en el enfriamiento del eyaculado.

Al respecto Daza, A. (2002), manifiesta que a medida que pasan los días la capacidad fecundante en el semen de verraco refrigerado disminuye, registrando una prolificidad de 9,9 y 9,5 lechones/camada, para el 6to y 7mo día de conservación seminal, evaluando los efectos de la IA en un total de 650 cerdas.

D. EVALUACIÓN PRODUCTIVA DE CERDAS INSEMINADAS CON EL USO DE SEMEN PORCINO HETEROSPERMICO REFRIGERADO, SOMETIDO A DOS SISTEMAS DE DILUCIÓN TÉRMICA.

1. Peso inicial y final

El peso inicial en las cerdas multíparas, que fueron sometidas a los diferentes tratamientos registró un promedio de 153,11 kg, por su parte el peso final luego

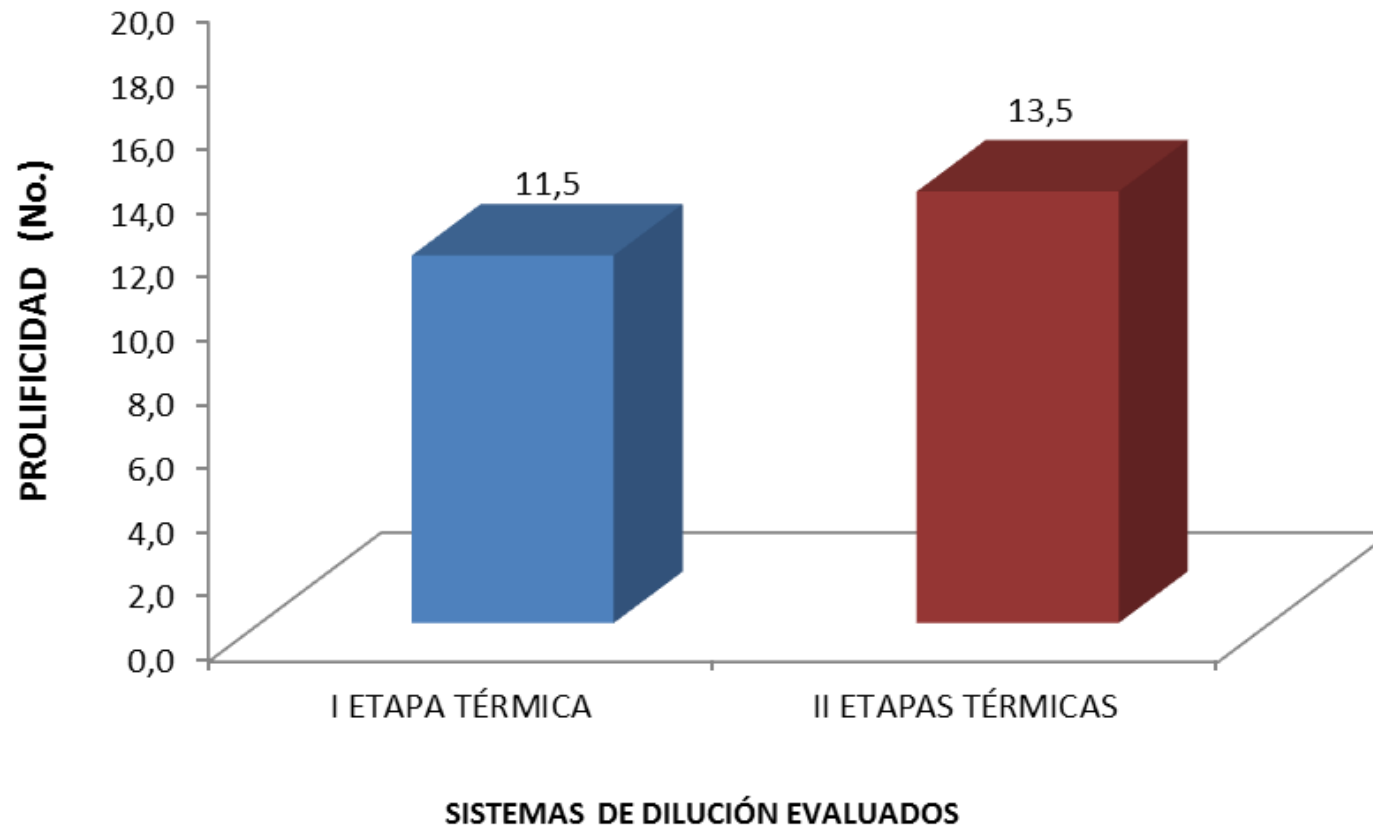


Gráfico 5. Prolificidad en cerdas multíparas inseminadas con semen porcino sometido a dos sistemas de dilución térmica.

de la etapa de gestación presentó diferencias estadísticas ($P < 0,01$), de esta manera las cerdas que fueron inseminadas con semen sometido a dos etapas térmicas, presentaron el mayor peso final con 197,4 kg seguido por el peso final de las cerdas inseminadas con semen sometido a una etapa de enfriamiento, registrándose un peso promedio de 193,6 kg de peso vivo. Estas diferencias pueden deberse a la cantidad de lechones que gestaban las cerdas en los diferentes tratamientos, cuadro 12.

2. Peso post parto

El peso post parto presentó diferencias estadísticas ($P < 0,01$), es así que las cerdas que fueron inseminadas con semen diluido en dos etapas térmicas, presentaron mayor peso con 166,91 kg, seguido por el peso determinado en las cerdas inseminadas con semen diluido en una etapa con 165,68 kg. Estas diferencias pueden deberse al mayor desarrollo de la ubre por el tamaño de camada en cada una de las unidades experimentales.

3. Peso de crías al nacimiento

El peso de las crías al nacimiento no presentó diferencias estadísticas ($P > 0,05$), de esta manera las crías nacidas presentaron promedios de 1,30 kg, en los diferentes grupos de cerdas inseminadas con semen diluido en una y dos etapas de enfriamiento respectivamente, sin embargo las ligeras diferencias numéricas que fueron determinadas en las unidades experimentales pueden estar relacionadas con el tamaño de camada al nacimiento, ya que a mayor tamaño de camada al nacimiento, el peso de las crías puede ser menor.

Los resultados obtenidos, están acordes a los expuestos por Castro, M. (2002), que manifiesta que el peso ideal de lechones al nacer deberá ser superior a 1000 gr. Los lechones muy débiles o con pesos inferiores a los 600 gr deben eliminarse, además indica que a mayor tamaño de camada al nacimiento el peso de cada lechón disminuye y viceversa.

4. Peso de camada al nacimiento

El peso de la camada al nacimiento presentó diferencias estadísticas ($P < 0,01$), es así que las camadas provenientes de las cerdas que fueron inseminadas con semen diluido en dos etapas térmicas durante su procesamiento, presentaron el mayor promedio para esta característica con 16,73 kg, mientras que con menores promedios se identificó a las camadas de cerdas inseminadas con semen heterospérmico diluido en una etapa con 15,34 kg respectivamente. Estas diferencias están en íntima relación con el tamaño de camada al nacimiento.

5. Porcentaje de natimortos

La frecuencia relativa de natimortos, en los diferentes tratamientos fue de 1,26 %, sin embargo estos resultados son afectados por factores ambientales y de manejo durante el parto en las camadas obtenidas con los diferentes tratamientos y de ninguna manera a la calidad seminal, o al efecto del tiempo de enfriamiento del semen utilizado.

E. EVALUACIÓN ECONÓMICA EN CERDAS INSEMINADAS CON EL USO DE SEMEN PORCINO HETEROSPÉRMICO SOMETIDO A DOS SISTEMAS DE DILUCIÓN TÉRMICA.

Para el análisis económico se consideraron, los egresos determinados por los costos en los diferentes grupos experimentales y los ingresos obtenidos mediante la cotización de las reproductoras y los lechones destetados, obteniéndose el mejor Beneficio - Costo en las Cerdas Inseminadas con semen sometido a enfriamiento en dos etapas térmicas con 1,84 USD, lo que quiere decir que por cada dólar invertido con la utilización de semen refrigerado con este sistema se obtiene un beneficio neto de 0,84 USD, posteriormente se ubicó el indicador de Beneficio - Costo determinado en las cerdas inseminadas con semen refrigerado expuesto a enfriamiento en una etapa térmica que alcanzó un índice de 1,60 USD durante el periodo de gestación y lactancia en cerdas, lo cual se halla directamente relacionado a la fertilidad y tamaño de camada obtenido en las cerdas en cada uno de los tratamientos. Cuadro 13.

Cuadro 13. EVALUACIÓN ECONÓMICA DE LA PRODUCCIÓN DE CERDAS YORK-LANDRACE INSEMINADAS CON SEMEN PORCINO REFRIGERADO, SOMETIDO A DOS SISTEMAS DE DILUCIÓN TÉRMICA.

CONCEPTO	SISTEMAS DE DILUCIÓN EVALUADOS	
	I ETAPA TÉRMICA	II ETAPAS TÉRMICAS
<u>EGRESOS</u>		
Cotización de Reproductoras 1	5250,0	5250,0
Alimento Gestación 2	1663,2	1940,4
Alimento Lactancia 3	1449,0	1984,5
Inseminación Artificial 4	300,0	300,0
Sanidad 5	300,0	300,0
Servicios Básicos 6	5,0	5,0
Mano de Obra 7	750,0	750,0
Depreciación de Inst. y Equipos 8	20,0	20,0
TOTAL EGRESOS	9737,20	10549,90
<u>INGRESOS</u>		
Cotización de Reproductoras 9	5250,0	5250,0
Cotización de Lechones 10	10350,0	14175,0
TOTAL INGRESOS	15600,0	19425,0
BENEFICIO/COSTO (USD)	1,60	1,84

1. Cotización por Reproductora \$ 350,0.
2. Costo del Kg Balanceado Gestación \$ 0,60.
3. Costo del Kg Balanceado Lactancia \$ 0,70.
4. Costo de Dosis Seminal, sonda y catéter \$ 10,0.
5. Costo de Desinfectantes, Vacunas \$ 20/Camada.

6. Servicios Básicos \$ 10/Total.
7. Costo de mano de obra \$ 300/Mes.
8. Costo de depreciación \$ 20,0/ Tratamiento.
9. Cotización por Reproductora \$ 350,0.
10. Cotización por Lechón Destetados \$ 90,0.

Estos resultados nos permiten determinar que la utilización de un sistema de enfriamiento adecuado para el semen de verraco cuando es procesado para ser mantenido en refrigeración y posteriormente utilizado en inseminación artificial, repercute sobre los ingresos de la explotación al incrementar los índices reproductivos de esta especie.

V. CONCLUSIONES

- Se ha determinado el mejor promedio en las características espermáticas a las 168 horas de evaluación, para el semen de verraco heterospérmico sometido a un sistema de enfriamiento en dos etapas térmicas, alcanzando promedios de 79,55 %, 4,52 puntos y 76,58 % para la motilidad masal, motilidad individual y vitalidad espermática respectivamente.
- La mayor fertilidad fue determinada en las cerdas reproductoras inseminadas con semen heterospérmico expuesto a un sistema de enfriamiento en dos etapas térmicas, alcanzando el 93,33 % de fertilidad.
- Mediante el uso del semen de verraco heterospérmico sometido a enfriamiento en dos etapas térmicas e inseminación artificial, se ha obtenido mayor tasa de prolificidad alcanzando 13,50 lechones/camada, lo que repercute sobre el peso de camada al nacimiento alcanzando un promedio de 17,92 kg.
- El mejor Beneficio - Costo fue determinado en las Cerdas Inseminadas con semen sometido al sistema de enfriamiento en dos etapas térmicas e inseminación artificial con 1,84 USD.

VI. RECOMENDACIONES

Se recomienda:

- Utilizar el sistema de enfriamiento en dos etapas térmicas para el semen porcino durante su procesamiento para la posterior conservación en refrigeración, ya que presentó resultados satisfactorios desde el punto de vista reproductivo, productivo y económico.
- Socializar la información obtenida en la presente investigación a nivel de Centros de procesamiento de semen porcino y Granjas semi-intensivas e intensivas recomendando la utilización del sistema de enfriamiento en dos etapas térmicas exponiendo al material seminal a un tiempo prudente de enfriamiento.

VII. LITERATURA CITADA

1. MEJÍA, A. M. 2010. Efecto de la concentración espermática de semen porcino sobre sus características post-descongelamiento (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia).
2. CHUQUITARCO, C., Y GISELLA, M. 2012. Evaluación de la producción y calidad seminal en sementales porcinos del Establecimiento Provincial de Inseminación Artificial, Granma.
3. LEÓN VALENCIA, C. E. 2006. Elaboración de diluyente de semén porcino.
4. MARTÍN HIDALGO, D. 2013. Fisiología celular y calidad seminal durante la conservación del semen porcino refrigerado.
5. RUEDA, M., ARIAS, T., CABALLERO, N., TOSAR, M., & ACOSTA, M. J. 2006. Análisis de la calidad espermática de sementales porcinos en dos tipos de porcicultura cubana. INDICE/TABLE OF CONTENTS, 13(1), 48.
6. VALENCIA, J. J. 2005. Factores que afectan la producción de dosis de semen en centros de inseminación artificial porcina. Avances en Investigación Agropecuaria, 9(3).
7. CAIZA MARCILLO, D. J. 2009. Manejo de verracos para la obtención y procesamiento de semen porcino e inseminación artificial.
8. BARAÑAO, L. 2007. Biotecnología en reproducción animal. Acceso en [Internet]. Disponibilidad en [[http://www. fbmc. fcen. uba. ar/materias/agbt/teoricos/Re produccion% 20animal. pd](http://www.fbmc.fcen.uba.ar/materias/agbt/teoricos/Reproduccion%20animal.pdf)][fecha de acceso 02/04/11].
9. DE ALBA ROMERO, C. 2010. Protocolo práctico para la valoración de verracos destinados a la producción de dosis seminales. Avances en tecnología porcina, 7(69), 31-40.

10. CONZA, B., CALLE, E., ECHEVARRÍA, C., FALCÓN, P., & CERÓN, C. 2004. Evaluación bacteriológica de semen de verracos usados como reproductores en granjas porcinas de la zona de Lurín, Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 15(2), 163-165.
11. PINEDA, Y., & SANTANDER, J. 2007. Evaluación de la flora bacteriana del semen de verracos en granjas porcinas de Venezuela Evaluation of bacterial flora of boar semen in pig farms in Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 25(3), 173-177.
12. RUEDA, M., & ORTEGA, R. 2008. Evaluación de semen porcino conservado en diluyentes de larga duración: pruebas in vitro. Instituto de Investigaciones Porcinas.
13. OCHOA, G., & ORTEGA, R. 2008. Evaluación in vitro e in vivo de semen porcino conservado en diluyentes de larga duración. Instituto de Investigaciones Porcinas.
14. RUGELES PINTO, C., CAICEDO TORO, R., ALMENTERO SUÁREZ, C., LINARES ARIAS, J., & VERGARA GARAY, O. 2013. Viabilidad de semen porcino refrigerado con diluyente MRA®. Nota técnica. *Revista Científica*, 23(003).
15. ERAZO FALCONI, E. 2007. Efecto de la criopreservación sobre las características microscópicas del espermatozoide porcino.
16. RUEDA, M., MENDOZA, D., & MORALES, G. 2012. Efecto de la raza, época del año y tiempo de conservación sobre las patologías espermáticas del semen porcino. *Revista Computadorizada de Producción Porcina Volumen*, 19(1).
17. RUEDA, M., PERDIGÓN, R., ARIAS, T., MENDOZA, D., BENÍTEZ, J. A., LEMUS, C., & TOSAR, M. 2009. Optimización de la conservación del

semen porcino con el diluyente cubano Dicip. Revista Computadorizada de Producción Porcina Volumen, 16(1).

18. ALEMÁN, D., ALFARO, M., & HURTADO, E. 2006. Efecto de la temperatura del semen sobre la respuesta reproductiva de cerdas. *Idesia (Arica)*, 24(3), 33-37
19. MEJÍA MEJÍA, A. M. 2010. Efecto de la concentración espermática de semen porcino sobre sus características post-descongelamiento (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia).
20. ROBERTO, J. V. 2012. Estrés Hiperosmótico Durante los Procesos de Congelación de semen Porcino.
21. GARCÍA VÁZQUEZ, F. A. 2008. Transgénesis mediada por espermatozoides en la especie porcina: factores que afectan a la eficiencia de la técnica.
22. FLORES, E., LOBO, A., CHELHOD, M., ROJAS, L., SALAZAR, L., & ALBARADO, L. 2012. Motilidad y morfología espermática, en estudiantes de la Universidad de Oriente. *Rev Obstet Ginecol Venez*, 72(1), 52-57.
23. CHALÉ, J. L., LÓPEZ, A. A., CORREA, J. S., FLEITES, M. Á., & CASTRO, G. G. 2007. Porcentaje de gestación y prolificidad de cerdas en el trópico utilizando las técnicas de inseminación artificial convencional e intrauterina.
24. ACOSTA, M. J. 2010. Una resena corta sobre la contaminación microbiológica del semen porcino y sus consecuencias. *Revista Computadorizada de Producción Porcina Volumen*, 17(4).
25. GARCÍA-CASADO, P., SALA-ECHAVE, R., REGUERA, B., & PÉREZ-LLANO, B. 2007. Nuevas tecnologías en inseminación artificial porcina. *Avances en tecnología porcina*, 4(3), 118-126.

26. BARLOCCO, N., GÓMEZ, A., VADELL, A., & FRANCO, J. (2008). Crecimiento de lechones en sistemas de producción a campo. *Revista Unellez de Ciencia y Tecnología*, 23.
27. AISEN, D. & VENTURINO, M. (2004). Reproducción y Fertilidad. *Revista Argentina de Producción Animal*, 31(Supl 1), 403-437.

ANEXOS

Anexo 1. Análisis de Varianza de las características microscópicas de semen porcino sometido a dos sistemas de dilución térmica.

a. MOTILIDAD MASAL A LAS 24 HORAS (%)

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	19	83.63750000			
Tratamiento	1	82.01250000	82.01250000	908.45	<.0001
Error	18	1.62500000	0.09027778		
	%CV	DS	MM		
	0.314374	0.300463	95.57500		
Tukey	Media	N	Tratamiento		
A	97.6000	10	IIETAPAS		
B	93.5500	10	IETAPA		

b. MOTILIDAD MASAL A LAS 72 HORAS (%)

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	19	76.73750000			
Tratamiento	1	74.11250000	74.11250000	508.20	<.0001
Error	18	2.62500000	0.14583333		
	%CV	DS	MM		
	0.407449	0.381881	93.72500		
Tukey	Media	N	Tratamiento		
A	95.6500	10	IIETAPAS		
B	91.8000	10	IETAPA		

c. MOTILIDAD MASAL A LAS 120 HORAS (%)

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	19	76.80000000			
Tratamiento	1	72.20000000	72.20000000	282.52	<.0001
Error	18	4.60000000	0.25555556		
	%CV	DS	MM		
	0.606145	0.505525	83.40000		
Tukey	Media	N	Tratamiento		
A	85.3000	10	IIETAPAS		
B	81.5000	10	IETAPA		

d. MOTILIDAD MASAL A LAS 168 HORAS (%)

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	19	78.55000000			
Tratamiento	1	72.20000000	72.20000000	204.66	<.0001
Error	18	6.35000000	0.35277778		
	%CV	DS	MM		
	0.764908	0.593951	77.65000		
	Tukey	Media	N	Tratamiento	
	A	79.5500	10	IIETAPAS	
	B	75.7500	10	IETAPA	

e. MOTILIDAD INDIVIDUAL A LAS 24 HORAS (Ptos.)

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	19	8.13750000			
Tratamiento	1	7.32050000	7.32050000	161.28	<.0001
Error	18	0.81700000	0.04538889		
	%CV	DS	MM		
	4.983548	0.213047	4.275000		
	Tukey	Media	N	Tratamiento	
	A	4.88000	10	IIETAPAS	
	B	3.67000	10	IETAPA	

f. MOTILIDAD INDIVIDUAL A LAS 72 HORAS (Ptos.)

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	19	8.90000000			
Tratamiento	1	8.19200000	8.19200000	208.27	<.0001
Error	18	0.70800000	0.03933333		
	%CV	DS	MM		
	5.085291	0.198326	3.900000		
	Tukey	Media	N	Tratamiento	
	A	4.54000	10	IIETAPAS	
	B	3.26000	10	IETAPA	

g. MOTILIDAD INDIVIDUAL A LAS 120 HORAS (Ptos.)

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	19	13.84550000			
Tratamiento	1	13.28450000	13.28450000	426.24	<.0001
Error	18	0.56100000	0.03116667		
	%CV	DS	MM		
	4.856694	0.176541	3.635000		
	Tukey	Media	N	Tratamiento	
	A	4.45000	10	IIETAPAS	
	B	2.82000	10	IETAPA	

h. MOTILIDAD INDIVIDUAL A LAS 168 HORAS (Ptos.)

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	19	27.80950000			
Tratamiento	1	27.14450000	27.14450000	734.74	<.0001
Error	18	0.66500000	0.03694444		
	%CV	DS	MM		
	5.729043	0.192209	3.355000		
	Tukey	Media	N	Tratamiento	
	A	4.52000	10	IIETAPAS	
	B	2.19000	10	IETAPA	

i. VITALIDAD ESPERMÁTICA A LAS 24 HORAS (%)

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	19	63.52000000			
Tratamiento	1	59.85800000	59.85800000	294.22	<.0001
Error	18	3.66200000	0.20344444		
	%CV	DS	MM		
	0.499500	0.451048	90.30000		
	Tukey	Media	N	Tratamiento	
	A	92.0300	10	IIETAPAS	
	B	88.5700	10	IETAPA	

j. VITALIDAD ESPERMÁTICA A LAS 72 HORAS (%)

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	19	72.09200000			
Tratamiento	1	69.19200000	69.19200000	429.47	<.0001
Error	18	2.90000000	0.16111111		
	%CV	DS	MM		
	0.476028	0.401386	84.32000		
	Tukey	Media	N	Tratamiento	
	A	86.1800	10	IIETAPAS	
	B	82.4600	10	IETAPA	

k. VITALIDAD ESPERMÁTICA A LAS 120 HORAS (%)

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	19	1472.792000			
Tratamiento	1	1465.472000	1465.472000	3603.62	<.0001
Error	18	7.320000	0.406667		
	%CV	DS	MM		
	0.832295	0.637704	76.62000		
	Tukey	Media	N	Tratamiento	
	A	85.1800	10	IIETAPAS	
	B	68.0600	10	IETAPA	

1. VITALIDAD ESPERMÁTICA A LAS 168 HORAS (%)

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	19	2679.122000			
Tratamiento	1	2668.050000	2668.050000	4337.51	<.0001
Error	18	11.072000	0.615111		
	%CV	DS	MM		
	1.206044	0.784290	65.03000		
Tukey	Media	N	Tratamiento		
A	76.5800	10	IIETAPAS		
B	53.4800	10	IETAPA		

Anexo 2. Análisis de Varianza de las características productivas y reproductivas de cerdas Landrace x York Shire multíparas, inseminadas con semen porcino sometido a dos sistemas de dilución térmica.

a. PESO INICIAL

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	25	18.65384615			
Tratamiento	1	0.40384615	0.40384615	0.44	0.5214
Repetición	13	8.12500000	0.62500000	0.68	0.7493
Error	11	10.12500000	0.92045455		
	%CV	DS	MM		
	0.626588	0.959403	153.1154		
	Tukey	Media	N	Tratamiento	
	A	153.2500	12	UNAETAPA	
	A	153.0000	14	DOSETAPA	

b. PESO FINAL

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	25	112.8788462			
Tratamiento	1	94.30110806	94.30110806	90.04	<.0001
Repetición	13	7.05773810	0.54290293	0.52	0.8702
Error	11	11.52000000	1.0472727		
	%CV	DS	MM		
	0.523017	1.023363	195.6654		
	Tukey	Media	N	Tratamiento	
	A	197.4286	14	DOSETAPA	
	B	193.6083	12	UNAETAPA	

c. PESO POST PARTO

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	25	30.16153846			
Tratamiento	1	9.80975275	9.80975275	10.83	0.0072
Repetición	13	10.38345238	0.79872711	0.88	0.5910
Error	11	9.96833333	0.90621212		
	%CV	DS	MM		
	0.572298	0.951952	166.3385		
	Tukey	Media	N	Tratamiento	
	A	166.9071	14	DOSETAPA	
	B	165.6750	12	UNAETAPA	

d. TAMAÑO DE CAMADA

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	25	32.34615385			
Tratamiento	1	25.84615385	25.84615385	56.86	<.0001
Repetición	13	1.50000000	0.11538462	0.25	0.9891
Error	11	5.00000000	0.45454545		
	%CV	DS	MM		
	5.360611	0.674200	12.57692		
	Tukey	Media	N	Tratamiento	
	A	13.5000	14	DOSETAPA	
	B	11.5000	12	UNAETAPA	

e. PESO DE LECHONES AL NACIMIENTO

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	25	0.01209615			
Tratamiento	1	0.00031877	0.00031877	0.70	0.4194
Repetición	13	0.00679405	0.00052262	1.15	0.4111
Error	11	0.00498333	0.00045303		
	%CV	DS	MM		
	1.599876	0.021285	1.330385		
	Tukey	Media	N	Tratamiento	
	A	1.334167	12	UNAETAPA	
	A	1.327143	14	DOSETAPA	

f. PESO DE CAMADA AL NACIMIENTO

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	25	57.35929615			
Tratamiento	1	42.98280449	42.98280449	40.23	<.0001
Repetición	13	2.62390833	0.20183910	0.19	0.9970
Error	11	11.75258333	1.06841667		
	%CV	DS	MM		
	6.178519	1.033642	16.72962		
	Tukey	Media	N	Tratamiento	
	A	17.9200	14	DOSETAPA	
	B	15.3408	12	UNAETAPA	

g. DURACIÓN DE LA GESTACIÓN

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F Cal	Pr > F
Total	25	33.53846154			
Tratamiento	1	13.40750916	13.40750916	12.87	0.0043
Repetición	13	8.67261905	0.66712454	0.64	0.7797
Error	11	11.45833333	1.04166667		
	%CV	DS	MM		
	0.892871	1.020621	114.3077		
	Tukey	Media	N	Tratamiento	
	A	115.0833	12	UNAETAPA	
	B	113.6429	14	DOSETAPA	

Anexo 3. Prueba X^2 para características reproductivas determinadas en cerdas Landrace x York Shire multíparas, inseminadas con semen porcino sometido a dos sistemas de dilución térmica.

a. TASA DE CONCEPCIÓN

SISTEMA DE DILUCIÓN	GESTANTE		NO GESTANTE		X^2 Calc	GL	X^2 Tab	X^2 Tab
	VO	VE	VO	VE				
<i>UNA ETAPA</i>	80,00	86,67	20,00	13,34			0,05	0,01
<i>DOS ETAPAS</i>	93,33	86,67	6,67	13,34	7,69	3	7,81 ns	11,34 ns
CONCLUSION:	Ho: Aceptada							

b. TASA DE FERTILIDAD

SISTEMA DE DILUCIÓN	GESTANTE		NO GESTANTE		X^2 Calc	GL	X^2 Tab	X^2 Tab
	VO	VE	VO	VE				
<i>UNA ETAPA</i>	80,00	86,67	20,00	13,34			0,05	0,01
<i>DOS ETAPAS</i>	93,33	86,67	6,67	13,34	7,69	3	7,81 ns	11,34 ns
CONCLUSION:	Ho: Aceptada							

