

E. R. Arisnabarreta
R. A. Allende

Manual de
INSEMINACIÓN
ARTIFICIAL en
PORCINOS


50 años
1967 - 2017

AUTORES



Enrique R. Arisnabarreta

Médico Veterinario, egresado de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires en 1974. Durante 17 años, desde el 1 de julio de 1974 al 31 de agosto de 1991, trabajó en CIAVT desempeñándose sucesivamente en los cargos de: Supervisor Técnico, Jefe del Dpto de Zootecnia y Estadística, finalizando como Gerente del Dpto de Servicios Técnicos. A partir del 1 de setiembre de 1991 es, asesor en manejo reproductivo de rodeos de cría y lecheros, en establecimientos ubicados en las provincias de Buenos Aires, Córdoba y Santa Fe. Ha publicado trabajos de su especialidad en revistas científicas y de extensión. Participó en carácter de asistente, coordinador y disertante en eventos científicos de Argentina, países limítrofes, Europa y Estados Unidos. Desempeñó la actividad docente en carácter de Ayudante de Trabajos Prácticos, rentado por concurso, desde el 1 de julio de 1971 al 30 de junio de 1974, en la cátedra de Anatomía, de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires. Fue profesor en el CAR, de Anatomía Comparada a partir de 1975 a 1978 y desde 1979 hasta terminar el ciclo lectivo de 1983 en Producción de Bovinos Lecheros y Cerdos.



Roberto A. Allende

Médico Veterinario, egresado de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U.N. de La Plata en 1971
Gerente Dpto. Producción de Semen y Sanidad de CIAVT, desde año 1973 al año 2006.
Actualmente se desempeña como Asesor Honorífico de CIAVT.
Jefe de Laboratorio del Centro de I.A. en la especie Porcina. CAR / CIAVT. 1981/1985
Realizó cursos de posgrado y pasantías en Procesado, Criopreservación y Evaluación de Semen Bovino y Criopreservación de Embriones en nuestro país, Brasil, Chile, Francia, Inglaterra, Alemania y EE.UU.

Disertante en Cursos, Simposios y Jornadas sobre el tema Procesado, Valoración y Criopreservación del Semen Bovino, en Argentina y Uruguay..

Desarrolló la actividad docente como Profesor Titular de Anatomía Comparada. CAR (1980/84)

Profesor Invitado en Curso de Producción Lechera. Capítulo I.A.: Evaluación de semen bovino. Facultad de Ciencias Veterinarias. U.N.C.P.B.A. (Tandil / 1993)

Profesor Invitado en la Carrera de Maestría en Reproducción Animal. Capítulo I.A.: Valoración del semen Bovino. Facultad de Agronomía y Veterinaria. U.N. de Río Cuarto. 1996.

Autor de numerosas publicaciones sobre el tema: Procesado, criopreservación y evaluación del semen bovino.

Distinciones

Premio “REVISTA TAURUS”, edición año 2012 : En reconocimiento a su trayectoria profesional, calidad humana y generosidad intelectual. Bs. As. 13/Set./2012

El Dpto. Ejecutivo de la Municipalidad de Venado Tuerto reconoció su trayectoria al declararlo “VECINO NOTABLE” de la Ciudad. Venado Tuerto, 6/Agosto/2014.

Distinguido por la Facultad de Cs. Veterinarias de la U.N. de Rosario y por el Colegio de Médicos Veterinarios de la Provincia de Santa Fe – Segunda Circunscripción: En reconocimiento a su trayectoria profesional y gremial en las Ciencias Veterinarias y a su lucha permanente por la jerarquización de la profesión Veterinaria. Casilda, 28/Agosto/2015.

Otros

Presidente del Círculo de Médicos Veterinarios del Sur de Santa Fe. Períodos: 1989/1990 y 1991/1992

Vicepresidente de CABIA (Cámara Argentina de Biotecnología e I. A.). Período: 2001/2004.

Vicepresidente del Colegio de Médicos Veterinarios de Santa Fe – Segunda Circunscripción. Período: 2002/2005 y período: 2005/2008

AGRADECIMIENTOS

-A nuestras familias por el tiempo que no les dimos y el apoyo que nos dieron en los años de elaboración de este libro.

-A los referentes con reconocida trayectoria internacional que nos brindaron una enorme cantidad de información: Dra Carmen De Alba Romero, Minitüb Ibérica Tarragona-España; Dr Gustavo Decuadro-Hansen, IMV Technologies, L'Aigle-Francia; Dr Horacio Gabosi, Netpork S.A., Rosario-Argentina; Dra Christa Simmet y Dr Christian Simmet, Minitüb, Tiefenbach-Alemania; Dra Sara Williams, Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional de La Plata-Argentina.

-Al Dr José Cibelli por la elaboración del prólogo y sus cálidos e inmerecidos elogios hacia nuestras personas.

-A la Mgs Lucía Andreozzi por el análisis estadístico de la información.

-A los colegas y amigos, desde la época de la Facultad, que nos estimularon a escribir: Dr Ricardo Alberio, Dra María Angelina Chiappe Barbará, Dr Carlos Corbellini.

-A quienes colaboraron en la elaboración de textos, diagramación, diseño gráfico, aporte y digitalización de imágenes: Lic. María De La Paz Arisnabarreta Dupuy, Ing. Agr. Sebastián Arisnabarreta Dupuy, Lic. Marisa Barrios, Sr Luis Cañete, Ing. Agr. Alberto Chessa, Srta Natalia Díaz, Srta Paula Fontana, Dr Angel Garay, Ing. Agr. Gabriel Giusti, Sr Jorge Golán, Bioq. Silvia Gonzalez Dupuy, Ing.Agr. Enrique C. Klein, Agr. Omar Lombardi, Sra Erica Roca, Sr Edgardo Velez, Sr Emiliano Vendrell.

-Al Dr Lorenzo Amelotti y al Ing. Agr. Alejandro Pini por haber confiado, desde el inicio del proyecto, poniendo a nuestra disposición hembras y verracos.

-A los colegas de profesión libre y a los técnicos de las EEA Marcos Juárez y EEA Pergamino del INTA que colaboraron en los primeros ensayos de campo: M.V. Vicente Albera, Agr. Santiago Caminotti, M.V. Guillermo Colautti, M.V. Luis Giovannoni, M.V. Rodolfo Molinari, M.V. Hugo Pinotti, Agr. Nicolás Spinner.,

-Al Prof. Eduardo Simeoni y a nuestros alumnos del CAR por haber tomado el proyecto de desarrollo e implementación de la inseminación artificial en cerdos como propio.

-A la Sra Marisa Castiglioni por su eficiente colaboración en el funcionamiento del laboratorio del Centro de I.A.P. CAR-CIAVT

-A la memoria de los que ya no están y soñaron con nosotros en el desarrollo y funcionamiento del primer Centro de I.A.P. de Argentina: Sr Claude Brunel, Sr Juan Casadei, Sr Juan Dalzotto, Ing. Roberto Giuliano, Sr Rubén Jaureguizar, Sr Pedro Miles, Prof. Federico Riancho, Sr Vicente Studer.

PROLOGO

Se dice que el prólogo es la parte de un libro que la mayoría de los lectores pasan por alto.

Si hace esto habitualmente, lea éste libro sin dudarlo.

Pero si todavía está conmigo, permítame decirle, comenzando por una breve descripción de los autores, que es un libro indispensable en el manejo reproductivo de los porcinos.

En primer lugar, una revelación, Enrique Arisnabarreta y Roberto Allende, además de estar entre los veterinarios más reconocidos en el manejo reproductivo de la hembra bovina y en la criopreservación del semen, fueron y siguen siendo mis maestros.

Dos anécdotas vienen a mi mente, que muestran un compromiso inquebrantable con sus trabajos.

A principios de la década del 80, Enrique Arisnabarreta fue pionero de la inseminación artificial porcina (I.A.P) en Argentina.

Comenzó sus ensayos de campo en el Colegio Agrotécnico Regional, una escuela de nivel secundario, en la que desarrolló la actividad docente, a la cuál yo asistía como un joven estudiante.

El tenía un intenso plan de trabajo, disponía de simples instalaciones, cachorras y los mejores verracos que pudo conseguir; la capacitación de los recursos humanos fue otra cuestión.

En mi quinto año del colegio, fui seleccionado por Enrique para realizar la detección de celo; al parecer yo tenía un don para individualizar las cachorras en el momento adecuado para ser inseminadas.

Después de leer este libro, tres décadas más tarde, comprendí que para realizar con eficiencia la detección de celo, hay que ser ágil, moverse alrededor de la cerda sigilosamente y ejercer sobre su dorso una suave presión. Ahora puedo comprender que fui seleccionado para hacer esa tarea tan importante por ser el más pequeño y de menor peso de la clase.

Sin embargo, valió la pena dado que en mi camino, desempeñé un pequeño papel en el nacimiento de la I.A.P. bajo la dirección de un pionero.

La segunda historia está relacionada con Roberto Allende.

Es totalmente justo afirmar, que hay menos de un puñado de personas vivas con el conocimiento teórico-práctico sobre fisiología espermática que posee Roberto.

Tuve el privilegio de trabajar con él, bajo su directa supervisión, tratando de capturar al menos una parte de su experiencia, en mi condición de recién egresado de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata.

Mi trabajo inicial consistía en asistirlo, durante jornadas agotadoras, en el control de calidad de todo el semen, procesado en CIAVT, fresco y congelado.

Trabajé intensamente para capacitarme en el manejo, procesamiento y evaluación del material seminal, con la paciencia que sólo tienen los grandes.

A un año de haber ingresado a CIAVT, lo recuerdo evaluando una pajuela del toro más importante de la empresa, por consiguiente el de mayor valor de venta por dosis.

Lo esperaba sosteniendo un pequeño contenedor de nitrógeno líquido con más de 200 pajuelas, para incorporar al banco de semen o si la criopreservación no era buena tirarlas a la basura.

Roberto dijo “*son buenas*”, yo registré lo contrario y tiré a la basura, 200 pajuelas de las más caras, sin ninguna posibilidad de recuperarlas.

Ahí estaba, trabajando con la leyenda de la criopreservación de semen bovino, cometiendo el error más tonto que seguramente me enviaría de vuelta a las calles a buscar trabajo.

No podía moverme, me miró, pensó un rato y dijo “*no lo hagas de nuevo, vamos a seguir adelante*”.

Terminamos el trabajo unas horas más tarde, yo sin parpadear.

¿Por qué estas historias?

Debido a que ambas hablan de la pasión y el compromiso de toda la vida que los autores tienen en este campo.

Roberto Allende y Enrique Arisnabarreta trabajaron incansablemente durante más de una década y superan los cuarenta años, en el manejo reproductivo avanzado de porcinos y bovinos, respectivamente. Ahora, comparten sus conocimientos y experiencias con nosotros. No importa que nivel de información maneje en este tema, encontrará mucha información útil.

Mirando los datos crudos de los años ochenta, que muestran el mejor método para recolectar semen en cerdos, sentirá un trabajo pionero de la I.A.P. en Argentina. Al ver los últimos avances en criopreservación de

espermatozoides, sincronización de celos y manejo reproductivo tendrá ante usted información que está a la vanguardia en este campo.

Comprenderá los pros y los contras de fertilizar profundamente en uno de los cuernos uterinos. Se sorprenderá de encontrar cuál es el mejor, el método más práctico y accesible para sincronizar celos en cerdas jóvenes.

Sugerencia: mostrarles un macho y llevarlas por un viaje alrededor de la granja en un camión, funciona!

Me alegro que haya elegido este libro y espero que lo disfrute tanto como yo.

Sinceramente

José B. Cibelli, DVM-PhD
Professor – Michigan State University

CONTENIDO

CAPITULO 1	BREVES NOCIONES DE SU HISTORIA Y OBJETIVOS	8
CAPITULO 2	TECNICAS DE EXTRACCION DE SEMEN	13
CAPITULO 3	VALORACION Y CARACTERISTICAS DEL EYACULADO	27
CAPITULO 4	PROCESAMIENTO DEL SEMEN	36
CAPITULO 5	ANATOMIA Y FISIOLOGIA REPRODUCTIVA DE LA CERDA	59
CAPITULO 6	DETECCION DE CELO Y MOMENTO OPORTUNO PARA LA I.A.	69
CAPITULO 7	OBTENCION DE UN RETAJO POR METODO QUIRURGICO	76
CAPITULO 8	TECNICAS DE SIEMBRA	80
CAPITULO 9	RECOMENDACIONES PARA AUMENTAR LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA	105
CAPITULO 10	INFERTILIDAD ESTACIONAL	116
	BIBLIOGRAFIA	122
	EPILOGO	130

CAPITULO 1: BREVES NOCIONES DE SU HISTORIA Y OBJETIVOS

Dado la diversidad de tamaño y tecnificación de las explotaciones de cerdos, el objetivo de esta publicación es poder brindar distintas alternativas de manejo e implementación de la técnica de Inseminación Artificial Porcina (I.A.P), desde las más simples, sencillas y artesanales, a las más costosas e industrializadas.

Podemos definir a la I.A.P como la técnica mediante la cual es posible extraer semen a un reproductor, diluirlo y conservarlo, con el propósito de llevarlo al lugar ideal del aparato genital de la hembra, a fin de fecundarla, realizando ésto en el momento oportuno y con el instrumental adecuado. La mejor forma de aprovechar el potencial genético de un verraco es la I.A., por el efecto multiplicador que esta técnica ejerce sobre el semen.

Además, facilita la implementación de programas de cruzamiento, logrando un mayor rendimiento de las camadas de las cerdas cruza sobre las de raza pura, más el agregando de razones sanitarias, de manejo, de seguridad y económicas.

BREVES NOCIONES DE SU HISTORIA

-En el mundo:

Polge, C., 1956, informa que en principio, la inseminación artificial en cerdos, fue practicada, en Rusia por Ivanow, al inicio del siglo XX, a partir de 1907. Posteriormente, esta técnica fue desarrollada en granjas estatales rusas, donde los investigadores Milovanow, 1932; Rodolfo, 1934; Rodin y Lipatov, 1935 demostraron que era posible extraerle semen al verraco mediante el uso de un maniquí y vagina artificial. Obtuvieron resultados satisfactorios inseminando las cerdas el segundo día del celo, con 150 ml de semen diluido en una proporción de 1:3. Posteriormente se desarrollaron investigaciones en Inglaterra, Francia, Alemania, España, EEUU. y Japón. Precisamente, es en este último país donde se realiza la contribución más importante en 1948, por los trabajos efectuados por Ito, Niwa, Kudo y Mizuho, los cuales confirman los resultados obtenidos por los investigadores rusos.

En los primeros años de aplicación de la I.A.P, la tasa de concepción y el tamaño de la camada obtenida eran muy pobres, por debajo del servicio natural, situación que se revirtió gradualmente con los avances tecnológicos logrados, de acuerdo a lo informado por Pratt, J., 1973, citado por Wrathall, A., 1975.

En la Reunión Internacional de París, en 1959, sobre “Reproducción e Inseminación Artificial Porcina”, se detallan los trabajos efectuados hasta ese momento y comienza la utilización sistemática de semen refrigerado en Europa, Japón y América del Norte, Pérez García, T., y col., 1978. Sin embargo, el verdadero desarrollo y amplia aplicación, a nivel comercial, de la I.A.P, tuvo lugar a partir de 1980, cuando los protocolos de inseminación fueron estandarizados, Decuadro-Hansen, G., 1999.

Actualmente, la I.A.P es utilizada a gran escala en todo el mundo desarrollado, aunque su aplicación, en los diferentes países, es altamente variable:

-en Europa, esta técnica reproductiva se utiliza en más del 90% de los establecimientos de muchos países, Rusia, Holanda, Francia, Alemania, España, Noruega, Finlandia, Reino Unido, Polonia, etc.

-su uso en América del Norte, ha alcanzado niveles muy altos, EEUU, al igual que México, con una producción anual de 34 y 5,5 millones de dosis, respectivamente, están alrededor del 90%, Canadá 80%

-en Sudamérica, a excepción de Chile, es más bajo el porcentaje de granjas que lo utilizan; se inseminan en Brasil el 66% de las hembras, con 12 millones de dosis de semen refrigerado, producidas anualmente

-China, el mayor productor mundial de carne porcina, produce 24 millones de dosis e insemina sólo el 10% de las cerdas; Riesenbeck, A., 2011.

-En Argentina:

Cano, A. y García Mata, E., 1953, publicaron en Cría de Cerdos de la Enciclopedia Agropecuaria Argentina, que la I.A.P., sólo tiene un interés científico, pero no gran aplicación práctica. Posteriormente, se hicieron, fundamentalmente hasta fines de la década del 70, esfuerzos aislados en establecimientos privados por parte de profesionales dedicados a la producción porcina. La primera publicación sobre la técnica de la I.A.P. en nuestro país fue realizada por Keller, M., en 1975, detallando, con la colaboración del Dr Simmet, de Alemania, un pormenorizado informe de los pasos a seguir para implementar con éxito ésta metodología de manejo reproductivo. Además, invoca que si bien en la década del 70 la I.A. en bovinos era ampliamente conocida y su empleo tenía un crecimiento constante, no ocurría lo mismo con la I.A.P. dado que no se implementaba por las siguientes razones:

- falta de estímulo de los productores en procurar el mejoramiento genético
- la imposibilidad de conservar el material seminal por tiempos prolongados
- la dificultad de detectar el momento más oportuno para inseminar dada la relativamente larga duración del celo.

Marotta, E., 1973; 1978, difusor de la técnica de I.A.P desde el ámbito académico, publicó, en la Revista de la Sociedad de Medicina Veterinaria, dos artículos detallando los siguientes aspectos sobre:

- características del semen y de la eyaculación
- extracción, conservación y dilución del material seminal; tiempo de conservación
- técnica de inseminación y conservación del semen.

Sin embargo, en lo que respecta a su aplicación, sólo menciona que la I.A.P es utilizada en Japón, Europa y Estados Unidos.

Los primeros dos antecedentes, en Argentina, en la organización de centros de I.A.P., para recolectar el eyaculado, procesarlo, acondicionarlo y enviarlo a distancia por diferentes medios de transporte fueron:

1. Centro de I.A.P. de Inrville, Córdoba: se construyó en un predio de la Cooperativa Agrícola Ganadera de Inrville, gracias a un aporte del gobierno de Francia. Sus instalaciones modelo, se diseñaron bajo la supervisión técnica del INRA. Por diferentes razones, lamentablemente, nunca funcionó como tal.
2. Centro de I.A.P. CAR-CIAVT: funcionó en las instalaciones del Centro Agrotécnico Regional de Venado Tuerto, desde Abril de 1981 hasta Mayo de 1986, bajo la dirección técnica de CIAVT. Se realizaron en su inicio ensayos, en las EEA Marcos Juárez y Pergamino, del INTA, y en diferentes establecimientos ubicados en un radio de 200km de Venado Tuerto, con el objetivo de monitorear la fertilidad del material seminal envasado en recipientes de 100cc, conservado a una temperatura de 15°C en cajas de poliestireno expandido. Los resultados logrados, en estos ensayos, mediante la I.A con detección de celo convencional, o celos inducidos por tratamientos hormonales e I.A sistemática a tiempo fijo (IATF) presentados por Arisnabarreta, E., 1984, en las VIII Jornadas de Reproducción Animal, se detallan en el cuadro 1

Cuadro1: Parámetros de eficiencia reproductiva, en cerdas y cachorras, con detección de celo convencional o IATF, logradas con semen procesado en el Centro de I.A.P. CAR-CIAVT, en los ensayos realizados en las E.E.A Marcos Juárez- Pergamino de INTA y en otros establecimientos ubicados en un radio de 200km de Venado Tuerto. (Arisnabarreta, E., 1984)

Ubicación Establecimiento	Responsables	Tipo de hembra	Tipo de I.A.	Insem.	Porc.paridas en 1er. Serv.	Tamaño de la Camada
INTA Marcos Juárez	Caminotti, S.	Múltiparas	Conv.	23	78,3	9,2
	Pinotti, H.	“	IATF	17	64,7	12,6
	Spiner, N.					
INTA Pergamino Est. San Alfredo,	Colautti, G.	Múltiparas	IATF	28	60,7	10,4
	Dalzotto, J.	Cachorras	Conv.	301	70,1	9,1
Santa Emilia, Sta.Fé Murphy, Sta.Fé J. Posse, Cba.	Molinari, R.	Múltiparas	“	267	72,6	9,9
	Giovannoni,L.	“	“	59	90,0	9,3
	Albera, V.	“	“	79	73,1	10,5

Uno de los objetivos del Centro de I.A.P. CAR-CIAVT fue el de capacitar a los potenciales usuarios, productores y profesionales, en el manejo de la técnica de la I.A.P. Se destacan, dentro de las múltiples acciones de capacitación desarrolladas, el Primer Curso de I.A.P., para productores, realizado en la Cooperativa Agropecuaria de Carmen, por iniciativa de su presidente el Sr Claude Brunel y la “Primera Reunión Informativa sobre I.A.P. para Médicos Veterinarios”, llevada a cabo en el CAR, el 2 de noviembre de 1981, a la que asistieron 80 profesionales, fundamentalmente de las cuencas porcinas del sur de Santa Fé, sureste de Córdoba y noroeste de Buenos Aires. Fue de características teórico-prácticas, poniendo énfasis en genética porcina, la operatoria de un Centro de I.A.P. y siembra de la cerda en celo. Además, se realizó una operación quirúrgica, de desviación de pene en un verraco, para utilizarlo como marcador de cerdas en celo e inducir la actividad sexual cíclica de la hembra.

El Centro de I.A.P. CAR-CIAVT, trabajó, durante cinco años, con diez verracos de las razas Duroc Jersey, Yorkshire y Hampshire, la mitad de los cuales se importaron de Canadá y EEUU. Desde el punto de vista técnico fue un éxito, no así del comercial, pues sólo se comercializaban 2400 dosis/año. En consecuencia, dado las escasas ventas y la gran fluctuación del mercado porcino, en ese momento, se decidió devolver los verracos a sus propietarios y capacitar al personal para que realizaran la obtención y dilución del semen en el mismo establecimiento, tarea que continuaron desarrollando con muy buenos resultados.

La utilización de la I.A.P en la Argentina se ha difundido, en gran medida a partir de los últimos años de la década del 90, junto con el desarrollo de programas de mejoramiento genético de acuerdo a lo informado por Llóveras, M, 2013, de la EEA Pergamino del INTA. Coincidentemente, Riesenbeck, A., 2011, menciona que por información publicada de la FAO en el Production Yearbook del 2010, en Argentina hubo un significativo crecimiento de la producción porcina, de alrededor del 112%, en la última década, junto con un mayor nivel tecnológico de las explotaciones que implementaron la I.A.P. en el 85% de las cerdas, con un consumo anual de 1,332 millones de unidades de semen.

En las Jornadas Todo Cerdos, desarrolladas en Villa María, Córdoba, Williams, S., 2015, informó que las estimaciones realizadas por el investigador alemán A. Riesenbeck, presentadas en el Congreso Mundial de Conservación de Semen en 2011, indicaban que en Argentina, la aplicación de la I.A.P se refería al 85% de las hembras en sistemas confinados; no estaban incluidas las cerdas en explotaciones semi intensivas y extensivas.

La obtención de los eyaculados y el procesamiento del material seminal se realizan en los mismos establecimientos en que se encuentran las hembras o en lugares muy próximos a estos, e incluso en Centros de I.A.P con un radio de acción regional, de acuerdo a lo permitido por el período de conservación de la viabilidad y fertilidad del material seminal procesado. Al respecto, Gabosi, H., 2015, informa que desde su expansión a partir de la década del 90 y durante veinte años, las granjas tenían sus propias instalaciones para alojar los reproductores y procesar el semen, desarrollándose con posterioridad los Centros de I.A.P según se indica en el Cuadro 2. Estima que hay un mercado anual de 1.500.000 dosis, con un crecimiento de 100.000 unidades por año, y que los Centros de I.A.P producen para vender 15.000 dosis mensuales.

Cuadro 2: Capacidad de alojamiento de verracos de los Centros de I.A.P, ubicación y fecha de inicio de actividades.(Gabosi, H., 2015)

Empresa	Cantidad de Verracos	Ubicación	Inicio de Actividades
Netpork S.A.	260	Rosario, Sta.Fé	Mayo, 2013
AGD S.A. (*)	50	Santa Eufemia, Cba.	Abril, 2013
CIP SRL	40	Río IV, Cba.	Enero, 2010
A. Wüst	30	Pcias. Bs.As.-Entre Ríos	Junio, 2005
F. Cané	24	Chañar Ladeado, Sta.Fé	Mayo, 2015
AFA (**)	18	Los Nogales, Sta.Fé	Marzo, 2015

(*) Produce para 3000 madres propias y el 50% excedente lo vende a productores de la zona.

(**) El 17 de octubre de 2014, en la Planta de Acopio de Cereales, de Los Nogales, S.Fe, dependiente de Arteaga, AFA, inauguró las instalaciones del Centro de Extracción de Semen Porcino “El Nogal II”; los verracos de alto mérito genético provenientes de Brasil, arribaron meses más tarde.

El primer Centro de I.A.P. de la Patagonia, ubicado en Senillosa, Pcia del Neuquén, se puso en funcionamiento, el 30 de julio de 2013, con seis padrillos para inseminar 1200 cerdas.

Con el objetivo de difundir la técnica de I.A.P. y abastecer de semen a un grupo de catorce productores, el 11 de julio de 2016, el Decano de la Facultad de Ciencias Veterinarias, de la UNCPBA, inauguró el “Centro de Inseminación Artificial y Reproducción Porcina”, en el Instituto Arana, ubicado en Tandil, Pcia de Buenos Aires.

El 10 de mayo del 2017, al inaugurar la Unidad de Producción Genética Porcina, en el campo de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP, en Gral. Pico, su Decano Dr. José M. Romero anunció la iniciación de las obras del Centro de Reproducción que darán alojamiento a 10 verracos para producir 9.000 dosis de semen.

OBJETIVOS

1. Mejoramiento genético.

El principal objetivo de la I.A.P. es la utilización intensiva de reproductores que se han destacado en las pruebas de “testaje”. La eficiencia en la conversión alimentaria, la velocidad de crecimiento y calidad de la res son caracteres de heredabilidad elevada y, por consiguiente, se transmiten de padres a hijos. Como consecuencia del mejoramiento genético se obtienen mayores rendimientos de producción. Estos caracteres heredables tienen una implicancia económica importantísima para el productor, y más aún en una explotación intensiva como es la producción del cerdo. A partir del procesamiento electrónico de la información, se ha logrado un mejoramiento genético significativo. Hay organizaciones, que por sucesivas fusiones, les permiten manejar millones de datos productivos de granjas a nivel mundial. Al respecto, Santa María, P., 2016, informa que Agrocere PIC, empresa creada en 1977, por la unión de Agrocere y PIC- Pig Improvement Company, de Inglaterra, maneja el uso de genes a nivel global, incluso en el Cono Sur, en Argentina y Brasil. Indica además, que el programa de mejoramiento individualiza los individuos superiores para aparearlos y obtener el mayor vigor híbrido; esta política permitió, en los últimos diez años, incrementar la velocidad de crecimiento, al lograr 15 kilos más de peso final, en el mismo período de vida, utilizando un 20% menos de alimento.

2. Sanidad.

Permite realizar un aislamiento sanitario de la piara al evitar la entrada de reproductores provenientes de otros establecimientos. Mediante la I.A.P con verracos controlados sanitariamente, se elimina la posibilidad de contagio de enfermedades infecto-contagiosas por vía venérea, principal ruta de infección de la brucelosis porcina, Brinley Morgan, W., 1970. Guerin, B., y Pozzi, N., 2005, investigadores del Laboratorio Nacional para el control de Reproductores, Maisons-Alfort, Francia, informan que varios virus se han aislado del semen de verracos, particularmente en la fase virémica de la enfermedad, entre los que mencionan:

- aftosa
- síndrome reproductivo y respiratorio porcino
- enfermedad vesicular porcina
- parvo virus porcino
- picorna virus
- adeno virus
- entero virus
- encefalitis japonesa
- pseudo rabia
- fiebre porcina africana
- reo virus

Dado su importancia, recomiendan un intenso monitoreo, antes y durante la presencia de los verracos en el Centro de I.A.P., aplicando metodologías certeras, como el cultivo de tejidos e incluso los test de Elisa y PCR, para detectar estas virosis en los animales o directamente en muestras de semen.

Por otra parte, Feitsma, H., 2009, indica que particularmente en los Centros de I.A.P., para evitar la transmisión, a través del semen, de enfermedades infecciosas como: Enfermedad de Aujeszky, Peste Porcina y Brucelosis, los verracos deben estar sometidos a estrictos controles sanitarios e intensivas medidas profilácticas de manejo. En síntesis, dado el alto riesgo de diseminar enfermedades a través de la I.A.P., el objetivo primordial es el de proveer semen libre de patógenos y ser inflexibles en los programas de control sanitario.

3. Manejo.

Posibilita el apareamiento de cachorras con verracos de mayor peso, evitando lesiones y traumatismos posteriores a la monta.

4. Seguridad.

Disminuyen los riesgos del operador, al eliminar los verracos de por sí agresivos y peligrosos en diversas circunstancias.

5. Económicas.

Con la I.A. hay un ahorro de espacio, de alimentación y mano de obra destinados al manejo de los verracos.

Al eliminar o reducir el número de verracos del establecimiento, de la misma forma se eliminan o disminuyen al mínimo las posibilidades de muerte o inutilización de animales producidas por enfermedades, accidentes o peleas. Sin embargo, a pesar de las ventajas mencionadas, el grado de utilización de la I.A.P. ha tenido una gran disparidad en las diversas regiones de producción del mundo. Los motivos, más que por diferencias técnicas, obedecen a distintas idiosincrasias y a razones de índole económico, dada la magnitud de la relación costo-beneficio propias de cada país.

CAPITULO 2: TECNICAS DE EXTRACCION DE SEMEN

El objetivo más importante, en un programa de recolección de semen, es la obtención de eyaculados normales y con la menor contaminación posible, a través de un procedimiento sencillo que no sea traumático e injurioso para el verraco. La duración de la eyaculación es de 5 a 10 minutos, dado que el porcino es la especie doméstica que produce la mayor cantidad de semen. Paradójicamente, con la I.A. convencional con semen fresco, se necesitan para preñar una vaca un millón de espermatozoides, en cambio en la cerda de 1,5-3 mil millones de células espermáticas, en consecuencia la cantidad de gametas que produce el verraco es un punto crítico. Además, es muy importante tener en cuenta que la calidad del material seminal, al momento de la recolección, puede afectar la fertilidad y la prolificidad de la cerda inseminada. Por eso es elemental, durante el proceso de extracción, extremar los cuidados para que el contenido de la bolsa prepucial: orina, restos de semen y secreción glandular, no contamine al eyaculado.

La extracción de semen en el verraco se puede realizar

de tres maneras:

-por medio de la vagina artificial (V.A.), según se observa en la figura 1;

-a través del método de la mano enguantada (M.E) detallados en las figuras 4, 5 y 6;

-por sistemas automáticos de recolección mostrados en las figuras 11, 12 y 13.

La V.A. de acuerdo con King, G., & Macpherson, J., 1973, fue desarrollada por Rudolfo en 1934, siendo modificada posteriormente por Aamdal, J. & Hogset, I, 1956; y por Melrose, D. & O'Hagan, C. en 1959. La técnica de la M.E, para la extracción del material seminal porcino, fue realizada por Hancock, J., & Hovell, G., en 1959, con la cual es posible separar el eyaculado en tres fracciones: -pre-espermática: producida por la secreción de las glándulas bulbouretrales, vesículas seminales y próstata, su volumen varía entre 10 a 15cc, es acuosa, de apariencia clara o transparente, pobre en espermatozoides, con un alto contenido de bacterias, no apta para el procesamiento; -espermática: de aspecto blanquecino-lechoso, con una altísima concentración de espermatozoides y secreciones proteicas de la próstata y epidídimo; -post-espermática: con un volumen de 150 a 200cc, proveniente de la secreción de las glándulas bulbouretrales y la próstata, de color blanco pálido a grisáceo, con escaso contenido de espermatozoides, más una abundante cantidad de flóculos gelatinosos, que en el servicio natural sellan el cuello uterino para evitar el reflujo del semen. Por el contrario, para el procesamiento del material seminal, deben ser eliminados por filtrado mediante una gasa, dado que su presencia afecta la presión osmótica del plasma seminal y por consiguiente la viabilidad espermática. En relación a la eficiencia para la recolección de semen con la V.A. y la M.E, King, G., & Macpherson, J., 1973, realizaron durante 42 días consecutivos un ensayo comparativo con 12 verracos Yorkshire. En forma alternada, semana por medio, se realizaron dos colectas semanales del eyaculado con la misma técnica. No se encontraron diferencias significativas, según se indica en el cuadro 3, en las características de los eyaculados recolectados, salvo para la cantidad total de espermatozoides obtenidos. Desde el punto de vista biológico este ítem se consideró de dudoso valor dado que se encontraron pérdidas de células espermáticas en el equipo de recolección.

Cuadro 3: Características de los eyaculados recolectados con la vagina artificial o la mano enguantada*.
(King, G. & Macpherson, J, 1973)

Característica	Método de recolección	
	Mano enguantada	Vagina Artificial
Tiempo de eyaculación, seg.	440±276	510±304
Volumen total, ml.	382±219	336±173
Fracción gelatinosa, ml.	80±49	71±45
Volumen del eyaculado sin fracción gelatinosa, ml.	302±176	264±134
Concentración espermática/ml x 10 ⁶	381±277	322±201
Total de espermatozoides/ eyaculado x 10 ⁹	84±41 (a)	70±43(a)
Porcentaje de espermatozoides móviles	79,4	79,4

(*)Valores promedio y desvío standard para 72 eyaculados obtenidos de 12 verracos Yorkshire, de 12,2 meses de edad.

(a)Diferencias significativas (p<.05)

En investigaciones realizadas con anterioridad, Kennelly, J. & Foote, R., 1964, midieron pérdidas espermáticas del 9,2% en el equipo de recolección y en la fracción gelatinosa del eyaculado. Swierstra, E., & Rahnefeld, G., 1967, midieron una pérdida total de 3,28% de espermatozoides, distribuidas en la camisa y el cono de látex, en el frasco de recolección, en la fracción gelatinosa y en el filtro usado para retener a la misma.

Figura 1: Extracción de semen con la técnica de la vagina artificial.



La V.A. se puede fabricar en forma artesanal según se muestra en la figura 2, o en forma industrial, de la cuál se da como ejemplo, en la figura 3, el modelo Landshut de Minitüb. El modelo artesanal consta de un cuerpo rígido, cilíndrico, de 30 cm de largo con una luz de 5 cm de diámetro. Lleva una doble camisa de látex que sobrepasa los extremos, de tal modo que, al cerrarse sus extremos con bandas elásticas, sobre el cuerpo de la VA, forman dos compartimentos. En el interno, entre las dos camisas, se coloca agua a 40°C. En el externo, entre la camisa externa y el cuerpo de la V.A., se insufla aire, rítmicamente, con una perilla de goma a través de una válvula metálica fijada a aquel, para simular las contracciones del cuello del útero sobre la porción espiralada del pene. Uno de los extremos de la V.A. lleva un cono de látex con un frasco recolector de vidrio de 600 ml. La totalidad de la V.A. va protegida con una cubierta plástica con goma espuma, para protección térmica. El modelo Landshut está basado en un prototipo noruego. Tiene un cuerpo corto de tal manera que la porción espiralada del pene queda apresada con la mano a medida que avanza por el embudo colector de látex, situación similar ocurre cuando el glande espiralado del pene del verraco penetra en el conducto cervical, en la monta natural dando comienzo a la eyaculación. Se utiliza la V.A., en lugar del método de la “mano enguantada”, si el verraco no acepta ésta técnica de extracción o cuando hay una excesiva rotación de personal abocado a la tarea de obtención del semen. Es más fácil el entrenamiento y hay menores posibilidades de variación, en el manejo de la recolección, por inexperiencia del operador.

Figura 2: Vagina artificial artesanal.



Figura 3: Vagina artificial modelo Landshut de Minitüb.



El método de la mano enguantada lo utilizan el 90% de los Centros de I.A.P, a nivel mundial, para la recolección del material seminal de acuerdo a lo informado por Decuadro-Hansen, G. 2015. Es importante tener en cuenta que los guantes de látex reducen significativamente la motilidad espermática, en consecuencia no deben ser utilizados para la recolección de semen. (Awda y Buhr, 2008). Se detallan a continuación tres variantes técnicas diferentes de implementación:

1. Técnica del Centro de I.A. de Rouillé-INRA-Francia (figura 4). Se frota suavemente la porción espiralada del pene a través del prepucio. Ni bien desenvaina, se sostiene con la mano enguantada y se ejerce presión a intervalos de 20 a 30”, la cual se va incrementando durante el transcurso de la eyaculación. El semen se recolecta en un frasco de vidrio, previamente calentado en estufa a 30°C. Los verracos, provenientes de estaciones de testaje, son entrenados a partir de los siete meses de edad. Recomiendan que observen saltar previamente a los adultos, antes de realizar la primera monta. Además, indican que hay padrillos, al iniciar el adiestramiento, que rechazan el guante, por lo tanto se debe realizar la extracción del semen a mano desnuda y posteriormente recurrir a la mano enguantada.

Figura 4: Extracción de semen con la técnica de la mano enguantada en el Centro de I.A. de Rouillé-INRA-Francia



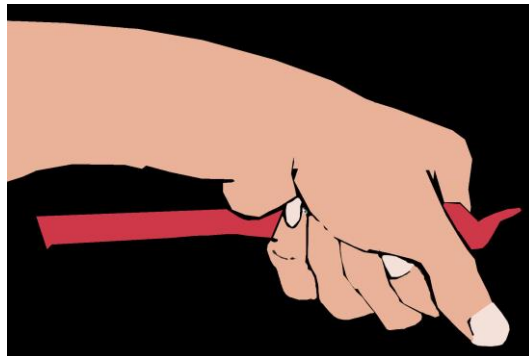
2. Método del Royston Pig Improvement Centre-Cambridge-Inglaterra (figura 5). Ni bien salta el verraco sobre el maniquí, el operario, con guantes de goma gruesos y superficie rugosa en las palmas, frota el prepucio. Producida la erección, toma el pene con la mano enguantada y le ayuda a realizar una erección total tirándolo levemente hacia fuera. La fracción pre-espermática se deja caer al piso. El operario se saca el guante que había sostenido al pene, con el otro puesto se lava la mano desnuda y un ayudante le coloca un guante de polietileno y una servilleta descartable doblada en forma de rectángulo. Vuelve a tomar el pene con el guante rugoso, lo ayuda a realizar la erección, coloca la servilleta por encima de la porción espiralada, dando tres vueltas alrededor. La sostiene con los dedos índice y pulgar de la mano que posee el guante de polietileno y de inmediato comienza a realizar contracciones rítmicas con los restantes dedos que toman la porción espiralada. Un operario sostiene el aparato recolector de semen el que contiene, en su boca, tres vueltas de gasa para el filtrado de la fracción gelatinosa (“tapioca”) del eyaculado.

Figura 5: Extracción de semen con la técnica de la mano enguantada en el Royston Pig Improvement Centre-Cambridge-Inglaterra.



3-Método de Simmet: el verraco ni bien arriba al galpón de salto, si está acostumbrado a esta rutina de manejo, prácticamente en forma inmediata monta el maniquí y cuando comienza a buscar la vagina, el operario, ubicado del lado derecho del reproductor, desvía el pene con su mano izquierda enguantada y toma las primeras vueltas de la porción espiralada como se muestra en la figura 6. La presión manual debe ser firme y pulsátil al comienzo, para lograr una rápida eyaculación. Se descarta la primera fracción del eyaculado, dejándola caer al suelo. Sólo se recoge, en un frasco graduado de 200cc, mantenido en un baño María a 37°C, la fracción espermática. El recipiente de recolección tiene cubierta su boca por un filtro de gasa, para impedir el paso de los flóculos gelatinosos de la tercera fracción del eyaculado.

Figura 6: Método de Simmet para la extracción de semen con la mano enguantada



Con las técnicas de la V.A. y la M.E., no es necesario contar con cerdas en celo para que el verraco monte y eyacule. Una vez entrenados, a partir de los siete meses de edad, aceptan montar sobre un maniquí, “fantom” o un potro de salto, del tamaño de una cerda mediana adulta, de estructura rígida, con forma alargada y redondeada. Es conveniente que observen saltar, previamente, a los adultos antes de realizar la primera monta. Además, se facilita el entrenamiento rociando el potro de salto con orina de una cerda en celo o semen. Una vez entrenado, el verraco rápidamente monta al maniquí y comienza el reflejo de la eyaculación. Más aún, los padrillos con experiencia, pueden llegar a montar cualquier superficie redondeada que sobresalga del piso, como troncos o cubiertas, según se puede apreciar en la figura 7. Keller, M., 1975, informa que los verracos maduros, con práctica en servicio natural, se adaptan con más facilidad al maniquí que los machos jóvenes, sin contacto anterior en la monta de cerdas en celo. Menciona además, que alrededor de un 3% de los padrillos no aceptan el maniquí, razón por la cual son descartados del Centro de I.A.P.

Figura 7: Verraco montando la rueda delantera de un tractor mientras un operario toma la porción espiralada del pene para extraer el semen. (Garay, A., 2005)



Se describen dos tipos de maniqués:

1- Artesanales:

-Petro de monta fijo o portátil: en la figura 8, se puede apreciar el maniquí diseñado por Garay, A., 2002. Consta de dos partes fundamentales, una superior y otra inferior, descriptas a continuación, junto con las piezas utilizadas para su construcción, las que se muestran en detalle en la figura 9:

Figura 8: Potro de monta fijo o portátil. (Garay, A., 2005)



.Parte inferior consta de:

- Plataforma de madera dura de 2" de 0.45 x 1.20 m, de peso considerable y suficiente como para permitir que el cerdo pueda subir de cualquier extremo, manteniendo el equilibrio, al mismo tiempo que sustenta el potro en posición normal y de funcionamiento. A su vez, la madera está agujereada en el centro, en coincidencia con el orificio del caño vertical de la misma, para permitir que el caño que viene desde el cilindro superior, pueda pasar libremente hacia abajo si fuera necesario, tal el caso que se desee bajar totalmente el cilindro forrado en cuero, por tratarse de un animal joven o de baja estatura.
- Cilindro de 4" posicionado verticalmente a la madera, con un agujero pasante en su extremo superior, que es utilizado para regular en altura, la parte superior del potro. Dicho cilindro está reforzado en su parte inferior, atornillado a la madera, con la finalidad de brindar mayor resistencia al caño vertical, al momento de la monta.
- Perno pasante que se utiliza para fijar los dos cilindros agujereados, una vez seleccionada la altura de trabajo adecuada.

Figura 9: Potro de monta portátil desarmado mostrando en detalle la parte inferior y superior. (Garay, A., 2005)



.Parte superior consta de:

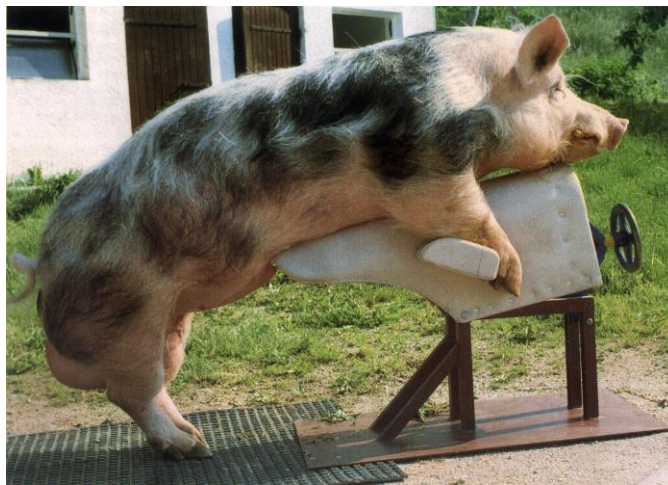
- Un cilindro de caño de 8” de diámetro x 0.95 m de largo, contado en ambos extremos a 45°, quedando el bisel hacia abajo y forrado totalmente con cuero de un animal de la misma especie. Las dos puntas o extremos del caño son iguales, como para permitir el uso inmediato, a libre elección, por parte del individuo donante de semen.
- Cuatro manivelas de caño de 1 ½” a 1 ¾” de 15 cm de largo c/u e insertadas de a dos por lado del cilindro, que permiten al cerdo poder asirse en el momento de la monta, dándole seguridad en el transcurso del desarrollo de la misma.
- Un cilindro de caño soldado al cilindro grande, horizontal, forrado en cuero, de medida inmediata inferior al diámetro del cilindro vertical de la “parte inferior” y algo más alargado que éste; provisto de varios agujeros pasantes que permitan variar la altura del potro de acuerdo al tamaño y alzada del padrillo, con el que se está trabajando

2.Industriales:

Existen dos variantes: los convencionales y los diseñados para la recolección automática del eyaculado.

El convencional, como ejemplo se muestra en la figura 10 el maniquí desarrollado por Minitüb, está dotado de una base metálica ensanchada, para su fijación al piso. En su parte superior presenta una cubierta, robusta, lisa y fácil de limpiar, con dos saliencias laterales para el apoyo de las manos del verraco. Un sistema de cremalleras permite regular la altura e inclinación del maniquí.

Figura 10: Potro de salto con regulación manual de la altura, fabricado por Minitüb, Tiefenbach-Alemania.

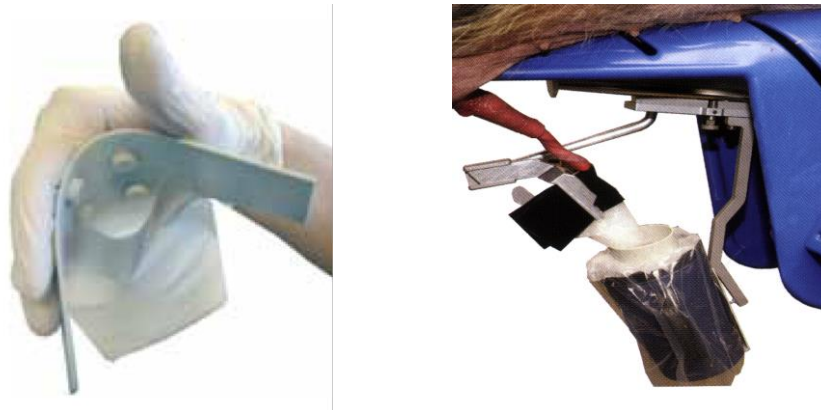


Los sistemas de recolección automática, han sido diseñados para mejorar la eficiencia de la mano de obra y del tiempo destinados a la obtención de eyaculados de calidad, en los grandes Centros de I.A.P. Se describen dos modelos, el AutoMate® y el Collectis®.

-AutoMate®

Mostrado en la figura 11, ha sido desarrollado por Minitüb, Tiefenbach-Alemania, es de altura graduable, con amortiguación a presión de gas, que ofrece al verraco un confort óptimo para la recolección del semen. Está dotado con una base maciza ensanchada, para la fijación al piso y una robusta cubierta plástica superior de fácil higiene. Posee un dispositivo adicional, mediante un mecanismo integrado, para la recolección automática del semen que consiste en: - una guía corredera por debajo del maniquí, con soporte para el envase de recolección de semen y pinza para el cervix artificial; - un cervix artificial descartable, adosado, que es una réplica exacta del cuello uterino de la cerda, tanto en su estructura como en su superficie interna, con discos de goma que estimulan y aseguran la sujeción perfecta del pene; - una bolsa interna, fácil de desprender para desechar la secreción pre-espermática; y -una funda plástica, en forma de tubo, colocada en el recipiente de recolección del semen. La erección del verraco se inicia con el cervix artificial fijado a la mano enguantada del operario. Después de iniciada la eyaculación, se elimina la bolsa interna con la secreción pre-espermática, se conecta el cervix artificial al recipiente de recolección y se lo fija con la pinza. La acción de ésta hace que la presión y la estimulación del pene se mantienen constante durante el transcurso de la eyaculación, sin la intervención del operario, que puede iniciar otras tareas de recolección. Al finalizar la eyaculación, el verraco desmonta y la guía con el vaso de recolección se retrae automáticamente, debajo del maniquí, a una posición segura.

Figura 11: Maniquí para verracos con dispositivo adicional para la recolección automática del semen, AutoMate® y cervix artificial. (Minitüb, Tiefenbach, Alemania)



El sistema AutoMate®, reduce en un 70% el tiempo destinado a la mano de obra. Además Terlouw, S. y col. 2008, en un ensayo realizado con nueve padrillos de 9 a 30 meses de edad, demostraron que no había diferencias significativas en las características macro y microscópicas del eyaculado, comparando el sistema AutoMate y el método de la mano enguantada, de acuerdo a lo que se indica en el cuadro 4.

Cuadro 4: Comparación del sistema AutoMate® y el método de la mano enguantada para la recolección del eyaculado y las características macro y microscópicas del semen.*(Terlouw, S. y col., 2008.)

Característica	Método de Recolección		P-value
	AutoMate®	Mano enguantada	
Intervalo desde la entrada a la sala de extracción-comienzo de la eyaculación	2.7±0.13 min.	2.6±0.13 min.	0.3653
Duración de la eyaculación	7.1±0.23 min.	7.2±0.23 min.	0.8031
Volumen del eyaculado	230±5.7/ ml.	223±5.7 /ml.	0.369
Concentración espermática	0.28×10 ⁹ ±0.02/ml.	0.26×10 ⁹ ±0.02/ml.	0.4281
Motilidad espermática	88.2%	88.3%	0.88
Porcentaje de motilidad progresiva	74.7	74.8	0.9611

(*)Valores promedio de los eyaculados de nueve verracos, de tres líneas y tres grupos de edad, entrenados para la M.E y el sistema AutoMate®.Las recolecciones se realizaron los días lunes y jueves en forma alternada.

-Collectis®.

Este modelo fue desarrollado por Genes Diffusion Department of Swine Artificial Insemination Technologies y fue adquirida su licencia por IMV Technologies el 31-01-08. L 'Aigle-France. Collectis® ha sido diseñado para que se adapte a diferentes clases de maniquí y puede realizarse el montaje en cualquier tipo de instalaciones preexistentes. Permite que se efectúe la tarea de extracción del material seminal a varios verracos simultáneamente. Actualmente es utilizado para recolectar semen de 6000 padrillos en ocho diferentes países que producen más de 7,5 millones de dosis anuales.

Figura 12: Potro de salto construido en acero inoxidable de fácil adaptación a cualquier tipo de maniquí. (Collectis®-IMV Technologies, L'Aigle-Francia)



Los principales componentes del sistema Collectis[®], que se muestran en las figuras 12 y 13, son:

-Potro de salto: construido en acero inoxidable, con un sistema de montaje ajustable, en la parte inferior del maniquí, para permitir la sujeción firme y graduable de la V.A. y el vaso colector. La cubierta superior, fabricada en acero inoxidable de ¼” puede ser fijada a la parte superior de un maniquí preexistente.

-Una vagina artificial (V.A) de forma helicoidal, una réplica del cuello uterino, que maximiza la estimulación del verraco durante la recolección del semen. El diseño y el material descartable utilizado maximizan la higiene y previene la contaminación del material seminal. La presión del aire, en el interior de la V.A., es regulado por un control central.

-Material descartable para la recolección de semen

- Manga de recolección: es un cilindro plástico que rodea el pene en el interior de la V.A.
- Cono de filtración: unido a la base de la V.A. filtra el semen hacia la bolsa de recolección, evitando el contacto con el medio ambiente.
- Bolsa de recolección: después del filtrado, el semen pasa a la bolsa, unida al cono de filtración, la cuál es llevada por el operario al laboratorio para el procesamiento del material seminal.

-Panel de control: regula la presión del aire aplicada a la V.A. durante la recolección de semen.

Figura 13: Vagina artificial helicoidal con presión de aire regulada. (Collectis[®] IMV Technologies, L’Aigle-Francia)



Lellbach, C. y col. 2008 evaluaron la eficiencia económica y la calidad del semen, obtenido por los métodos automáticos, Collectis[®] y AutoMate[®], comparados con el tradicional de la mano enguantada. Durante 6 meses recogieron 408 eyaculados, 106 para cada método, de 17 verracos Pietrain. El semen fue diluido con el diluyente BTS y almacenado a 17°C durante 5 días. Comprobaron una alta homogeneidad, igual calidad y motilidad espermática entre los eyaculados recogidos por las tres metodologías. La contaminación bacteriana fue significativamente menor en los eyaculados obtenidos con los métodos automáticos. Los resultados logrados se detallan en el cuadro 5.

Cuadro 5: Características del material seminal y la cantidad de eyaculados recolectados por hora con los métodos automáticos o de la mano enguantada. (Lellbach, C. y col. 2008)

Características evaluadas	Método de recolección			Grado de significancia
	Automáticos Collectis®	Automate®	Mano enguantada	
Contaminación bacteriana	+	+	+++	(p<0.001)
Conc. Espermática Billones/ml.	0.349	0.341	0.384	(p=0.005)
Volumen del eyaculado (ml)	274.2	228.2	258.2	(p<0.001)
Total de células espermáticas por eyaculado (billones)	87.0	80.8	98.8	(p<0.001)
Número de eyaculados recolectados por hora	12.6	8.9	5.7	

Si bien son evidentes las diferencias prácticas, en la eficiencia de recolección, los métodos automáticos requieren una mayor inversión. Lellbach, C. y col., 2008, a través de la evaluación realizada por el Instituto de Economía Agrícola de Munich, consideran que para ser rentable la erogación, el centro de I.A.P. debe procesar 7400 y 9350 dosis de semen por semana con el AutoMate® o el Collectis®, respectivamente. Son una realidad en Europa y Estados Unidos, no obstante hay pocos instalados. En Sudamérica, una de las empresas más grandes del sector, Brasil Foods, con 600.000 cerdas y 14 Centros de I.A de gran porte, sólo hace colecta automática en cuatro de ellos, informa Decuadro-Hansen, G., 2015b. En Argentina, Netpork S.A, posee cuatro Automate, es el único Centro de I.A.P que utiliza un sistema automatizado, dado que el resto, por razones de escala, emplean un sistema manual para obtener el material seminal, (Gabosi, H., 2016). En la figura 14 se pueden apreciar en detalle, el Automate y las instalaciones construidas para realizar la recolección automática del semen en el Centro de I.A.P de Netpork S.A.

Figura 14: Brete con el Automate e instalaciones para la recolección de semen del Centro de I.A.P de Netpork S.A. (Gentileza Dr H. Gabosi)

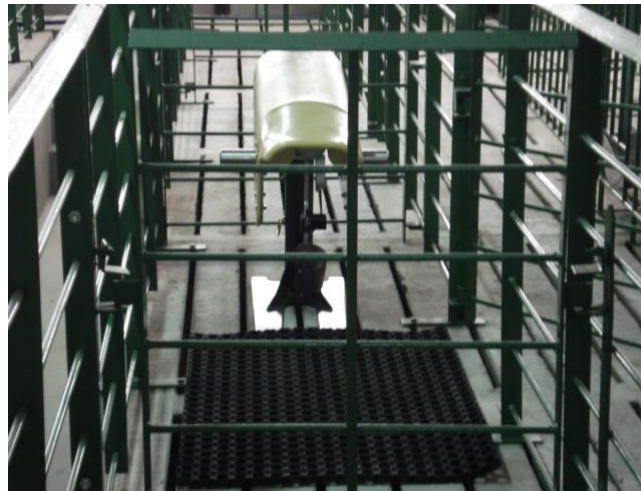
-la fosa donde circulan los operadores



-extracción de semen



-brete con el Automate



-vista general de las instalaciones



-detalle del Automate



CAPITULO 3: VALORACION Y CARACTERISTICAS DEL EYACULADO

La valoración del semen porcino ocupa un espacio importante en la actividad, tanto de un centro de inseminación artificial, como así también en la desarrollada por profesionales, que en forma individual, dedican parte de su tiempo a esta tarea, ya que de ella depende el destino ulterior del material seminal de cada uno de los verracos en servicio.

El laboratorio de procesado y almacenamiento de semen porcino no necesariamente, tiene que ser altamente sofisticado ni requerir una gran inversión. Sin embargo, todo el esfuerzo deberá estar puesto en equipar y mantener al laboratorio en el más alto standard de higiene y eficiencia. Asimismo, este laboratorio deberá estar ubicado lo más cercano posible al área de extracción de semen, a fin de minimizar la demora en la recepción y procesado del eyaculado.

La evaluación de la calidad seminal para determinar la fertilidad potencial de un eyaculado o del verraco del que se colectó, es un indicador importante para el éxito del programa de inseminación a instaurar, como así también, de la eficacia del Centro de I.A. La estimación de la fertilidad mediante un simple análisis “in vitro” es todavía incierto debido a las diferencias entre los resultados del laboratorio y los resultados de fertilidad “a campo”.

La evaluación convencional (evaluación subjetiva) de una muestra de semen puede determinar su grado de normalidad antes de que el eyaculado sea procesado para la I.A. Normalmente dicha valoración incluye la medida de: volumen; color/aspecto; olor; motilidad; morfología espermática; concentración espermática y pH.

En la actualidad, se dispone de nuevas técnicas analíticas basadas en programas informáticos (CASA/Computer Assisted Sperm Analysis), que permiten una valoración objetiva del semen. La implementación de estos sistemas disminuye, en gran medida, el factor subjetivo del análisis convencional, lo que garantiza una mayor correlación con la capacidad fecundante de un eyaculado.

Una vez extraído el eyaculado y llevado al laboratorio, al semen se lo deberá mantener en baño María a 30°C.

El frasco conteniendo el eyaculado deberá rotularse adecuadamente, colocándole el mayor número de datos posible, para poder realizar una correcta y rápida identificación del padrillo dador.

La consideración de ciertos parámetros nos facultará para decidir el destino del eyaculado determinando si, cualitativamente, el material seminal está en condiciones de ser procesado.

La dividiremos en dos partes:

a) **Evaluación macroscópica.** Determinaremos tres características del eyaculado:

- Volumen.
- Color / aspecto.
- Olor.

b) **Evaluación microscópica.** En la que analizaremos:

- Motilidad Progresiva.
- Morfología Espermática.
- Concentración Espermática.
- pH

-Evaluación macroscópica.

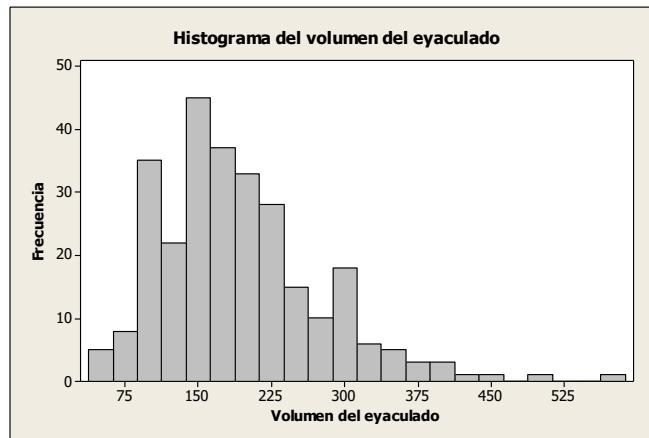
Volumen. Hay diferencias significativas entre razas en el volumen del eyaculado y la producción de espermatozoides. Particularmente, las de mayor tamaño, Large White, Yorkshire, producen mayor volumen de semen y cantidad de espermatozoides por eyaculado. Por lo contrario, Duroc-Jersey es una de las razas que producen eyaculados de menor volumen. Después de la pubertad, que ocurre entre los cinco y ocho meses de edad, se incrementa la cantidad de células espermáticas y el volumen del eyaculado que se corresponde con el crecimiento testicular, hasta que el verraco alcanza los 18 meses de edad. El nivel de producción se mantiene constante hasta los 5 años, recogiendo por extracción de 200 a 400 ml. de semen y de 20 mil a 80 mil millones de espermatozoides, para luego, a medida que avanza la senectud, declinar progresivamente, Hughes, P., y Varley, M.,1980. Asimismo, como en otras especies de mamíferos, existe en el verraco una correlación positiva entre el tamaño testicular y la producción de semen. Este carácter sería altamente heredable, Decuadro-Hansen, G., 1999.

El volumen del eyaculado tiene una gran importancia práctica, dado que es la principal variable que condiciona la cantidad de cerdas inseminadas, principalmente cuando la I.A. se realiza con semen crudo fraccionado y sin diluir, Christenson, R., Levis, D., 1989.

Se describen a continuación las estadísticas sobre 807 eyaculados recolectados, en el Centro de I.A.P - CAR-CIAVT, de diez verracos durante dos años.

El método de recolección de semen se realizó con vagina artificial. El volumen del eyaculado promedio, medido con posterioridad al filtrado de la fracción gelatinosa, fue de 196,5ml, con un desvío standard de 91,7ml. El volumen máximo recolectado 580,0 ml, mientras que el valor mínimo que se presenta en los datos es de 50,0 ml. La mediana observada 190,0ml. Se detalla a continuación la distribución de frecuencias del volumen del eyaculado, representada en la figura 15.

Figura15: Distribución de frecuencias del volumen de 807 eyaculados, de diez verracos, extraídos durante dos años en el Centro de I.A.P. CAR-CIAVT



El 50% de los eyaculados recolectados se encuentra entre 130 y 250 ml. Se observa además una clara asimetría, el mayor porcentaje de eyaculados tiene un volumen entre los 100 y 300ml, aproximadamente. Además, se implementó un modelo para analizar la influencia de la raza y edad del verraco al inicio y al final del trabajo. La edad de los reproductores al iniciar el ensayo fue de 10 a 12 meses. Resulta significativa la variable raza a un nivel del 1%. También se detecta un crecimiento del volumen del eyaculado, a medida que transcurría el período de dos años de recolección, significativo al 1%, que difiere para cada raza. En el cuadro 6 se presentan los parámetros evaluados del modelo para datos longitudinales, que tiene en cuenta la estructura de correlación presente entre las observaciones.

Cuadro 6: Volumen del eyaculado, al inicio y al final del período de recolección, considerando la raza del verraco

Raza	Volumen del eyaculado al inicio del ensayo	Volumen del eyaculado al final del ensayo
Duroc-Jersey	90.5 ml	176,7 ml
Hampshire	177.3 ml	282.8 ml
Yorkshire	88.4 ml	309,3 ml

La tasa de crecimiento trimestral fue de 8,9% para el Duroc Jersey, 8,8% en el Hampshire y 18,41% la obtenida por el Yorkshire.

El **ritmo de colecta** tiene una relación directa con el volumen y la concentración espermática del eyaculado. El eyaculado del verraco tiene la particularidad de movilizar una gran parte de las reservas epididimarias. El aumento del ritmo de colecta agota las reservas, acompañado 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 criterioso no someter al verraco a un ritmo de colecta elevado, con el propósito de no agotar las reservas, ni espaciar demasiado las mismas para mantener un estímulo constante a la producción de semen, Decuadro-Hansen, G., 1999.

Color / Aspecto: El semen porcino presenta una coloración sui generis, estando influenciada por el nivel de concentración espermática que presente el eyaculado. Si la concentración de espermatozoides es alta, tendrá un color blanco lechoso. Por el contrario, si la totalidad del eyaculado es de un color blanco acuoso, nos estará indicando que se ha recolectado un eyaculado con una baja cantidad de espermatozoides.

Sustancias de coloración rojo o amarillo indican que ha habido una contaminación con sangre, orina, líquido prepucial u otros cuerpos extraños que determinan que el eyaculado se descarte. Cuando evaluamos el eyaculado, el primer elemento extraño que debemos considerar es **la sangre**, ya que los eosinófilos poseen enzimas, como la beta-amilasa y la beta-glucuronidasa, que actúan sobre los factores de capacitación, que la gameta recibe a través de su tránsito por el epidídimo, produciéndose como consecuencia, una capacitación precoz que lleva a la pérdida del poder fecundante del espermatozoide.

Olor: Normalmente, el eyaculado del verraco posee un olor fuerte pero no repugnante. Si fue contaminado con líquido del divertículo prepucial, el semen presentará un mal olor. Esto indica que el proceso de recolección no ha sido realizado en forma apropiada. Para evitar la contaminación, es muy importante, antes de iniciar este proceso, frotar firmemente el prepucio con la mano protegida por un guante descartable.

-Evaluación microscópica

Está destinada a analizar, subjetiva u objetivamente, el contenido y calidad de los espermatozoides de un eyaculado. Para realizar esta tarea es importante contar en el microscopio con una óptica adecuada que posea objetivos de **contraste de fases**, dado que es una óptica que hace claramente visibles las estructuras de objetos no teñidos en preparaciones vivas. El **contraste de fases positivo** es el método estándar para la evaluación de semen. El **contraste de fases negativo** es utilizado por el **sistema CASA** (Computer Assisted Semen Analysis). Aquí el objeto a analizar se verá brillante y el fondo será oscuro. Asimismo, es imprescindible trabajar con una **platina termorregulable** que, con el fin de unificar criterios en lo referente a la valoración del semen, deberá ser regulada a una temperatura alrededor de 38°C a 39°C.

Motilidad progresiva. La evaluación de la motilidad del semen requiere de un cierto entrenamiento y práctica. Se evalúa colocando una pequeña gota de semen (5 microlitros, aprox.) sobre un portaobjetos, tapándola cuidadosamente con un cubreobjetos. Hay una tendencia a utilizar una gota demasiado grande, lo que puede impedir realizar una correcta valoración. La capa de semen entre porta y cubreobjetos debe ser lo más delgada posible y la gota de semen poder fluir fácilmente bajo el cubreobjetos, hasta alcanzar sus bordes. La muestra debe ser evaluada de inmediato después de su preparación. En cada campo microscópico se deben poder visualizar los espermatozoides individuales y la cantidad de células debe permitir que se muevan libremente. Es importante seleccionar para la evaluación campos que no estén ubicados en los bordes del

cupreobjetos, ya que la mayor oxigenación de esa zona del campo microscópico producirá un incremento en la motilidad espermática, que nos puede llevar a realizar una incorrecta valoración del semen. Como mínimo, se deberán evaluar 5 campos diferentes. El porcentaje de motilidad progresiva debe ser estimado en cada uno de los campos y sobre, al menos, 20 células espermáticas, asignando a cada una de ellas una de las siguientes categorías: “inmóviles”, “con movimiento local” o “con movimiento progresivo”. Es importante tener en cuenta que el espermatozoide puede perder su poder fecundante antes que su motilidad, por lo que ésta no es una garantía absoluta de fertilidad.

Morfología espermática. En los últimos años se han logrado notables avances en el conocimiento de los mecanismos de la reproducción, así como en los métodos de investigación y diagnóstico de los trastornos de la fertilidad. Es por ello que el análisis del semen continúa siendo un examen imprescindible en el estudio de los padrillos utilizados en IA. Muchos son los factores de origen genético y/o ambiental que afectan, directa o indirectamente, la fertilidad del verraco.

El análisis de las alteraciones en la morfología del espermatozoide es de gran importancia para poder determinar la capacidad reproductiva y futuro del padriilo. Si el porcentaje de anomalías en la estructura de la célula espermática es elevado, el verraco será infértil o estéril.

En general, Levis, D., 2004, considera que la mayoría de las anomalías observadas en el espermatozoide son: defectos a nivel de la cabeza, a nivel de la cola y presencia de gota citoplasmática. Estas anomalías se muestran o evidencian cuando los verracos han sufrido un stress calórico.

Asimismo, durante la producción diaria de dosis seminales para IA, se deben desechar los eyaculados que presenten un porcentaje de formas anormales superior al 20%. Para ello es importante que, durante la evaluación de motilidad, se valore también el nivel de alteraciones morfológicas que presentan los espermatozoides: anomalías de la cabeza; pieza intermedia; cola y presencia de gotas citoplasmáticas, tanto proximales como distales. El origen de estas anomalías es diverso, algunas se producen a nivel testicular, durante la espermatogénesis e incluso durante su paso por el epidídimo. Otras aparecen durante o después de la eyaculación y se las considera debidas a errores en el manejo del semen en el laboratorio, durante el proceso de producción de dosis para IA o durante la conservación de las mismas. También existe un componente genético como causa de aparición de formas anormales en el eyaculado. En cada una de estas fases, participan diversos factores que pueden dar lugar a la aparición de alteraciones de la morfología espermática, como procesos infecciosos que pueden influir, en forma negativa, en la espermatogénesis. Modificaciones del pH, shocks térmico u osmótico, durante el procesado del semen, producen alteraciones a nivel espermático.

Levis, D., 2004, sugiere que la valoración de la morfología espermática no es necesaria realizarla en cada eyaculado. Sin embargo, recomienda realizarla con mayor frecuencia durante el verano e inicio del otoño.

Como método de control y seguimiento de los verracos, un examen de morfología espermática completo (incluyendo un estudio del acrosoma), se debe realizar dos veces al mes, haciendo un conteo sobre 100 células, como mínimo. La morfología espermática se puede valorar utilizando técnicas de tinción o fijación. La morfología de la cabeza, pieza intermedia, cola y gotas citoplasmáticas, se puede valorar fácilmente con objetivos de 20x, 40x ó 100x. Para evaluar la integridad del acrosoma es necesario el uso de soluciones para fijación y observar la muestra con microscopio de contraste de fases o CDI (Contraste Diferencial de Interferencia / Sistema Nomarski), con objetivo de un mínimo de 100x .

Cuando, en forma reiterada, los porcentajes de alteraciones en la morfología espermática, superan los valores máximos exigidos (20%), en el Centro de IA se deben tomar las siguientes medidas:

- a) Separar temporalmente al verraco afectado, del programa de producción seminal.
- b) Colecta y control de semen en los verracos afectados, una vez por semana y durante 3 meses. Si en ese período no hay una evolución positiva, se recomienda el sacrificio de los animales.
- c) Si el problema está relacionado con el manejo del semen durante la extracción o en el laboratorio, se deberá revisar el protocolo de producción de dosis seminales.

-Principales alteraciones en la morfología del espermatozoide:

- 1) Anomalías de la cabeza. Las diferentes formas anormales de la cabeza (macro y microcéfalos) tienen su origen a nivel testicular. Generalmente, estos espermatozoides se mueven pero no llegan a fecundar al ovocito. Por otra parte, estas células son difíciles de identificar durante el análisis de motilidad. Las cabezas sueltas aparecen a nivel del epidídimo y se deben a que la estructura de la pieza intermedia se vuelve más frágil y por un efecto mecánico se rompe. El acrosoma es una parte fundamental del espermatozoide y su integridad tiene una relación directa con la fertilidad, ya que éste contiene toda una carga antigénica y enzimática de activa participación en la fertilización del ovocito.
- 2) Anomalías de la pieza intermedia. El defecto más frecuente a este nivel es la pieza media distal doblada. Generalmente se originan en la cola del epidídimo.
- 3) Anomalías de la cola. Ocasionan alteraciones del movimiento celular. Estos espermatozoides no son fértiles.
- 4) Gotas citoplasmáticas. Pueden ser de localización proximal o distal y son indicadoras del grado de madurez del espermatozoide. La gota es el resto de la membrana que acompaña a la célula durante su formación en el testículo. A medida que la célula va madurando, la membrana se desplaza desde la cabeza a la cola. En consecuencia, las gotas proximales indican formas más inmaduras que las gotas distales.

Un porcentaje elevado de alteraciones morfológicas, junto a la presencia de contaminación bacteriana, favorece la aglutinación espermática. Por lo tanto, si nos encontramos en el laboratorio con una proporción incrementada de aglutinaciones, deberemos revisar los aspectos higiénicos en el manejo de los verracos y de la técnica de colección de semen. Para ser compatibles con un adecuado nivel de fertilidad, deberemos admitir como valor mínimo, que un 80% de los espermatozoides sean normales.

En la figura 16, se aprecian claramente la morfología de espermatozoides normales de verraco, destacándose la cabeza, el capuchón cefálico, la pieza intermedia y la cola. Las anomalías espermáticas más comunes, se muestran, de acuerdo con van Gemert, W., 1985, en la figura 17.

Figura 16: Espermatozoides normales de verraco. (van Gemert, W, 1985)

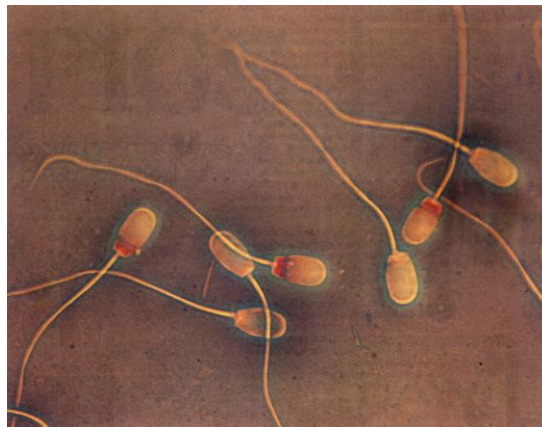


Figura 17: Anormalidades espermáticas más comunes. (van Gemert, W., 1985)

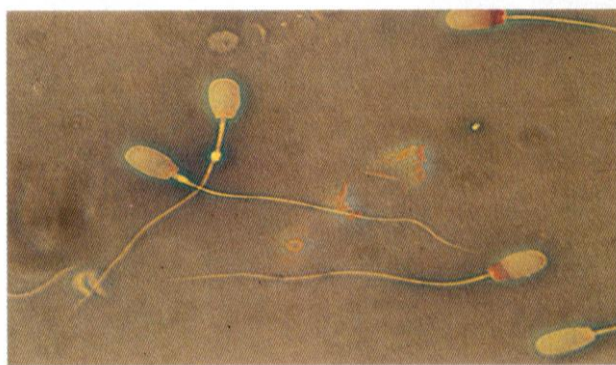
- prominencia en el borde del acrosoma



-pieza media distal doblada



- inmaduros con gota citoplasmática



- con dos cabezas y una cola



Concentración espermática. Es un parámetro muy variable, tanto en individuos de una misma raza como así también, entre verracos de diferentes razas. Depende de varios factores como: edad; frecuencia en la obtención del semen, es decir el régimen de extracciones a la que es sometido el verraco; época del año. La importancia de la concentración espermática radica en que de ésta depende, junto al **volumen del eyaculado**, el número total de zoides del eyaculado y este valor nos indicará la dilución a efectuar a dicho material seminal, de acuerdo al número de zoides que consideremos adecuado para cada dosis o unidad de inseminación.

Cuatro son los métodos utilizados para determinar la concentración espermática:

- a) **Espermiodensímetro de Karras.** La medición con el densímetro se basa en la turbidez de una suspensión de diferentes concentraciones de espermios, vistas en la escala del densímetro. Para una correcta lectura e interpretación de los valores, debemos recurrir a las instrucciones de operación dadas por el fabricante.
- b) **Contaje espermático en cámara cuentaglóbulos.** Este método es adecuado en cuanto a su exactitud, dado que se estima un error de $\pm 10\%$, dependiendo de la experiencia del laboratorista, pero la crítica que se le puede hacer a esta metodología, especialmente si son varias las lecturas que deben hacerse por día, es su desarrollo lento y tedioso.
- c) **Método fotométrico.** Basado en el porcentaje de luz que atraviesa un tubo transparente, conteniendo semen diluido. Esta dilución dependerá de las especificaciones dadas por el fabricante del espectrofotómetro a utilizar. A medida que aumenta el número de zoides por unidad de volumen, disminuye el porcentaje de luz transmitida, ya que la misma es desviada o absorbida por las partículas de la solución a investigar. Este porcentaje de transmitancia se verá reflejado en la escala que posee el aparato o en el display. El equipo deberá ser controlado o calibrado periódicamente, según Miles, P. y Allende, R., 1981, mediante valores logrados por contaje directo en cámara cuentaglóbulos o por tubos con soluciones testigo, que representan diferentes concentraciones espermáticas conocidas.
- d) **Determinación mediante sistema CASA** (Computer Assisted Sperm Analysis). Este sistema de análisis automático computarizado de espermios, realiza un recuento directo en la cámara utilizada por el equipo, haciéndolo sobre 10 campos microscópicos diferentes, que le otorgan una mayor exactitud al mismo. El sistema CASA otorga valores de recuento espermático ligeramente superiores, frente al espectrofotómetro debido a que la mayoría de éstos son calibrados por debajo del rango posible, con el fin que las mediciones realizadas otorguen cierto “margen de seguridad” de acuerdo a lo informado por Cibelli, J. 1990.

pH. No es un parámetro que se controle rutinariamente en el trabajo del laboratorio. La mayor parte de las muestras son levemente alcalinas, con una media de **7.4** (± 0.2)

Valoración objetiva del semen.

Es la realizada por medio del **Sistema C.A.S.A.** (Computer Assisted Sperm Analysis). En la evaluación a través de este sistema, el programa analiza 10 campos microscópicos diferentes y determina los siguientes parámetros:

1. Motilidad espermática total.
2. Motilidad progresiva.
3. Motilidad local.
4. Concentración espermática.
5. Morfología espermática (mediante un programa anexo).

Detalle de los parámetros de MOTILIDAD, de uso más frecuente que mide el C.A.S.A.

Distancia: tres alternativas de medición (en micrones).

1. DAP: distancia en camino promedio.
2. DCL: distancia en camino realmente recorrido.
3. DSL: distancia en línea recta (recta imaginaria entre punto inicial y final).

Velocidad: tres maneras diferentes de medirla (en micrones/segundo).

1. VAP: velocidad del zoide a lo largo del camino promedio.
2. VCL: velocidad del zoide a lo largo del camino realmente recorrido.
3. VSL: velocidad del zoide a lo largo de una recta imaginaria entre el punto inicial y final del recorrido.

Desvío de su trayectoria: movimiento de cabeceo del zoide (medido en micrones).

1. BCF: frecuencia de corte de la línea de trayectoria (frecuencia con que pega la cabeza espermática).
2. ALH: movimiento de amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza espermática.

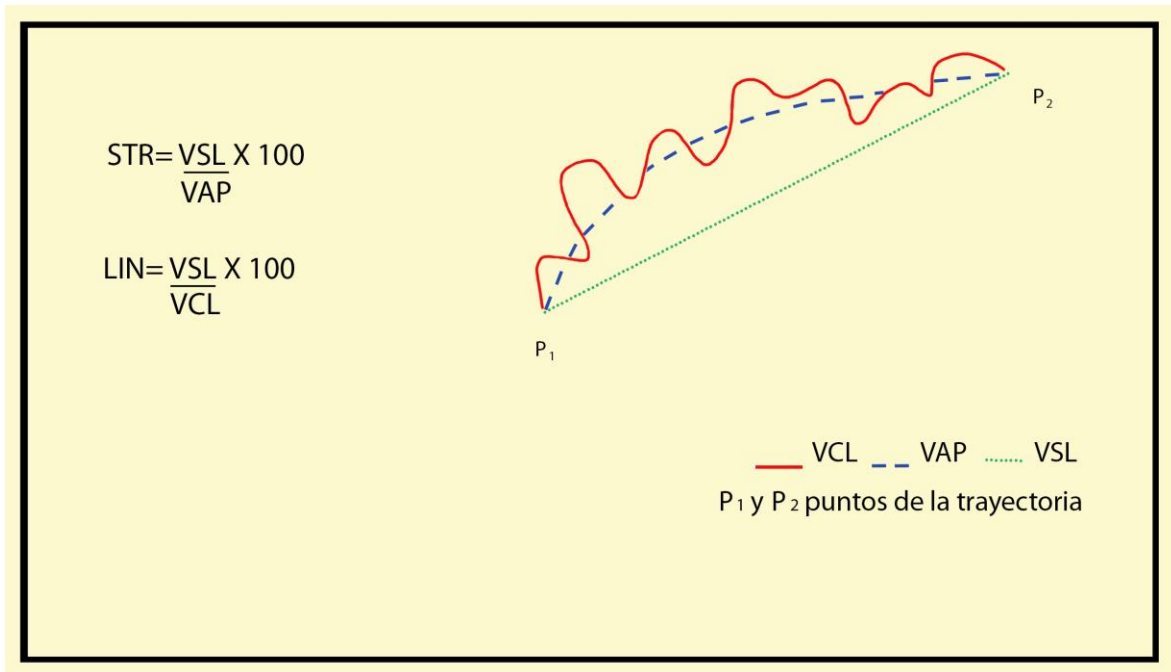
Dirección de la trayectoria espermática. Se mide a través de dos cocientes, según se indica en la figura 18, los cuales se describen seguidamente:

1. LIN (linealidad) = $VSL / VCL \times 100$. Es el desvío de la velocidad del camino real a la velocidad en línea recta, expresada en porcentaje.
2. STR (rectilineidad o rectitud) = $VSL / VAP \times 100$. Corresponde a la desviación de la velocidad promedio a la velocidad en línea recta, expresada en porcentaje.

Ambos (LIN y STR) relacionan la velocidad promedio (VAP) o la velocidad real (VCL) con la velocidad recorrida entre dos puntos (VSL). Nos permiten conocer cómo es la dirección del movimiento y ha sido correlacionado como un **factor que incrementa la tasa de fertilidad**, de acuerdo a lo informado por Brogliatti, G. y Col., 2005.

Según la categorización realizada, los parámetros VCL, ALH y BCF se consideran medidas que reflejan el vigor de los espermatozoides y los parámetros VSL, STR y LIN la progresividad de los mismos.

Figura 18: Razones entre las velocidades de los espermatozoides. (Adaptado de HTM-IVOS Software Guide, 2002)



Conclusiones:

Con herramientas de calificación más precisas, como las que brinda el Sistema C.A.S.A., se asegura:

- Un correcto cálculo de la dilución de cada eyaculado.
- El adecuado respeto a los valores umbrales.
- La calidad del material seminal producido, mediante controles posteriores, tanto sobre el semen fresco diluido, como sobre el semen criopreservado.
- El monitoreo, en forma rápida, del comportamiento de los padrillos del centro de IAP, a través del tiempo.

CAPITULO 4: PROCESAMIENTO DEL SEMEN

Existen las siguientes alternativas:

-Semen fresco: es una posibilidad que tienen los productores que se están por iniciar en ésta técnica, dado que permite lograr una aceptable tasa de concepción, como así también, un número normal de lechones en la camada. Es factible utilizar esta alternativa de manejo en los establecimientos que puedan adaptar simples instalaciones para recolectar el eyaculado. En la mayoría de los casos, no se observa el semen al microscopio y por consiguiente no se realiza ninguna evaluación sobre la calidad seminal. Sólo se efectúa el filtrado mediante una gasa, para eliminar la fracción gelatinosa, según se muestra en la figura 19, manteniendo el eyaculado por un breve periodo, dos horas como máximo, a la temperatura de 20°C hasta su utilización, Selk, G., 1990.

Figura 19: Fracción gelatinosa del eyaculado (tapioca).



El material seminal se fracciona en unidades de 80 a 100 cc., de acuerdo a la cantidad de cerdas que haya para inseminar, como máximo de dos a tres, o de cuatro a seis dosis, para los verracos jóvenes y adultos, respectivamente. La segunda inseminación se realiza al día siguiente con un eyaculado del mismo verraco o con semen de otros padrillos.

Estas son, algunas de las limitaciones que presenta el uso de semen fresco en la I.A.P.

1. El padrillo debe estar alojado en un lugar cercano de las hembras a inseminar.
2. Disponer de varias hembras en celo al mismo tiempo de la colecta del eyaculado, para lograr un óptimo uso del semen.
3. El eyaculado puede ser fraccionado en dosis de 80 a 100 ml, por lo que el número de dosis dependerá, directamente, del volumen del eyaculado.
4. Un mínimo de 2.000 millones de zoides móviles en un adecuado volumen de semen (80 a 100 ml), son requeridos para obtener una correcta tasa de concepción.
5. Por otra parte, reiteramos que el semen fresco debe ser utilizado dentro de las dos horas de obtenido el eyaculado.

-Semen diluido: la dilución y extensión del semen en un medio apropiado, su procesado y posterior almacenamiento a la temperatura adecuada, permite la conservación de dosis fértiles de semen porcino, por un período que dependerá del tipo de diluyente utilizado. Es en base a esta introducción, que queda perfectamente evidenciada la importancia de los diversos diluyentes utilizados en el procesado del semen. En la actualidad, contamos con numerosos medios dilutorios, diluyentes para semen “fresco”, de aplicación práctica y correcto comportamiento, quedando a criterio del responsable, la elección de uno de ellos.

Diluyentes: son soluciones utilizadas para aumentar el volumen del eyaculado, hasta lograr la concentración espermática adecuada que requiere la dosis, preservando las características funcionales de la célula espermática y manteniendo un correcto nivel de fertilidad durante el mayor tiempo posible. El diluyente debe: -controlar las variaciones de pH, -disminuir el desarrollo bacteriano, -mantener un adecuado equilibrio osmótico, -suplir los nutrientes necesarios para poder cubrir una alta demanda metabólica por parte del esperma, en su transporte a través del tracto genital femenino. Así, para poder mantener su actividad metabólica por un tiempo prolongado, el semen necesita ser diluido en un medio apropiado y disminuir la temperatura. El semen del verraco debe ser conservado a una temperatura de 15 – 20°C. Bajo estas condiciones los espermatozoides disminuyen su metabolismo y motilidad, características éstas que recuperan al ser incorporados al aparato genital de la hembra, en la inseminación artificial.

En el procesado del semen debemos tener en cuenta que el espermatozoide porcino es extremadamente sensible al “shock a frigore”, Pursel, V., y col., 1973.

No es objetivo de este trabajo, hacer un pormenorizado detalle de las innumerables fórmulas de diluyentes que se utilizan en el proceso de conservación del material seminal, pero sí vamos a enumerar los **requisitos que debe cumplir un diluyente:**

- a) **Favorecer el metabolismo del espermatozoide** incorporando elementos nutritivos. El espermatozoide puede producir la energía necesaria para mantener el metabolismo celular y la motilidad de su cola. La fuente de energía comúnmente utilizada en los diluyentes es la glucosa.
- b) **Presión osmótica (PO) isotónica con respecto al esperma y concentración electrolítica constante.** El esperma del verraco tiene una PO de 290-300 mOsm y puede tolerar amplios rangos de PO (240-380 mOsm). Varios autores han evaluado la tolerancia del espermatozoide a diferentes niveles de PO, y han concluido que ni la motilidad ni la viabilidad fueron afectadas en un rango de 250 a 290 mOsm (Fraser, L. y col., 2001). Sin embargo, a presiones por debajo de 200 mOsm, la motilidad es reducida en forma significativa (Gilmore, J. y Col., 1996). Las sales de Sodio o Potasio (como clorhidratos), son utilizadas para regular la PO.
- c) **El pH debe favorecer la conservación de la vitalidad espermática.** La motilidad y fertilidad del semen porcino es correctamente preservada en diluyentes que posean un pH de 6.8 a 7.2. El pH, promedio, del eyaculado es de 7.4. Cuando el pH es reducido, el metabolismo espermático y la motilidad son también reducidos. Se debe evitar o inhibir la acción de los catabolitos tóxicos, referidos al ácido láctico, fundamentalmente. Éste, es el principal catabolito en este proceso y puede ser utilizado como indicador de la calidad del semen (Rigau, T. y Col., 1996). Por lo tanto, la adición de soluciones buffers o tampones ayudan al control del pH del medio. El bicarbonato o citrato de sodio muestran una limitada capacidad buffer. Otros buffers más complejos (TES, HEPES, MOPS, TRIS), pueden controlar el pH sobre amplios rangos y no son temperatura dependientes según lo informado por Gadea, J., 2003.
- d) **Controlar el incremento de la población bacteriana con la adición de antibióticos al medio,** en una concentración suficiente para que éstos actúen como bacteriostáticos, evitando el desarrollo y multiplicación de bacterias. En la mayoría de los casos, el tejido testicular y las glándulas accesorias del verraco están libres de bacterias. Por lo tanto, Martín Rillo, S., y Col 1998, informan que la contaminación bacteriana del eyaculado ocurre durante el proceso de colecta del semen. Es necesario incorporar antibióticos al diluyente dado que sus componentes (básicamente la glucosa) y la temperatura a la que son mantenidas las dosis de semen (e/15-20°C) permiten el desarrollo bacteriano, principalmente de Gram negativas, incluyendo *Escherichia Coli* y variedad de especies de Salmonelas y Pseudomonas. El agregado de antibióticos en las concentraciones adecuadas, mejora la supervivencia espermática y, por consiguiente, mejora la fertilidad. Además, Almound, G. & Poolperm, P., 1996, consideran que el uso apropiado de antibióticos puede más aún representar un gran avance, si las condiciones de higiene en las cuales el semen es colectado y las dosis procesadas, fuesen también mejoradas.
Penicilina y estreptomycin fueron, inicialmente, la combinación de antibióticos más utilizada. Posteriormente han sido incorporados a los diluyentes otros antibióticos como gentamicina, neomicina, kanamicina, lincomicina y espectinomicina. Además, Gadea, J., 2003 informa que los

antibióticos (ceftiofur, apramicina, etc.) se han comenzado a usar pero todavía no se dispone de resultados definitivos.

e) **De fácil preparación.**

- f) **Económico.** Rouco, A. & Muñoz, A., 1998, consideran que la mayor parte del costo relacionado con la reproducción está asociado a los recursos humanos necesarios para el diagnóstico del celo, colecta del semen y la preparación y siembra de las dosis de semen, el diluyente representa una porción insignificante dentro del costo total de producción y está estimado en 1.9%.

Desde el comienzo de la I.A.P., aproximadamente durante seis años, Keller, M., 1975, menciona que se utilizó exclusivamente el diluyente compuesto por leche descremada, yema de huevo y glucosa, logrando muy buenos resultados de fertilidad, sin afectar negativamente el tamaño de la camada. También, indica que era utilizado en grandes volúmenes, alrededor de dos litros por eyaculado, y no resultaba sensible a las fluctuaciones de temperatura, dado que se utilizaba con oscilaciones entre 6° y 12°C. Su gran desventaja consistía en el corto período de conservación que no excedía las 24 horas. Posteriormente, los primeros diluyentes elaborados por los investigadores rusos, estaban basados en soluciones de glucosa, conteniendo además, sodio o tartrato de potasio o sulfato de sodio y peptonas. El IVT (Illinois Variable Temperature) fue modificado y adaptado al cerdo por Du Mesnil Du Buisson, F & Dauzier, L, 1959. Está basado en una solución de glucosa, sodio como citrato, bicarbonato y yema de huevo, pero necesita ser gaseado con CO₂, para una baja actividad metabólica. Una gran innovación, en 1960, fue la adición de EDTA al diluyente para bloquear la acción del ión calcio (Ca⁺⁺), que es el mediador de la capacitación espermática y de la reacción acrosomal. Es cuando el diluyente Kiev aparece en escena a mediados de 1965 y que luego fuera modificado bajo diferentes nombres (EDTA, MERCK I, PLISKO, GUELPH). Sin duda que podemos expresar, sin temor a equivocarnos, que el diluyente Kiev fue el responsable de la difusión de la IA en cerdos y hoy, todavía, sigue siendo utilizado con éxito.

Tipos de diluyentes. En la práctica, los diluyentes pueden ser divididos, de acuerdo a la duración del período de mantenimiento de la fertilidad en dos grandes grupos:

- a) **De corta duración:** 1-3 días.
- b) **De larga duración:** más de 4 días.

Existen diluyentes de semen porcino de diferentes proveedores en el mercado. La seguridad en la calidad de ellos, es un criterio importante para distinguir. Los diluyentes se deben destacar por su alta y, sobre todo, uniforme calidad, por lo que todas las partidas deberán ser sometidas a un riguroso control de calidad de los productos químicos utilizados y de la mezcla de ellos, en cuanto a pureza química y a las propiedades de conservación espermática. Internacionalmente se rigen según las normas de **GMP** (Good Manufacturing Practice), en todos los detalles de la producción. En el cuadro 7, se detallan el nombre y la composición de los diluyentes de semen de cerdo más empleados, de acuerdo a lo desarrollado por Gadea, J., 2003.

Cuadro7: Diluyentes de semen utilizados en la IA del cerdo: nombre y composición química. (Gadea, J., 2003)

Composición (en g/L)						
	IVT	Kiev	BTS	Reading	Modena	Androhep
Glucosa	3.0	60	37	11.5	25 (*)	26
Citrato de sodio	24.3	3.7	6.0	11.65	6.9	8.0
EDTA		3.7	1.25	2.35	2.25	2.4
Bicarbonato de sodio	2.4	1.2	1.25	1.75	1.0	1.2
Cloruro de potasio	0.4		0.75			
Acetilcisteina						9.0
HEPES						9.0
BSA					3.0	2.5
TRIS				5.5	5.65	
Citrato				4.1	2.0	
Cisteina				0.7	0.05	
Trehalosa				1.0		
PVA				1.0		
Acetato de potasio						
MOPS						
mOsm	290	380	330	300	282	309
pH		7.2	7.2		6.9	6.8

(*) Glucosa monohidratada

Referencias:

IVT : Du Mesnil Du Buisson & Dauzier, 1959.
 Kiev: Plisko, 1965.
 BTS: Pursel & Johnson, 1975
 Reading: Revell & Gossop, 1989
 Modena: Moretti, 1981; Androhep: Weitze, 1990

La elección del diluyente y su manejo adecuado son de crucial importancia para lograr una correcta eficiencia reproductiva, dado el profundo impacto económico que pueden ocasionar en las granjas que lo utilizan. Además, se debe considerar que si el semen es utilizado antes de las 72 hs., es preferible usar un diluyente de corta duración, dado que es más económico y tendremos la misma respuesta, en fertilidad, que con un diluyente de larga duración. Cuando las dosis de semen deben ser conservadas por más de 4 días, dado las largas distancias entre la granjas y el Centro de I.A.P., o cuando se deben realizar test de control de enfermedades antes de su uso, o análisis muy detallados de calidad seminal, se recomienda el uso de un diluyente de larga duración, acompañado de una concentración espermática mayor, que compense la probable reducción de la viabilidad espermática, Gadea, J., 2003.

A modo de ejemplo citamos los diluyentes elegidos por dos Centros de I.A.P. de Francia e Inglaterra con las correspondientes metodologías de uso:

-El Centro de Rouillé, pertenece al I.N.R.A., único en Europa que trabaja en investigación y servicio de I.A. a campo, ha preferido el Guelph, sobre el BL1, dado que no tiene caída de fertilidad a las 96-120 horas posteriores a su procesamiento. La composición química de ambos diluyentes se detallan en el cuadro 8.

Cuadro 8: Composición química de los diluyentes BL1 y Guelph, para la conservación de semen de verraco a 15°C, utilizados por el Centro de I.A.P. de Rouillé del INRA

Producto (1)	BL1	Guelph
Glucosa	29 g	60 g
Citrato de sodio (2)	10 g	4,4 g
Bicarbonato de sodio	2 g	1,2 g
Cloruro de potasio	0,3 g	-
E.D.T.A. (3)	-	3,7 g
Estreptomina	1 g	1 g
Penicilina	1 x 10 (6) UI	1 x 10 (6) UI

- (1) Los productos son disueltos en agua destilada, el volumen final será de un litro
- (2) Citrato de sodio 2 H₂O para BL1 y 5,5 H₂O para Guelph
- (3) Acido etilen diamino tetraacético, sal disódica

Pesan los constituyentes sólidos cada 15 días, no se debe utilizar más allá de éste período y se guardan en recipientes plásticos bien cerrados, al abrigo de la luz. La dilución se hace con agua bidestilada, el diluyente preparado no debe durar más de 48 horas conservado en refrigeradoras programadas a 15°C, pero advierten que es preferible prepararlo todos los días de extracción de semen. En un vaso de precipitado se hace la dilución, con 3 x 10⁹ espermatozoides/dosis, se fracciona en recipientes plásticos de 100cc, quedando sobre una mesa a 21°C, la temperatura del laboratorio. El semen se distribuye en cajas de poliestireno expandido, acondicionadas con algodón y ácido acético glacial, cuando la temperatura es elevada.

-El Royston Pig Improvement Centre, de la empresa The Walls Meat Co Ltd, es un Centro de I.A.P. comercial, ubicado a 10km de Cambridge, seleccionó el diluyente SCK.7, saturado durante media hora con anhídrido carbónico. La saturación con Dióxido de Carbono (CO₂) se realiza mediante una bomba, que presenta en un extremo una válvula bifurcada, donde se acoplan dos pipetas que terminan en forma de bulbo de 3cm de diámetro, las que se ubican dentro de un erlenmeyer que contiene el diluyente. Este medio dilutorio, saturado durante media hora con CO₂, se envasa en frascos de 25cc e inmediatamente, por medio de una jeringa automática se introduce el semen. Luego se gasifica con CO₂, hasta formar espuma, y se cierra con tapa a rosca. En la figura 20 se puede observar lo detallado precedentemente, en lo que respecta a los elementos utilizados para la saturación con CO₂ del diluyente SCK.7 y del semen diluido. El material seminal envasado queda a temperatura de laboratorio y se embala en cajas de poliestireno expandido, juntamente con recipientes plásticos que contienen 40cc de diluyente SCK.7 sin gasificar. El contenido de ambos envases, el semen con el SCK.7 saturado con CO₂ y el SCK.7 sin saturar, se mezclaran inmediatamente antes de realizar la I.A. El semen puede ser utilizado hasta el quinto día posterior a su procesamiento.

Figura 20: Elementos utilizados para saturar con CO₂ al diluyente SCK7 y al semen diluido en el Royston Pig Improvement Center.



Dilución del semen eyaculado.

Esta dilución se realiza con la finalidad de favorecer la conservación del semen e incrementar el volumen del eyaculado, con la adición de un medio dilutorio adecuado y de esa forma poder disponer de la cantidad de dosis que nos permita obtener el material seminal diluido, el que estará en una relación directa entre el volumen del eyaculado, la concentración espermática del mismo y el número de zoides, con motilidad progresiva, que consideremos adecuado debe contener cada dosis a inseminar, para que no se vea afectada la fertilidad.

La cantidad de espermatozoides por dosis, dependerá del manejo individual y del número de cerdas a inseminar. Por lo general se procesan las dosis para: -siembra convencional intracervical con una concentración espermática de 2.000 a 5.000 millones y el volumen de las mismas debiera ser de 80 100 ml; -siembra intrauterina, en el cuerpo del útero, con 1500 millones de espermatozoides totales en 50ml por unidad.

Du Mesnil Du Buisson, F. y col., 1978, informan que en promedio un verraco produce anualmente 1.000 dosis de semen refrigerado.

Gabosi, H., 2017, indica que la producción por año de un cerdo adulto con el uso del CASA está alrededor de las 1.350 dosis anuales y considera que podría ser mayor dado que este sistema de evaluación computarizada rechaza más eyaculados que con los métodos convencionales.

Después de la colecta, una vez que ha sido filtrado y valorado, el semen eyaculado deberá ser diluido dentro de los 10-15 minutos, aproximadamente, dado que posteriormente, su viabilidad decrece, máxime si presenta una concentración espermática con valores altos para la especie. De no lograrse completar la evaluación y los cálculos de la dilución dentro del plazo mencionado, se deberá realizar una pre-dilución de 1:1 (volumen total del eyaculado e igual volumen de diluyente), descontando posteriormente, del cálculo del volumen final, el volumen de pre-diluyente incorporado.

Durante el lapso requerido para la evaluación del eyaculado (% de motilidad progresiva y concentración espermática) y el cálculo de las dosis, tanto el semen eyaculado como el diluyente a ser utilizado en la dilución, deberán ser mantenidos a la misma temperatura, preferentemente entre 32°C y 35°C, en un baño María o gabinete/estufa regulado a esa temperatura, debido a que los cambios de temperatura afectan la calidad del semen y por lo tanto, la fertilidad de las dosis a ser procesadas. De acuerdo al tamaño de los Centros de I.A.P., existen contenedores de acero inoxidable, con doble pared, y sistema de calefacción controlado, para mantener constante la temperatura del diluyente en volúmenes de 20, 100 y 200 litros, según se puede observar en la figura 21. Además, según los modelos, poseen balanza integrada, que permite medir la cantidad del diluyente remanente, una válvula de control para llenado automático, unidad magnética de agitación integrada y barra mezcladora. También, tienen la opción de utilizar bolsas desechables de fondo redondo que posibilitan mantener un standard máximo de higiene. El modelo HyVat tiene una unidad de radiación UV-C para desinfectar el interior del contenedor, función SmartDispenser para obtener la mayor precisión volumétrica en la dilución del semen y conexión con el software IDEE que automatiza el análisis de los eyaculados, que incluyen recolección, dilución y envasado. .

Figura 21: Tanques de calentamiento para diluyente fabricados por Minitube, Tiefenbach, Alemania

-Modelo HyVat, capacidad 100 litros, con pantalla táctil para programar la temperatura y cantidad de agua



-Tanque de 200 litros con agitador y una balanza integrada para medir la cantidad de diluyente



-Tanque de calentamiento de 20 litros, con dos orificios en la tapa para conectar con una bomba dosificadora o el SmartDispenser



Para reducir los riesgos del shock osmótico sobre el espermatozoide, Levis, D, 2004 sugiere que siempre se debe agregar el diluyente dentro del envase que contiene el semen.

El agregado en forma directa y violenta del diluyente sobre el eyaculado, puede producir alteraciones irreversibles a nivel de la estructura espermática, que afecten la calidad del semen.

La incorporación del diluyente al semen eyaculado, se puede realizar artesanalmente, de acuerdo a lo observado en la figura 22 en forma lenta y gradual, haciéndolo por las paredes de la probeta o envase que lo contiene. También de manera automática y computarizada, a través del SmartDispenser desarrollado por Minitüb, compuesto por una unidad electrónica de control y una balanza con una bomba conectada al tanque de calentamiento. En la figura 23 se puede observar a la unidad completa, con la bomba dosificadora controlada electrónicamente, para enviar la cantidad precalculada de diluyente al cilindro dosificador.

Figura 22: Dilución artesanal del semen deslizando el diluyente por las paredes de la probeta



Figura 23: Dilución del material seminal con el SmartDispenser desarrollado por Minitüb, Tiefenbach, Alemania



Unos minutos después de realizada la dilución, se debe efectuar una valoración microscópica final del porcentaje de motilidad progresiva (% MP), debiendo descartarse los eyaculados con tasas de MP menores al 70%. El uso de dosis de semen por debajo de esos valores de MP incrementará los porcentajes de baja fertilidad en los servicios de IA.

Actualmente, en varios Centros de I.A.P, se utilizan materiales plásticos de un solo uso, evitando la limpieza y esterilización, con el consiguiente ahorro de tiempo. A modo de ejemplo, el vaso de precipitados de vidrio, cubierto con una gasa, para recolectar y filtrar el semen, además del erlenmeyer, recipiente de vidrio que contiene el diluyente y la probeta donde se realiza la dilución del eyaculado, se reemplazaron por un recipiente plástico, un filtro de celulosa y una bolsa plástica, según se aprecia en la figura 24. La bolsa de plástico inocuo para el semen, con una capacidad de 3,5 a 5,5 litros, posee una línea perforada que permite desprender el filtro de celulosa después de su uso. El eyaculado, sin la fracción gelatinosa, es diluido en la bolsa, a ésta se le agrega una boquilla dispensadora, se la cuelga en un soporte, se corta el pitón dispensador y se fracciona en los recipientes o tubos plásticos.

Figura 24: Sistema Blue Bag, para la recolección, filtración, dilución y fraccionamiento del semen porcino. (Minitube, Tiefenbach, Alemania)



Fraccionamiento y conservación del semen

El material seminal diluido, se puede fraccionar en forma artesanal o industrial, empleando módulos de diferente complejidad para realizarlo de manera manual, utilizando un cilindro dosificador, semi automática y de manera más sofisticada con un sistema de llenado automático y computarizado, según se muestra en las figuras 25, 26, 27, 28 y 29. Se envasa en recipientes plásticos descartables, botellas o tubos, sellados en su base por una soldadura eléctrica o ultrasonido, cuyo volumen varía de 50 a 100cc, según se emplee la siembra intrauterina o intracervical, respectivamente. Las envasadoras automáticas permiten su manejo en una PC, con teclado en pantalla táctil, e intercambio de datos entre el software de laboratorio IDEE y el sistema de envasado. Tienen etiquetado automático, con impresión por transferencia térmica con posibilidad de código de barras y logo del Centro de I.A.P.

Figura 25: Envasado artesanal, en recipientes plásticos de 100 cc, del material seminal diluido



Figura 26: Cilindro dosificador del semen para el envasado manual. (Minitüb, Tiefenbach-Alemania).



Figura 27: Envasado manual del eyaculado con el cilindro dosificador. (Minitüb, Tiefenbach-Alemania)



Figura 28: Máquina para el envasado semi-automático del semen diluido, con un rendimiento de 600 dosis/hora (Minitüb, Tiefenbach-Alemania).



Figura 29: Modelos Hypacker y Twinpacker para el envasado automático y computarizado. Minitüb, Tiefenbach-Alemania

-Hypacker con doble estación de envasado permite procesar 1800 dosis/hora



-Twinpacker con capacidad de envasar 550 dosis/hora

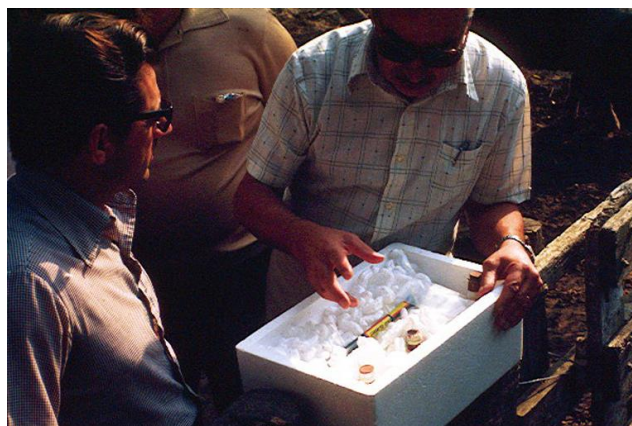


Una vez fraccionado en las dosis correspondientes, debe conservarse a una temperatura entre 15°C a 20°C. A esta temperatura, el metabolismo espermático y el consumo de nutrientes se reduce, así como contribuye también, a frenar el crecimiento bacteriano. El semen es extremadamente sensible a los cambios bruscos de temperatura. Es fundamental controlar las fluctuaciones de temperatura más que ésta en si misma. Aún el mantenimiento a 20°C, en forma constante, permite conservar significativamente mejor la viabilidad y el

poder fecundante del semen, que a 17°C con fluctuaciones permanentes entre 15 y 20°C, Flowers, W,1998, citado por Decuadro-Hansen, G, 1999. Las temperaturas de conservación superiores a 20°C, reducen el período de viabilidad dado que no disminuyen el metabolismo espermático y la multiplicación bacteriana. En cambio, la conservación inferior a 14°C afectan la membrana plasmática de los zoides y por consiguiente el poder fecundante. Por otra parte, la velocidad de enfriamiento desde los 32°C /35°C, en que se encontraba el semen recientemente diluido, a los 15° / 20°C, debe ser lenta y gradual y no durar menos de 2 horas. Las dosis deben conservarse en anaerobiosis, por lo que no se debe dejar en los envases un espacio de aire mayor al 20% de su volumen de acuerdo a lo informado por Williams, S. 2005.

Utilizando diluyentes de corta duración el período de almacenamiento puede alcanzar las 72 hs. Con diluyentes de larga duración, el tiempo de conservación puede prolongarse hasta los 7 días. Es importante proceder a homogeneizar dos veces al día las dosis almacenadas dado que el semen sedimenta y se pueden dañar los espermatozoides. El material seminal se envía al campo, como se muestra en la figura 30, en cajas de poliestireno expandido acondicionadas, con ácido acético glacial y trozos de material térmico descartable, para llenar los espacios vacíos y lograr un mejor control de la temperatura, que permiten conservarlo entre 15 a 22 °C de 3 a 7 días, posteriores a su extracción y procesamiento, según el diluyente utilizado.

Figura 30: Caja de poliestireno expandido, acondicionada para el envío del semen.



En el establecimiento debe ser mantenido dentro de la caja conservadora en una habitación al abrigo del frío, del calor y de los rayos solares, como se indica en la figura 31. Nunca se debe colocar el semen dentro de una heladera, pues las bajas temperaturas anulan el poder fecundante. Se recomienda abrir la caja únicamente cuando se deba extraer el semen para su utilización. Lo más adecuado es llevar a la manga, donde se realiza la inseminación, sólo las dosis necesarias en otra caja similar al que se recibe el material seminal desde el Centro de I.A.P. o del lugar donde se realice el procesamiento del mismo en la granja. **Es fundamental que el semen siempre este protegido de la temperatura ambiente y las radiaciones solares.** En verano se debe colocar en el interior de la conservadora un recipiente hermético con ácido acético glacial a 15 °C para evitar ascensos de temperatura que dañen el material seminal. El recipiente deberá ser renovado tan pronto como el ácido acético glacial pase al estado líquido.

Figura 31: Conservación del semen en la granja, dentro de una caja de poliestireno expandido, colocada sobre un estante de un armario ubicado en el interior de una habitación.



Además, en el mercado existen neveras, de 12V, ajustables a 15-17°C e indicador digital de temperatura que permiten almacenar, según su tamaño, hasta 100 tubos o botellas plásticas. Las de 40, 18 y 8 litros de capacidad pueden conservar 100, 70 y 24 tubos o botellas, respectivamente. Para el almacenamiento, en los Centros de I.A.P, del semen diluido y envasado, existen cámaras climáticas graduadas a 15-17°C con display digital, que permiten conservar, según su tamaño, 300 o 700 dosis por unidad. Las distintas alternativas comerciales mencionadas, para el envío del material seminal y el almacenamiento en la granja o en el laboratorio del Centro de I.A.P, se muestran en las figuras 32 y 33.

Figura 32: Neveras de 12 voltios, con indicador digital de temperatura, ajustables a 15°-17°C.
(Minitüb, Tiefenbach-Alemania)



Figura 33: Cámaras climáticas graduadas a 15°-17°C con display digital para almacenar 300 o 700 dosis. (Minitüb, Tiefenbach-Alemania)



-Semen criopreservado: La IAP con semen congelado, mediante la técnica de criopreservación, sólo se utiliza con fines experimentales, para intercambio de material genético entre países y la conservación de germoplasma de altísimo mérito genético, dado que se reduce significativamente las dosis procesadas, la fertilidad y el tamaño de la camada, Iritani, A., 1980; Williams, S., 2005; De Alba, C., 2016a.

Bonet, S., y col., 2009, indican que en el transcurso del congelamiento y descongelación, los zoides del porcino presentan cambios en la concentración y distribución de transportadores de glucosa, como el GLUT-3, en su membrana celular. Su disminución, en el proceso de criopreservación y descongelamiento del material seminal, explica la corta viabilidad, alrededor de cuatro horas, de los espermatozoides descongelados del cerdo. Informan, además que todavía no se ha podido resolver, con éxito, la criopreservación de semen del verraco, pues la membrana plasmática del espermatozoide porcino tiene menor resistencia al proceso de congelación-descongelación debido a su mayor concentración de fosfolípidos insaturados.

Si bien el glicerol es efectivo para mantener la motilidad espermática posterior al descongelado, es perjudicial para la fertilidad, pues produce daños irreversibles a nivel de la morfología espermática. Los trabajos de investigación, realizados al respecto por Pursel, V., y col. 1978; Pursel, V., 1979, demostraron significativas diferencias, al comparar la cantidad e integridad estructural de los espermatozoides recuperados en diferentes segmentos del aparato genital tubular de las hembras inseminadas con semen fresco o congelado. Las conclusiones a las que arribaron este grupo de investigadores del Agricultural Research Center de Beltsville, Maryland, fueron:

- es muy marcada la reducción de la viabilidad espermática del semen congelado, comparado con el fresco o diluido, en el útero, unión útero-tubárica y oviducto;

- la cantidad de espermatozoides recuperados, en el útero y en la unión útero-tubárica, a las 2, 8, y 24 horas posteriores a la I.A, fue significativamente mayor ($P < 0,005$) en las cachorras inseminadas con semen fresco

- en el oviducto no hubo diferencias significativas en el número de gametas encontradas, a las dos y ocho horas, sin embargo a las 24 horas fue marcadamente menor la cantidad de células espermáticas en las inseminadas con semen congelado

- en las cerdas inseminadas con semen fresco el porcentaje de espermatozoides motiles y con acrosomas intactos fue significativamente mayor en todos los segmentos del aparato genital tubular ($P < 0,005$) -se observó una tendencia cada vez más alta en el porcentaje de zoides, con acrosomas intactos, a medida que éstos progresaban cranealmente en los distintos segmentos del aparato genital tubular, lo que indicaría una selección importante en la unión útero-tubárica

- el número de leucocitos polimorfonucleares (L.P.N.) fue similar para las cachorras inseminadas con semen fresco o congelado ($P > 0,10$)

- la fagocitosis espermática ocurrió a las dos horas de la I.A, lo que indicaría que este fenómeno no sería la responsable de la eliminación preferencial del semen congelado en las primeras horas después de la I.A.

Du Mesnil Du Buisson, F., y col.,1978; Sanchez Sanchez, R., 2007, hacen una síntesis muy ilustrativa, de la secuencia histórica, mencionando los trabajos realizados por diferentes investigadores para lograr la obtención de óvulos fecundados mediante el empleo de semen congelado, a los que agrupa en el siguiente orden cronológico:

-en las décadas del 50 y 60 la viabilidad del material seminal descongelado era muy pobre lo que imposibilitó la obtención de lechones en las cerdas inseminadas

-en 1970, Polge y col. lograron la primer camada depositando, el semen descongelado, en el oviducto por vía quirúrgica

-en 1971, tres grupos de investigadores consiguen fecundar cerdas con semen congelado en pellets con una concentración de células espermáticas de 3-5x10⁹, realizando el descongelamiento en un diluyente templado a 40-50°C , con un volumen final de 50-100ml, y empleando la técnica de siembra convencional intracervical:

.Grahan y col.

.Pursel y Johnson

.Crabo y Einarson

-en 1972, Sarmiento, de la Estación Pecuaria de Murcia, publica, en el VII Congreso Internacional de Reproducción Animal e I.A., los resultados de fertilidad obtenidos con semen congelado en pajuelas

-en 1975, Pursel y Johnson de Estados Unidos, con pellets, y Westendorf y col. de Alemania , con pajuelas de 5ml, son en ambos casos la base de las metodologías empleadas posteriormente y hasta la actualidad.

Metodologías de congelamiento y descongelado del semen

-Protocolos convencionales para congelar y descongelar el material seminal:

Pellets: esta técnica fue desarrollada por Paquignon, M., 1980, en la Estación de Fisiología de la Reproducción del INRA, en Nouzilly, Tours, Francia. Luego de evaluar al microscopio la calidad del eyaculado, se mide la concentración espermática, se divide el eyaculado en fracciones de 11000 millones de espermatozoides y se centrifuga a 900G a 25°C durante quince minutos. El plasma seminal se elimina, en la parte inferior de cada tubo, luego del centrifugado, queda 1cc con los zoides, a los que se le agregan 9cc de diluyente no glicerolado, mezclar con una pajuela, bajar la temperatura a 15°C, en media hora y se lo mantiene en un refrigerador regulado a esa temperatura durante cuatro horas. Posteriormente se le agrega 9cc de la fracción glicerolada ,4% de glicerol final, se desciende la temperatura a 4°C durante un período de una hora y se congela en pellets de 0,1cc. El semen congelado, una dosis equivale a 200 pellets, se envasa por unidad de siembra en tubos plásticos hexagonales tapados con algodón. Los componentes del diluyente para congelar el semen se indican en el cuadro 9

Cuadro 9: Componentes para congelar el semen con la técnica de Paquignon

Producto	Cantidad/100cc	Cantidad/150cc
Yema de huevo	22,5cc	33,75cc
Glucosa	5,67g	8,5g
Glicerol	4,4cc	6,6cc

La metodología de descongelamiento consiste en colocar en un vaso de precipitado 80cc del diluyente de descongelación, a 55°C, cuyos componentes se detallan en el cuadro 10. Inmediatamente se colocan 200 pellets, lo que hace descender la temperatura a 30°C. Cuando el semen se ha descongelado totalmente, se lo coloca en los recipientes plásticos para semen fresco y se insemina no más de diez minutos transcurridos de finalizado el descongelamiento del material seminal. Recomiendan inseminar quince horas antes de la ovulación, pero es preferible realizar dos siembras a las 12 y 24 horas de detectado el celo.

Cuadro 10: Diluyente para descongelar el semen congelado con la técnica de Paquignon

Producto	Cantidad
Citrato trisódico 2H ₂ O	19,98 g
Glucosa	3,00 g
Sulfamida	3,00 g
Bicarbonato de sodio	2,10 g
Cloruro de potasio	0,40 g
EDTA	3,70 g
PenicilinaG	1 x 10 (6) UI
Estreptomina	1,00 g
Agua	1.000 cc

Pellets-Pajuelas:

-Método de Richter y Liedecke: éste protocolo de congelación descrito por Simmet, C., 1991, se puede emplear para el congelamiento en pellets de 0,05cc, pajuelas de 5cc “macrotubos”, pajuelas de 0,5cc “miditubos”, o pajuelas de 0,25cc “minitubos”.

Se utiliza para la congelación, sólo la fracción espermática del eyaculado, (5-6 x 10(9) espermatozoides por dosis, la cual se diluye 1:2, a 38°C, con el “Prediluyente Hulsenberg”, el que se satura inmediatamente antes de usarlo, con gas de CO₂, insuflado durante cinco minutos, para inactivar los espermatozoides.

El eyaculado diluido se coloca en tubos de centrifuga a baño María (BM) con 15°C, durante seis horas. Los espermatozoides inactivados decantan en el fondo del tubo, se centrifuga el semen prediluido durante ocho minutos a 1700 rpm, manteniendo la temperatura a 15°C.

El líquido seminal sobrenadante contiene una cantidad suficiente de espermatozoides para utilizarlo como semen diluido. El sedimento se diluye con el diluyente “Hulsenberg” 1:1,5 y se desciende la temperatura a 5°C, en un lapso de una hora.

A continuación se congela sobre una superficie de hielo seco, si es en pellets, con un contenido o volumen de 0,05cc, por dosis, o sobre vapores de nitrógeno líquido, si es en pajuelas, con una tasa de enfriamiento de 16°C por minuto. Investigaciones más recientes indican que se logran mejores resultados cuando a las pajuelas se les realiza un “Seeding” a -4°C. La formación de hielo de manera espontánea, cuando la temperatura alcanza los -15°C en la solución de congelación, produce un aumento brusco de temperatura denominado “calor latente de fusión”. Para evitar este fenómeno, perjudicial para el espermatozoide y/o el embrión, se induce la formación artificial de cristales de hielo. Esta maniobra, denominada “Seeding”, se realiza entre los -4 y -7°C, tocando la pajuela con una pinza enfriada a -196°C o de manera automática en equipos programables de congelado de embriones o semen.

Si no se realiza el “Seeding”, el medio permanece líquido y no hay deshidratación de la célula, dado que recién la cristalización espontánea se produce entre los -15 / -17°C.

Los pellets se colocan 100 unidades, equivale a una dosis, en frascos plásticos y se conservan en nitrógeno líquido. Para descongelar los pellets, se colocan 100 unidades en un recipiente que contiene 80cc de la solución descongeladora “Hulsenberg” a 40°C, lo que hace descender la temperatura a 20°C y se completa a 100cc con la misma solución pero a 20°C. Cien pellets equivalen a una, diez y veinte macro, midi y minitubos, respectivamente.

Las pajuelas de 5cc se descongelan a 50°C en BM por un lapso de 50 segundos; las de 0,5cc y 0,25cc a 35°C durante medio minuto. Luego de descongeladas, se diluye el material seminal con la misma metodología utilizada con los pellets, hasta completar un volumen final de 100cc. Los componentes de los distintos tipos de diluyentes “Hulsenberg”: Solución Madre, Prediluyente y Solución Descongeladora se detallan en el cuadro 11

Cuadro 11: Cantidad y componentes de los distintos tipos de diluyentes Hulsenberg. (Simmet, C., 2001)

Solución Madre “Hulsenberg”		Prediluyente “Hulsenberg”- Solución Descongeladora	
<i>Cantidad</i>	<i>Componente</i>	<i>Cantidad</i>	<i>Componente</i>
. 6,000g	Glucosa	. 100cc	Solución Madre
. 0,600g	Citrato de sodio x 2H ₂ O	. 10-15cc	NaOH (pH 4-6,6)
. 0.050g	Cloruro de potasio	-	Diluyente “Hulsenberg”
. 0.080g	CO ₃ HNa	. 90cc	Solución Madre
. 0,150g	EDTA Na ₂	. 10cc	Agua bidestilada
. 0.080g	Sulfonamida	. 8g	Leche descremada en polvo
. 0,085g	Sulfato de estreptomina	. 18cc	Yema de huevo
. 85000UI	Penicilina sódica	. 5cc	Glicerina
. ad 100cc	Agua bidestilada		

-Protocolos modernos para congelar y descongelar el material seminal:

Como se indicó con anterioridad, en base a los trabajos de Pursel, V. y col., 1973:

-la integridad de la membrana plasmática es de crucial importancia para el funcionamiento de la célula espermática

-el congelamiento y un mal manejo de la técnica de descongelamiento pueden producir daños irreparables en la morfología del espermatozoide y por consiguiente una disminución significativa de la fertilidad

-una gran cantidad de espermatozoides son eliminados al exterior, o mueren en las vías genitales de la hembra, aun los normales y sobre todo los que presentan daños en su membrana celular, como ocurre en las células espermáticas que han sido sometidas al congelamiento para su conservación

-sólo una pequeña fracción de espermatozoides alcanza el oviducto y mantiene su capacidad fecundante por 24 horas.

Gordon, I., 2004., y Roca, J. y col., 2006, mencionan que el uso de semen descongelado, con una alta concentración de células espermáticas, de 5000 a 6000 millones, en 80 a 100ml de diluyente, implica con la técnica convencional intracervical, un insuficiente reservorio espermático en el oviducto, logrando, como consecuencia tasas de concepción significativamente inferiores a las obtenidas con semen refrigerado. Por lo tanto, dada la extrema sensibilidad de las células espermáticas del verraco a las bajas temperaturas, la criopreservación del material seminal en esta especie, no ha tenido la difusión masiva que se ha logrado en el bovino y no es una opción comercial adecuada para los programas de mejoramiento genético.

No obstante, Roca y col., 2006, mencionan que se han hecho progresos importantes en lo que respecta a:

-las tasas de congelamiento y descongelamiento ajustadas a las propiedades biofísicas del semen para lograr un porcentaje de sobre vivencia del 50%

-programas de selección de verracos, implementados en los Centros de I.A.P., por el potencial de la capacidad de sobre vivencia del semen al congelamiento

-la siembra intrauterina con semen descongelado de verracos seleccionados, ha incrementado los valores de tasa de parición y tamaño de la camada

-los mejores resultados se logran, mediante la inseminación intrauterina profunda (I.U.P.), con un volumen mínimo de 0,5 a 10cc y una cantidad de espermatozoides de 0,5-1 x 10⁹, depositando el material seminal en el tercio anterior de uno de los cuernos.

-sin embargo, dado el corto período de vida de los zoides, sometidos al proceso de congelado y descongelamiento, se requiere como condición indispensable, para lograr altos niveles de fertilidad, un intervalo no mayor de cuatro a seis horas entre la ovulación y la siembra.

Además, se ha avanzado con en el agregado de aditivos a los medios de criopreservación para:

- proteger a los espermatozoides del daño por oxidación
- reducir la presencia de los L.P.N. en el útero, posterior a la I.A., con la consiguiente disminución de la fagocitosis espermática
- reducir las pérdidas de acrosomas
- prevenir la espontánea reacción acrosomal.

En relación a los aditivos incorporados, por diferentes grupos de investigadores, a los diluyentes convencionales se detallan:

1- plasma seminal:

Okasaki, T. y Shimada, M., 2012, han comprobado que algunos componentes del plasma seminal, tienen un efecto negativo sobre la capacidad de congelamiento del semen de verraco. Mencionan, entre otros factores, a la endotoxina lipopolisacáridasa liberada por una bacteria, que se une a un receptor sobre la membrana plasmática del espermatozoide, denominado TLR-4 dando por resultado una inducción a la apoptosis, muerte celular programada por el mismo organismo o “suicidio celular”. No obstante, informan que el plasma seminal tiene propiedades anti-oxidantes e inhibe la crío-capacitación inducida por el stress del descongelamiento. Este efecto puede obedecer, a que el plasma seminal posee las acciones anti-oxidantes necesarias para el mantenimiento de la integridad estructural de la membrana plasmática y del ADN.

El procesamiento de criopreservación del semen, está relacionado con el estrés por oxidación inducido por la producción de agentes oxidantes que ocasionan:

- la peroxidación de los lípidos con el consiguiente daño a la membrana celular y al acrosoma
- la pérdida de la estructura nucleoproteica y la fragmentación del ADN.

Okasaki, T. y col., 2009, informan que el plasma seminal removido por centrifugación, no afecta significativamente la motilidad espermática posterior al descongelamiento, en los verracos con buena capacidad para congelar. Por el contrario, en los de pobre aptitud para el congelamiento del semen, el agregado de plasma seminal, al diluyente para congelar, aumenta el porcentaje de motilidad al compararlo con el lote de verracos testigo ($64,5 \pm 3.4$ vs $30,9 \pm 3.1$, $P < 0,01$). En los zoides, congelados sin plasma seminal, observaron, en relación al grupo control, un incremento notable en las pérdidas de acrosomas ($37,5 \pm 1.6$ vs $18,4 \pm 2,8$, $P < 0,01$) y en la expresión de la proteína 15 KDa tirosina-fosforilada, marcador de capacitación. Con la adición de 10% de plasma seminal a la solución de descongelamiento, comprobaron que se suprimen significativamente ambos cambios y que también es significativo el aumento en la tasa de concepción 70% vs 9% en el grupo testigo, $P < 0,05$. Concluyen, que con el agregado de plasma seminal, a los diluyentes de congelación y descongelamiento, se incrementa la fertilidad del semen congelado, particularmente en los verracos con baja capacidad para congelar, dado que se mejora la viabilidad espermática, la integridad del acrosoma y el mantenimiento de la estructura núcleo proteica del ADN.

Bonet, S., y col., 2009, indican que es posible evaluar la calidad del plasma seminal, a través de marcadores de funcionalidad de las glándulas sexuales accesorias y del epidídimo. Las vesículas seminales, por fructosa y prostaglandinas; la próstata, por ácido cítrico, calcio y zinc; el epidídimo por la alfa-glucosidasa. Además, informan que el proceso de maduración espermática, a lo largo de la cabeza, cuerpo y cola del epidídimo, pueden evaluarse, en el plasma seminal, a través de algunos metabolitos como carnitina, glutamato e inositol. Informan, que a través de la cuantificación de estos metabolitos en el plasma seminal, denominados marcadores moleculares de la funcionalidad del epidídimo, es posible medir el grado de consecución de la maduración espermática, fundamental para lograr la capacidad fecundante de los espermatozoides. También mencionan, que es factible predecir, antes de congelar, entre verracos o eyaculados con buena o mala capacidad para congelar. Indican que hay marcadores moleculares de congelabilidad, presentes en el semen, como la enzima, SOD, superóxido dismutasa, que permiten distinguir con anterioridad entre eyaculados con buena o mala aptitud para congelar. Concluyen que la tendencia actual, en los Centros de I.A.P., es la utilización de indicadores, de congelabilidad no moleculares, que permitan un análisis, más rutinario de la motilidad espermática, mediante el uso del CASA. Al respecto, citan las investigaciones de Casas, I., y col., 2009, que han demostrado que el semen con buena capacidad para congelar tienen coeficientes de “linealidad” y “rectitud”, a 5°C, en treinta minutos de cultivo, significativamente superiores a los eyaculados que congelan mal.

2- glutation reducido:

el tripéptido glutation, presente en todas las células interviene en el mecanismo de defensa intracelular para resolver el estrés oxidativo, dado que la enzima glutation peroxidasa utiliza como sustrato al glutation reducido (GSH) para reducir el peróxido de hidrógeno hasta agua y el lipoperóxido hasta alquil-alcohol; Gadea, J. y col., 2004, Gadea, J. y col., 2005, Estrada, E. y col., 2014. Estos investigadores, de las Universidades de Murcia y Barcelona, informan que la adición de 2mM de GSH en el medio de congelamiento mejoran la motilidad, la integridad de la membrana espermática y su funcionalidad observándose un mayor porcentaje de espermatozoides no capacitados, además de una menor alteración de la estructura nucleoproteica y en la fragmentación del ADN, dando como consecuencia un aumento significativo ($p < 0,05$) de la fertilidad y el tamaño de la camada.

En relación al sistema antioxidante de los espermatozoides, Gadea y col., 2005, arriban a las siguientes conclusiones:

- el congelamiento produce un descenso del contenido de GSH
- hay amplias diferencias entre verracos en lo que respecta a los valores de GSH y a la tasa de disminución durante el congelamiento
- la adición de GSH al diluyente de congelación favorece la funcionalidad de la membrana plasmática en dosis dependiente y altamente influenciado por el efecto verraco
- el agregado de GSH al diluyente de descongelamiento favorece la funcionalidad espermática, la capacidad de penetración de ovocitos y la formación del pronúcleo masculino.

3- cafeína y cloruro de calcio:

Yamaguchi, S. y col., 2009, informan que la suplementación del diluyente, para semen refrigerado, con cafeína y cloruro de calcio reduce el reclutamiento de los L.P.N. en el útero y disminuye la fagocitosis. Es importante reiterar que el reflujó del semen y la fagocitosis de los zoides por los L.P.N. aparentan ser los dos principales factores que determinan las pérdidas de espermatozoides sembrados. De éstos, sólo un 2% son recuperados cuatro horas más tarde de la I.A. Sin embargo, estos investigadores del Fukuoka Agricultural Research Center, Japón, sostienen que es necesario tener presente que la fagocitosis de las células espermáticas en el útero, por el reclutamiento de los L.P.N., es un proceso necesario para que en los cuernos uterinos se produzca la implantación de los embriones. No obstante, mencionan que la I.A. con semen congelado, diluido con el diluyente BTS, suplementado con cafeína y cloruro de calcio, al reducir significativamente el reclutamiento de L.P.N., aumenta en forma considerable el número zoides no fagocitados en el útero de las cerdas, cuatro horas posteriores a la I.A., al permitir la regulación del mecanismo de inmunidad en los cuernos uterinos y en consecuencia mejorar la fertilidad de la I.A. Arribaron a estas conclusiones mediante la realización de los siguientes ensayos:

-el primero, con cachorras prepúberes Large White, a las que se les indujo celo con PG600 (400 UI de PMSG y 200 UI de HCG) e inseminadas convencionalmente, posterior al reflejo de tolerancia en presencia del macho

-el segundo, con cachorras post púberes, Large White, mayores de ocho meses y cerdas de 1-3 partos, inseminadas en el cuerpo del útero, con 25×10^8 (8) espermatozoides a las 24 y 30-38 horas de detectado el celo

El material seminal fue obtenido con el método de la mano enguantada y procesado con la técnica de Nogami, Y. et. al., 1998, citada y modificada por Yamaguchi, S., y col., 2009, la que se describe a continuación:

- el semen se diluye 1:1 con la solución Modena y se mantiene hasta el día siguiente a 15°C
- Posterior a la centrifugación a 800g por diez minutos, el precipitado espermático se diluye a una concentración de 2×10^9 células por mililitro con una solución de 0,24 M de trealosa que contiene 20% de yema de huevo y 100mg/l de amicacina
- el material seminal diluido se enfría a 5°C y se mantiene por dos a tres horas
- pasadas las dos a tres horas a 5°C se vuelve a diluir 1:1 con el diluyente de trealosa y yema de huevo al que se le agrega 6% de glicerol y 1,48% de OEP (Ovum Es Paste), un detergente sintético que facilita la entrada del glicerol dentro de las células, ayudando así a disminuir su concentración y por consiguiente su toxicidad. Además favorece la emulsión de los lípidos de la yema de huevo a bajas temperaturas.
- el semen rediluido se envasa en pajuelas de 0,5ml y se congela en vapores de nitrógeno líquido, cuatro centímetros por encima de la superficie de éste

Todas las cachorras y cerdas fueron inseminadas dos veces, 24 a 38hs posteriores a la detección de celos, con 25×10^8 de espermatozoides diluidos en 50ml de los diluyentes Modena o BTS modificado (BCC) por el agregado de cafeína y cloruro de calcio según se detalla en el cuadro 12

Cuadro 12: Componentes de los diluyentes para descongelamiento Modena y BCC (Yamguchi, S., y col., 2009)

Componente	Modena (mM)	BCC* (mM)
Glucosa	152.61	205.37
Citrato de sodio	23.46	20.40
Bicarbonato de sodio	11.90	14.88
EDTA, sal disódica	6.99	1.68
Tris	46.66	-
Acido cítrico	15.10	-
Cloruro de potasio	-	10.06
Cafeína	-	1.15
Cloruro de calcio dihidratado	-	3.97
Amicacina	100 mg/ml	100 mg/ml

*El BCC se logra modificando el diluyente BTS con el agregado de cafeína y Cl_2Ca

En el primer ensayo, todas las cachorras fueron sacrificadas, cuatro horas posteriores a la segunda inseminación, para evaluar, además de las características morfológicas, la cantidad de LPN y espermatozoides no fagocitados, recuperados por lavado del oviducto, tercio superior y los dos tercios inferiores de los cuernos uterinos; la vagina y el cuello del útero fueron descartados.

En el segundo ensayo, a todas las cachorras y cerdas adultas preñadas, se les permitió llevar a término la gestación para cuantificar los parámetros de eficiencia reproductiva convencionales.

En los cuadros 13 y 14, se puede apreciar como, el agregado de cafeína y cloruro de calcio al diluyente de descongelamiento, produce los siguientes fenómenos biológicos:

- afecta la respuesta inflamatoria del endometrio
- disminuye la presencia de LPN, en la porción proximal del aparato genital tubular
- al disminuir la fagocitosis de los espermatozoides, aumenta su cantidad
- al haber más zoides viables y funcionales, en la unión útero-tubárica, se incrementan las tasas de preñez, parición y tamaño de la camada.

Las posibles razones que explicarían estos resultados, se deberían a que la cafeína, al aumentar la concentración intracelular del AMP cíclico, un muy potente inmuno- modulador, ejercería un efecto supresivo sobre las funciones de la inflamación, tanto in vitro como in vivo, disminuyendo la producción de citoquinas y el reclutamiento de leucocitos.

Cuadro 13: Cantidad de LPN y espermatozoides recuperados del útero y oviducto, cuatro horas posteriores a la I.A., considerando el diluyente de descongelamiento. (Yamaguchi, S. y col., 2009)

Célula / Diluyente	Oviducto	Utero tercio superior	Utero dos tercios inf.	Total
LPN				
Modena	$7.4 \pm 4.4 \times 10^4$	$9.0 \pm 2.9 \times 10^7$	$29.1 \pm 6.4 \times 10^7$ *	$3.8 \pm 0.8 \times 10^8$
BCC	$3.8 \pm 2.3 \times 10^4$	$5.1 \pm 3.7 \times 10^7$	$9.9 \pm 5.6 \times 10^7$	$1.5 \pm 0.9 \times 10^8$
Zoides				
Modena	0	$1.6 \pm 0.6 \times 10^5$ *	$1.2 \pm 0.6 \times 10^6$ *	$1.4 \pm 0.7 \times 10^6$ *
BCC	$2.2 \pm 2.2 \times 10^3$	$75.4 \pm 29.7 \times 10^5$	$33.1 \pm 12.1 \times 10^7$	$40.6 \pm 12.9 \times 10^6$

*Los valores marcados dentro de una misma columna son significativos ($P < 0.05$)

Cuadro 14: Parámetros de eficiencia reproductiva con semen congelado e I.A. en el cuerpo del útero, considerando el diluyente de descongelamiento. (Yamaguchi, S. y col., 2009)

Diluyente	Cantidad de cerdas inseminadas	Porcentaje de preñez	Porcentaje de parición	Tamaño de la camada
Modena	21	38,1*	28,6*	7.2±1.6
BCC	21	71.4*	61.9*	8.2±0.9

*Los valores marcados dentro de una misma columna son significativos (P<0.05)

Además, Yamaguchi, S. y col., 2009, evaluaron la proporción de acrosomas intactos, a los 30 y 90 minutos posteriores al cultivo de los espermatozoides en los diluyentes Modena y BCC. En este ensayo, a los noventa minutos del cultivo, no a los treinta, una alta proporción de los zoides cultivados en el BCC habían desarrollado la reacción acrosomal. Estos resultados indicarían que, la exposición de los espermatozoides por varias horas al diluyente BCC induciría la reacción acrosomal y por consiguiente reduciría la duración de la viabilidad espermática. No obstante, no tendría un efecto negativo sobre la fertilidad, porque consideran que la adenosina, siempre presente en las vías genitales de la hembra, induce la capacitación pero previene la espontánea reacción acrosomal del semen descongelado de verraco.

Estrada, E., 2014 considera que el proceso de capacitación espermática precoz es una de las causas de pérdida de capacidad fecundante del eyaculado y su evaluación forma parte de los análisis de calidad seminal. Informa que la existencia de espermatozoides capacitados precozmente, puede cuantificarse empleando técnicas de fluorescencia con los fluorocromos merocianina 540 (M540) y el fluo-3 acetometoxi éster (Fluo3-AM). El M540 se adhiere a la membrana espermática, cuando hay un aumento en la permeabilidad de la misma, por un desorden lipídico, como ocurre en la capacitación espermática, y emite fluorescencia naranja. Además, señala que el Fluo3-AM cuando interactúa con el calcio intracelular emite fluorescencia verde, siendo de gran intensidad dado que un espermatozoide capacitado contiene altos niveles de calcio.

-Protocolo utilizando 10 cc de la fracción espermática:

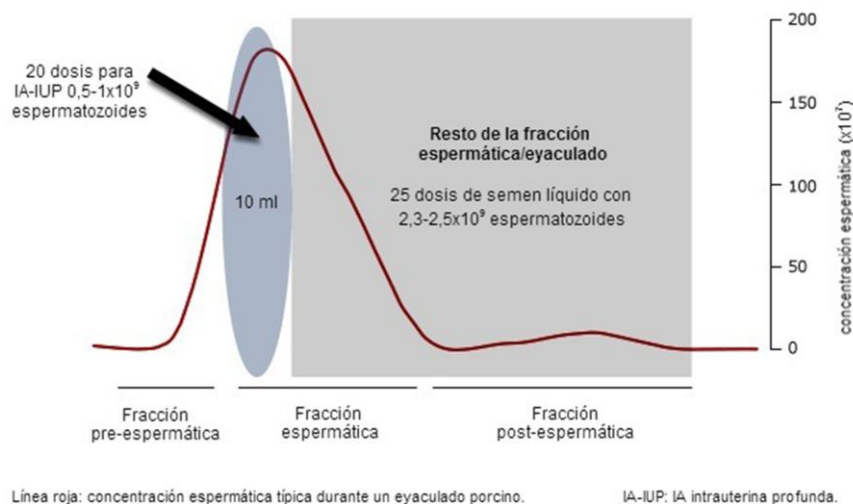
Rodríguez-Martínez, H., 2013, desarrolló un método simplificado, para el congelamiento del semen porcino, utilizando sólo los primeros 10cc de la fracción espermática del eyaculado, reduciendo significativamente el período de procesamiento, sin el empleo del centrifugado para eliminar el plasma seminal. Sus trabajos han demostrado, que los primeros 10cc de la fracción espermática, representan del 15 al 20% del total de los zoides del eyaculado. Además, observó que son los más resistentes a los procesos de dilución, refrigeración y congelamiento, dado que están acompañados por secreciones proteicas del epidídimo y la glándula prostática.

El proceso simplificado de congelamiento (CS), desarrollado por el equipo de Rodríguez-Martínez, se detalla a continuación:

- los primeros 10cc de la fracción espermática del eyaculado, el pico espermático, se mantiene durante diez minutos sin centrifugar
- se diluye con lactosa-yema de huevo, para de inmediato enfriar durante una hora y media, hasta alcanzar los 5°C
- se diluye con lactosa-yema de huevo, más 3% de glicerol y el detergente sintético OEP
- se envasan en pajuelas de 0,5cc conteniendo 900 x 10 (6) espermatozoides
- la congelación se realiza con una tasa de enfriamiento de 50°C por minuto

El proceso de CS, necesita 3,5 horas, en comparación con las 8 horas de una congelación convencional. El resto de las células espermáticas del eyaculado, 75 a 80%, son utilizadas para una I.A. convencional con semen refrigerado, a razón de 2,3 a 2,5 x 10⁹ espermatozoides por dosis. En consecuencia, aplicando esta metodología de manejo del eyaculado se pueden obtener 20 dosis de semen congelado para siembra intra uterina profunda (IUP) y 25 unidades de semen refrigerado según se muestra en la figura 34. Con el semen CS e IUP, en 120 cerdas de segundo parto, inseminadas a las 24 y 36 horas posteriores al diagnóstico del “test del jinete”, Wallgren, citado por Rodríguez-Martínez, obtuvo el 42% de partos y 8 lechones vivos por lechigada. Con las dosis adicionales de semen refrigerado logró 80% de partos con un tamaño de la camada de 13 crías vivas. El investigador concluye que la CS no es una alternativa para aplicar comercialmente en reemplazo del semen refrigerado. Sólo es una opción para bancos de genes y centrales de bio-seguridad, que no interfiere en la producción de semen convencional y en el manejo de los verracos.

Figura 34: Método simplificado para congelamiento de semen porcino utilizando los primeros 10cc de la fracción espermática del eyaculado. (Rodríguez-Martínez, H. 2013)



-Nuevos protocolos de congelamiento:

En los protocolos cortos con un tiempo total de tres a cinco horas, Estrada, E., 2014, describe los siguientes pasos:

1. mantenimiento del eyaculado diluido a 17°C, hasta el inicio de la congelación, varía de tres a cuatro horas, período necesario para que la membrana espermática se adapte al diluyente
2. centrifugación a 600-800 xg durante 5-10 minutos, a 16-17°C
3. a los zoides contenidos en el sedimento se les adiciona el diluyente de enfriamiento y se hace descender la temperatura en forma gradual de 17°C a 5°C a razón de 0,1°C/minuto durante un período de una hora y media
4. agregado de crioprotectores a 5°C
5. comienzo de la fase de congelación, en una cámara o biocongelador programable, con la curva de descenso de temperatura siguiente: a) lenta disminución de 5°C por minuto, desde 5°C a -5°C para que las células espermáticas alcancen el equilibrio osmótico, eliminen agua y eviten la formación de cristales; b) rápido descenso de la temperatura de 20 a 40°C por minuto, hasta llegar los -150°C, para limitar la formación de hielo intracelular y evitar la deshidratación de los zoides; c) breve pausa a los -80°C, entre 30 segundos y un minuto, para facilitar la reducción del volumen espermático y la vitrificación del glicerol; al alcanzar los -150°C, se conservan en nitrógeno líquido a -196°C .

En la figura 35 se muestran el instrumental, fabricado por Minitüb-Tiefenbach-Alemania, necesario para desarrollar estos protocolos cortos de congelamiento del semen porcino: -vitrina móvil refrigerada y setead a

+5°C; -centrífuga refrigerada a 16-17°C, programable a diferentes velocidades e inclusive para la prerefrigeración, con rotor para cuatro cubos y cuatro botellas x 600ml de polipropileno; -equipo de congelación programable por computadora, con ingreso de datos a través del monitor, registro automático de la curva de congelación, rango de temperatura hasta -180°C y velocidad de congelamiento de 0,01 hasta 60°C/minuto.

Figura 35: Instrumental para desarrollar protocolos cortos de congelamiento de semen porcino. (Minitüb, Tiefenbach, Alemania)

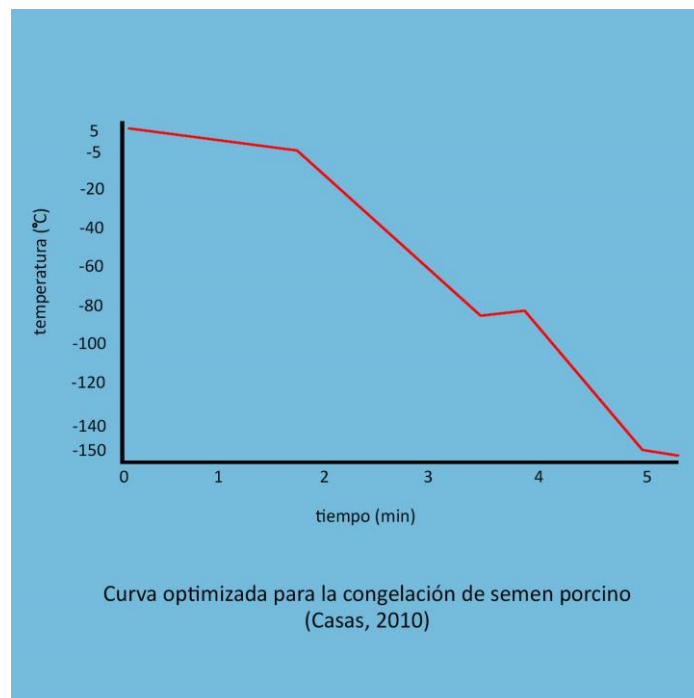


En relación a los programas de descenso de temperatura, en los métodos de congelación del semen, se han logrado importantes avances con la utilización de congeladoras computarizadas. Con el empleo de un biocongelador programable Casas, I, 2010, citado por Estrada, E, 2014, desarrolló una curva de congelación de 313 segundos, según se observa en la figura 36, con las etapas que se mencionan seguidamente:

1. disminución de 5 a -5°C, a una velocidad de 6°C por minuto, en 100 segundos
2. descenso de -5 a -80°C, a razón de 39,82°C por minuto, en 113 segundos
3. pausa de 30 segundos al alcanzar los -80°C
4. enfriamiento de -60°C por minuto, hasta alcanzar los -150°C en 70 segundos

Con esta rampa de descenso, utilizando biocongeladores, se ha logrado una gran precisión en las curvas de congelación, con variaciones inferiores a 1°C, imprescindibles en el verraco, lo que permitió mejorar la fertilidad, de acuerdo a lo informado por Spencer, K, 2010, citado por Estrada, E., 2014; Okasaki, T. & Shimada, M., 2012.

Figura 36: Curva de congelación de 313 segundos desarrollada por Casas, I., 2010, (citado por Estrada, E., 2014)



Límites para el uso práctico y masivo del semen congelado de verracos

El principal escollo, para el uso práctico del semen congelado de verracos, es la baja fertilidad, marcada por una disminución significativa de la tasa de parición y del tamaño de la camada.

Knox, R., 2015, informa, que en años de estudio de numerosos investigadores, se ha demostrado que con 5-6 mil millones de espermatozoides, aproximadamente tres mil millones viables, usados en una sola o múltiple inseminación, da por resultado una tasa de preñez entre 60 a 70% y una lechigada de 9 a 10 lechones. Considera, que la información global sobre cuales son las razones que impiden lograr una alta tasa de fertilidad no son concluyentes. Además, señala que el incremento de la fertilidad y la consistencia de la misma, parecen estar independientemente asociados con el número mínimo de espermatozoides viables, alrededor de uno a dos mil millones. Por lo tanto para incrementarla y lograr resultados consistentes, considera imprescindible desarrollar un protocolo de trabajo que incluya:

1. selección de verracos y eyaculados por la sobre vivencia espermática a la criopreservación
2. modificación de las condiciones de congelamiento y descongelamiento del semen, usando aditivos para proteger a las células espermáticas del daño por oxidación
3. evaluación post descongelado del material seminal para ajustar la cantidad de espermatozoides para inseminar
4. evaluación de la fertilidad de la hembra e inducción del estro, implementando la sincronización de celos en grupos, para realizar una sola inseminación en las proximidades de la ovulación
5. realizar la siembra del semen descongelado en el cuerpo del útero o en el tercio distal de los cuernos uterinos, para disminuir la cantidad de espermatozoides necesarios para fecundar

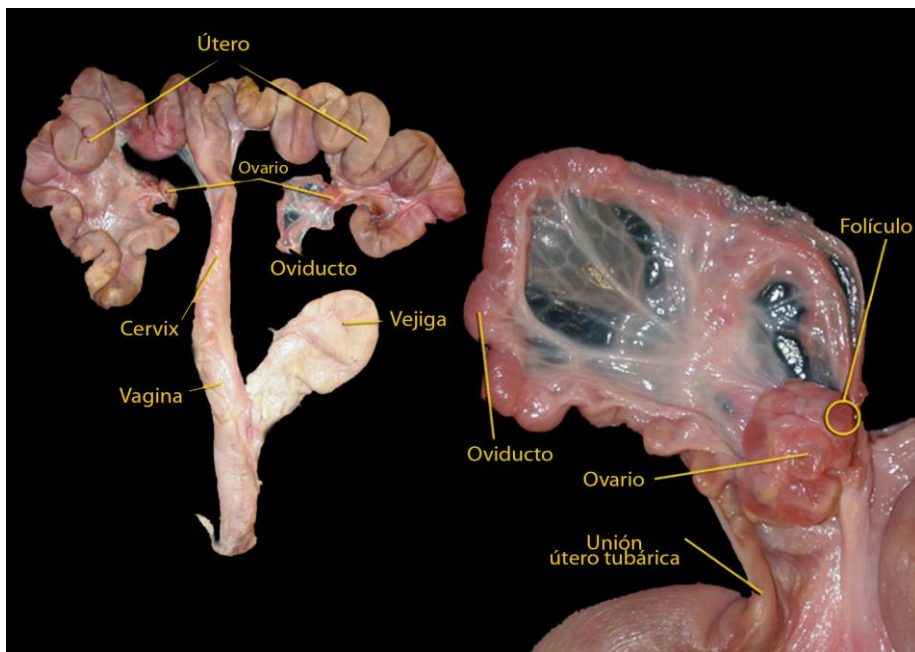
Esta secuencia de procedimientos, debe ser desarrollada e incorporada en los programas de gestión para mejorar las chances de fecundar con un número mínimo de espermatozoides descongelados.

CAPITULO 5: ANATOMIA Y FISIOLOGIA REPRODUCTIVA DE LA CERDA

-APARATO GENITAL DE LA CERDA

Está compuesto por los órganos primarios, los ovarios, y el aparato genital tubular, que se extiende desde los oviductos hasta la vulva, según se aprecia en la figura 37, en la cuál los órganos se muestran disecados y extendidos sobre un fondo negro. Además, en la figura 53, para facilitar la observación del cuello del útero y su continuidad con la vagina, se seccionaron los mismos longitudinalmente, de caudal a craneal, por su techo, como así también el vestíbulo de la vulva y la comisura dorsal de los labios vulvares. Por otra parte, se colocó una pipeta descartable en el cuello del útero, para señalar el lugar en que el verraco eyacula el semen y donde se realiza la descarga del material seminal en la I.A.P. convencional o intracervical.

Figura 37: Aparato genital de la cerda (Estienne, M. & Harper, A., 2009)

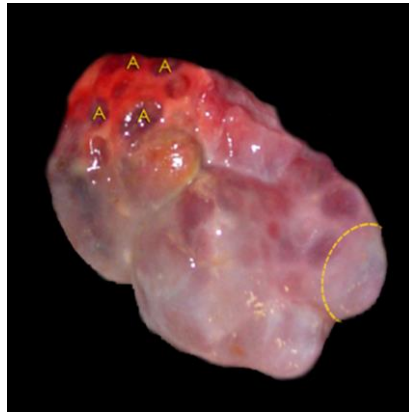


No es el objetivo de esta publicación brindar una detallada descripción anatómica de los órganos genitales de la hembra porcina, por ello sólo mencionaremos las características diferenciales más salientes:

Ovarios

Están situados en la cerda adulta en la cavidad abdominal, próximos a los riñones, y en las cachorras a ambos lados del borde anterior de la pelvis. Son órganos ovalados de 3 a 5cm de longitud, que se encuentran suspendidos en el abdomen, dentro de la bolsa ovárica, formada por el mesovario y el mesosalpinx de gran amplitud. Su peso es de 3,5 a 10 g, es más pesado el izquierdo que el derecho, y su forma es semejante a un racimo de uvas debido a la existencia de gran número de folículos (10-25) o cuerpos lúteos. El diámetro del folículo maduro es de 1 cm; los cuerpos lúteos son esféricos y de aproximadamente 1,5 cm de espesor. Hay una continua proliferación y atresia de folículos de 2 a 5mm de diámetro, excepto durante la fase folicular del ciclo estral, informan Noakes, D. y col., 2001. El tamaño y el peso del ovario varían de acuerdo a la fase del ciclo estral, según el grado de funcionalidad de las estructuras ováricas. Al comienzo de su formación el cuerpo lúteo pesa alrededor de 140mg, alcanza su máximo tamaño, pesando de 350 a 450mg a los ocho días de la ovulación y desciende a 136mg en la etapa de regresión el día 18, de acuerdo a lo expresado por Falceto, M., et. al., 2005. En la figura 38, se muestra un ovario con folículos pequeños, marcados con la letra A, y cuerpos lúteos funcionales, uno de los cuales está marcado por una línea discontinua de color amarillo.

Figura 38: Ovario de una cerda nulípara con pequeños folículos y cuerpos lúteos funcionales (Estienne, M. & Harper, A., 2009)



Excepto durante la lactancia, los ovarios son fundamentales en la regulación de los fenómenos reproductivos de la cerda: ciclo estral, ovulación, apareamiento, gestación y parto.

Oviductos

Son dos conductos sinuosos en forma de embudo y con una longitud de 15 a 30 centímetros, cuya pared está formada por poderosas fibras musculares, longitudinales y circulares, con las que realiza movimientos peristálticos, fundamentales para el transporte del óvulo hacia la cavidad uterina, junto con las cilias del epitelio de la mucosa. Está dividido en tres porciones: infundibular, ampular e ístmica. La porción ampular, en forma de embudo, posee un amplio orificio abdominal, en cambio caudalmente se continúa sin línea de demarcación con el útero. En la parte derecha de la figura 37 se aprecian, con claridad y en forma ampliada, la unión útero-tubárica, el oviducto, el ovario, además de la bolsa ovárica. Hunter, R., 1980b, informa que la unión útero-tubárica funciona en el interior del oviducto como un esfínter, dado que restringe el pasaje de fluidos desde el útero, pero permite el drenaje hacia éste de flujos orgánicos. La mucosa oviductal presenta pliegues longitudinales que permiten, que el óvulo, recogido por el extremo dilatado y fimbriado del oviducto, tenga continuo contacto en toda su superficie, con células vivas y secreciones, que aseguran su viabilidad a medida que desciende hacia el útero. Estos pliegues también proporcionan una protección similar a las células espermáticas, a los huevos fecundados y a los embriones en sus primeros estadíos, hasta arribar con cuatro células, a la cavidad uterina.

Útero

Está compuesto por: a) dos cuernos bien definidos, largos, flexuosos y muy móviles por el gran tamaño del ligamento ancho que los suspenden en la cavidad abdominal, se asemejan al intestino delgado, pero de consistencia más firme, con una longitud promedio de 150 cm en las cerdas adultas; b) un cuerpo de 6 a 10 cm de longitud, y c) un poderoso cuello con una longitud de 12 cm en nulíparas y hasta 25 cm en multíparas, que interiormente presenta varios pliegues transversales, enfrentados entre sí, dándole el aspecto de cremallera. No hay proyección intravaginal del cuello uterino como en la vaca y, por este motivo, la técnica de siembra es mucho más fácil en la cerda. El ligamento ancho contiene gran cantidad de fibras musculares lisas en sus paredes que les permite ejercer intensos movimientos peristálticos durante el coito y el parto.

Vagina

Es un tubo, con una transición tipo embudo hacia el cuello uterino, de 10 a 12 cm de longitud por 3 cm de diámetro, que posee una membrana mucosa caracterizada por presentar numerosos pliegues.

Vulva

Consta de dos labios y un vestíbulo. Los labios están unidos por una comisura superior redondeada y una inferior muy aguda. Inmediatamente por delante de ésta se encuentra el clítoris. El vestíbulo de la vulva tiene una longitud de 7,5 centímetros. La línea de demarcación con la vagina está dada por un pliegue transversal incompleto que se encuentra en el piso, e inmediatamente por detrás de éste se ubica el orificio uretral externo que conduce a la vejiga por intermedio de la uretra.

-PUBERTAD

Las hembras que no han llegado a la pubertad tienen ovarios lisos. Al nacimiento, presentan miles de folículos primarios con una sola hilera de células que rodean al ovocito. Los folículos secundarios, con dos hileras de células foliculares, aparecen alrededor de la séptima semana. Los antrales o con cavidad se forman alrededor del cuarto mes de vida. La pubertad, de acuerdo a lo informado por Wrathall, A., 1980, con la maduración del primer grupo de folículos, celo y ovulación, ocurre en promedio entre el sexto y séptimo mes, con las lógicas variaciones por razones genéticas y del medio ambiente. Ollivier, L. & Sellier, P., 1982, consideran que la edad a la pubertad en cachorras tiene un índice de heredabilidad moderada, alrededor de 30%, de acuerdo a los trabajos de Reutzel, L. & Sumption, L., 1968; Young, L., y col., 1978; Legault, C. & Gruand, J., 1981; Hutchens, L. y col., 1981. A diferencia de lo que sucede en bovinos y ovinos, el inicio del primer ciclo estral, en cachorras, está más relacionado con la edad que con el peso corporal. Además de la importancia que tienen la raza, el nivel de consanguinidad y los cruzamientos, el medio ambiente, aspectos sociales, combinados con el stress afectan el inicio de la pubertad. Las cachorras alojadas en grandes grupos o sin la presencia del macho demoran más tiempo en alcanzar la pubertad. Relacionado a éste último, Hunter, R. 1980a, cita un trabajo de Du Mesnil du Buisson, F. y Signoret, J., 1962, efectuado en cachorras prepúberes alojadas en piquetes, con una alta densidad poblacional, al trasladarlas a un área distinta y de menor concentración, lograron que la mayoría tuviera su primer celo a los cinco o seis días, el tiempo necesario para el desarrollo de un pequeño folículo al estado de maduración preovulatorio.

-CICLO ESTRAL Y SIGNOS DEL CELO

-Frecuencia del ciclo estral:

La cerda adulta, es poliéstrica no estacional, presenta celos cada 20 a 21 días durante todo el año. Es necesario tener en cuenta, que hay menor actividad sexual hacia el final del verano y el otoño, la cual es más notoria en primíparas que en múltiparas. Esta predisposición a la estacionalidad reproductiva, denominada infertilidad otoñal, es considerada de origen ancestral, dado que el cerdo doméstico desciende del jabalí europeo, cuya hembra tiene actividad sexual estacional primaveral o de días largos.

Johnson, M., 2007, informa que la melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es sintetizada, en la glándula pineal bajo el control del medio ambiente, a partir de la serotonina (5-hidroxi triptamina). Indica que al ser liberada al torrente sanguíneo, ejerce una importante acción en el hipotálamo, para regular la actividad reproductiva de los mamíferos con funcionalidad sexual estacional. Sostiene, que está perfectamente demostrado que la melatonina es sintetizada y liberada al torrente sanguíneo en las horas de oscuridad. Además, menciona que durante la noche, a través del sistema nervioso simpático, hay una significativa estimulación de la biosíntesis de la melatonina, dado por una gran actividad de la enzima N-acetil transferasa. También, sostiene que la amplitud del ritmo circadiano-melatonina está representado claramente por las horas de oscuridad. Cuando el período de luz se acorta y las noches se alargan durante el otoño, señala que el pico nocturno de la melatonina se incrementa, inhibiendo en el hipotálamo la secreción de GnRH en las especies de actividad sexual cíclica estacional primaveral, sucediendo lo contrario en los ovinos que tienen actividad reproductiva estacional otoñal o de días cortos.

Es imprescindible para que la hembra tenga actividad sexual cíclica que se cumplan las siguientes condiciones:

- 1- el aparato genital no debe presentar patologías congénitas o adquiridas
- 2- estar sana y alimentada correctamente
- 3- no estar en el período de gestación ni en lactancia.

De acuerdo a la presentación del celo, según el momento de la vida reproductiva de la cerda, Gordon, I., 1997, los clasifica en:

.Puberal: es el primer celo que determina el inicio de la pubertad

.Posparto: es anovulatorio y se presenta entre uno a tres días posteriores al parto

.Posdestete: se produce con un intervalo de dos a siete días posteriores al destete y es de alta fertilidad.

-Fases del ciclo estral: Los cambios a nivel ovárico durante el ciclo estral son similares pero más espectaculares en la cerda que en la vaca, pues están implicados los dos ovarios y por ciclo participan de 10 a 25 folículos y cuerpos lúteos, en lugar de 1 a 2 como ocurre en la hembra bovina. Además, a diferencia de ésta, el ovario izquierdo es más activo que el derecho, tiene más peso y mayor número de cuerpos lúteos.

De acuerdo a la estructura gonadal o la hormona ovárica que predominen, se divide el ciclo estral en dos fases, la folicular o estrogénica y la luteal o progesterónica.

La fase folicular involucra al proestro o período de crecimiento folicular y al estro que engloba a la maduración folicular, celo y ovulación.

La fase luteal comprende al metaestro o etapa del cuerpo hemorrágico o cuerpo rubrum o de desarrollo del cuerpo amarillo y al diestro o período del cuerpo amarillo.

Para su descripción se considera el comienzo del celo como día 1 y el último día del proestro al 21.

La fase folicular o estrogénica, es más larga que en la hembra bovina, se extiende desde el día 14-16 al 21, en la cual se describe:

1- el proestro de 2-3-4 días, en el cual se inicia el crecimiento y maduración de aproximadamente 50 folículos antrales pequeños, de los cuales 10 a 20 continúan su desarrollo hasta la ovulación. Los folículos aumentan en diámetro de 4-5mm el día 15, hasta 9-11mm, denominado estado preovulatorio, el día 21. Dos días antes del celo, se produce el pico estrogénico, e inducido por éstos, los labios de la vulva se presentan hinchados y con la mucosa enrojecida, signos bien evidentes en las cachorras. También se suele observar un mucus acuoso grisáceo que fluye por la comisura inferior de los labios vulvares. A medida que se aproxima el período de celo las cerdas intentan montar a sus compañeras, emiten gruñidos frecuentes, tienen un comportamiento agresivo, mantienen las orejas erguidas y disminuye marcadamente el consumo de alimentos.

2- el estro o celo con una duración promedio de 48 a 72 horas, 1 a 2 días en cachorras y 2 a 3 días en las hembras adultas, presenta el desarrollo folicular final hasta llegar al grado de folículos ovulatorios. Estos son prominentes, de 7 a 12mm de diámetro, con un gran desarrollo del antro o cavidad folicular, pudiendo observar el estigma o papila, el punto de la futura ovulación.

Si bien la duración del celo es más breve en las cachorras que en las cerdas adultas, la intensidad de los signos del estro es superior en las núlparas.

El celo se caracteriza por la búsqueda del macho y por aceptar la monta del verraco.

Durante el celo se produce un marcado edema de los pliegues circulares del cuello uterino. Es un rol fisiológico importante durante el coito, pues la porción espiralada del pene del verraco y el cérvix del útero de la hembra forman un “cerrojo” que impide la pérdida de semen por los labios vulvares. Este hecho, según lo observado por Melrose, D. y O'Hagan, C., 1961, citados por Betteridge, K., 1970, se puede comprobar usando la pipeta de Melrose, réplica del pene del verraco, con el siguiente procedimiento:

.si la hembra no está en celo, el catéter penetra en promedio 45 cm en una cerda adulta y 37 cm en una cachorra;

.por el contrario, durante el celo la pipeta penetra solo 41 cm en la primera y 33 cm en la segunda.

También se observa en el período del estro, una marcada caída del pH vaginal desde un valor de 7,2 a uno de 6,3, registrado en el momento de mayor intensidad de los signos del celo, según informa Hancock, J., 1962, citado por Betteridge, K., 1970.

El pico ovulatorio de LH, se produce horas antes del comienzo del celo, unas 7 a 15 horas posteriores a la concentración máxima de estrógenos de acuerdo a lo informado por Soede, N. y col., 1994. La ovulación espontánea ocurre más frecuentemente cuando han transcurrido los dos tercios del celo, en promedio unas 8 horas antes de finalizar, es decir, aproximadamente a las 40 horas de haber comenzado y el proceso se produce en forma gradual durante 6 a 8 horas. Este período puede acortarse, por la estimulación del verraco en las primeras horas del celo, de acuerdo a lo observado por Signoret, J., 1977, citado por Wrathall, A., 1980.

La fase luteal se desarrolla en los primeros 13 a 16 días del ciclo estral la cual comprende:

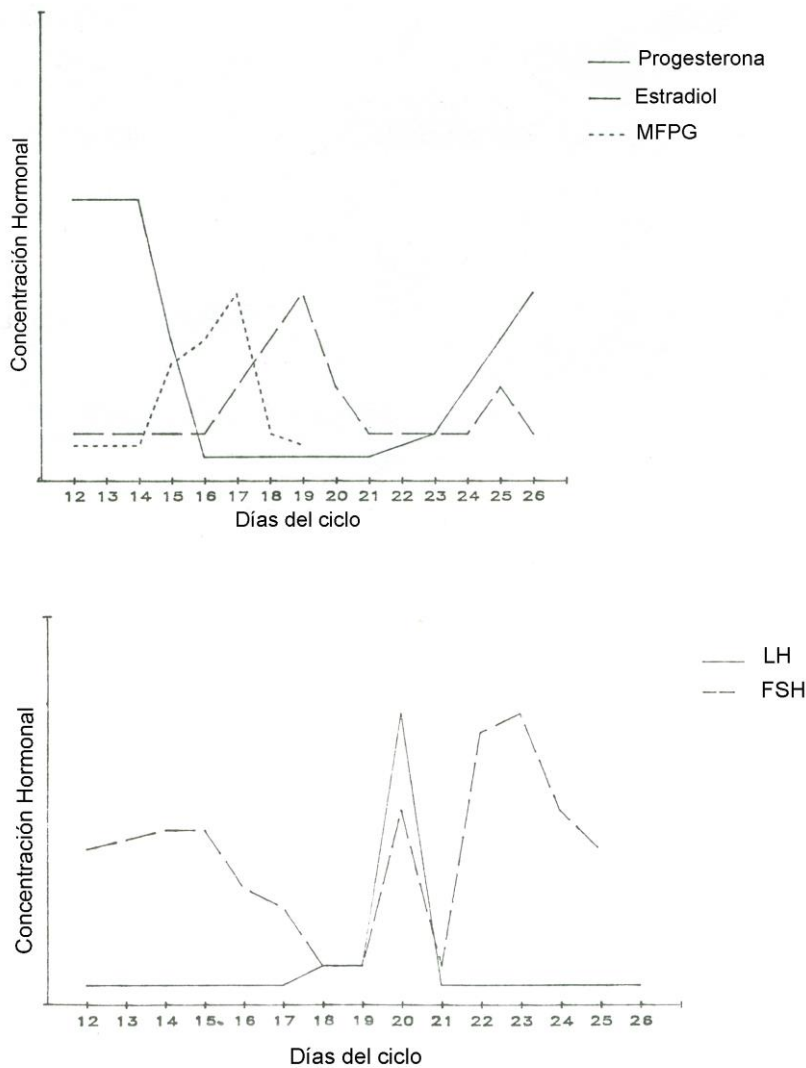
1- el metaestro de 7 días de duración en la que sucede el desarrollo del cuerpo lúteo y el comienzo de la secreción de progesterona.

En la cavidad de los folículos que han ovulado, se produce una hemorragia con la formación de un coágulo que da sostén a la invasión de las células tecales, dando origen a los cuerpos hemorrágicos o rubrum, de un color similar al hígado. Hay un rápido crecimiento del cuerpo lúteo, a partir de las 48 horas, hasta los 6 a 8 días de la finalización del estro. Es funcional, fase secretoria, del día 4 al 12, por la producción de la hormona progesterona. Su capacidad de síntesis está reflejada en el transcurso del ciclo estral. Los niveles de progesterona son bajos los días del celo y aumentan abruptamente después del día 2, alcanzando el pico entre el 8° y 12° día, para declinar luego marcadamente hasta el día 16°.

2- el diestro tiene una duración de 9 días, se extiende desde la floración del cuerpo lúteo, máximo tamaño con pico de producción de progesterona, hasta su regresión morfológica y funcional.

Al alcanzar su mayor tamaño, con un diámetro de 8 a 11 mm, posee una sólida masa de células secretoras, manteniendo su tamaño, con un pico de funcionalidad hasta el día 13. A partir del día 14 hasta el 18 se extiende el período de regresión de la fase luteal. Si a los 14 días posteriores a la ovulación la cerda no esta gestando, se produce la regresión morfológica y funcional de los cuerpos lúteos, por acción de la prostaglandina $F_{2\alpha}$, sintetizada por la mucosa uterina. La prostaglandina $F_{2\alpha}$, llega al ovario, por un mecanismo de contracorriente, a través del paso de la vena uterina a la arteria ovárica. También en la cerda informan, Falceto, M. y col., 2005, que puede llegar por vía sistémica porque la prostaglandina originada en el útero es metabolizada sólo parcialmente en los pulmones. Davis, D., 1989, indica que el grado de actividad de la prostaglandina $F_{2\alpha}$, puede medirse a través de los valores sanguíneos de su metabolito inactivo, 13-14dihidro-15, ceto- prostaglandina $F_{2\alpha}$, (MFPG), cuyo niveles sanguíneos aumentan coincidiendo con la caída de la progesterona, y el posterior incremento de los estrógenos, en la fase folicular, que desencadena la liberación de la FSH y LH, según se aprecia en la figura 39, en la cual, también se puede observar un perfil hormonal esquemático durante el desarrollo del ciclo estral.

Figura 39: Perfil hormonal del ciclo estral de la cerda. (Davis, D., 1989)



Además, existe una alta afinidad para la unión de los receptores de la prostaglandina $F_{2\alpha}$, en las células luteales grandes de la cerda. Las cantidades de receptores son muy bajas durante la fase luteal temprana, antes del día 12 del ciclo estral, no obstante se incrementan significativamente los días 13-14 y 16-17. Esto explicaría, según Gadsby, J. y col., 1990, el largo período refractario del cuerpo lúteo de la cerda a la acción de la prostaglandina $F_{2\alpha}$ y el aumento de la sensibilidad al efecto luteolítico de ésta o sus análogos sintéticos después del día 12. Dado lo prolongado y lo breve de los períodos refractario y de sensibilidad, respectivamente, a la acción de la prostaglandina $F_{2\alpha}$ o sus análogos sintéticos, éstos no son utilizados en los programas de sincronización de celos en porcinos.

-Dinámica del desarrollo folicular:

Al producirse la luteólisis, con la consiguiente caída en los niveles sanguíneos de progesterona, cede el efecto inhibitorio sobre hipotálamo e hipófisis, por lo que se inicia la descarga de GnRH que estimula la liberación de FSH y LH al comienzo del estro, ocurriendo una nueva onda de maduración folicular y la hembra estará en celo tres a cuatro días más tarde.

Foxcroft, G., y Hunter, M, 1985, afirman que en la hembra porcina los folículos terciarios están presentes antes de la pubertad, a lo largo del ciclo estral y en el transcurso de la preñez, no obstante el destino final de la mayoría es la atresia. Sin embargo, al producirse la luteólisis, un grupo de folículos antrales alcanzan el tamaño preovulatorio culminando en la ovulación o los más numerosos en la atresia.

Todos estos procesos, de acuerdo con Falceto, M. y col., 2005, están bajo la influencia de las hormonas hipofisarias, FSH, LH y prolactina, además de factores intrafoliculares que incluyen hormonas esteroideas, peptídicas, prostaglandinas y factores de crecimiento.

Davis, D., 1989, considera que uno de los factores para el estímulo del desarrollo folicular son los cambios en los pulsos de secreción de la LH, cuyos picos en sangre son de mayor amplitud. También, sostiene que la FSH juega un rol fundamental en la selección de folículos que van a ovular, si bien su concentración declina en sangre en la fase folicular, la consideran la hormona que selecciona los folículos que van a continuar su desarrollo y ovular.

Knox, R., 2005, informa que en el proceso de selección, los folículos que poseen más cantidad de receptores de la hormona LH obtienen un mayor desarrollo, sintetizan estrógenos e inhibina, que provocan un feed back o retroalimentación negativa disminuyendo la liberación de GnRH y FSH, produciendo la atresia de los folículos más pequeños. Por el contrario, sostiene que los folículos seleccionados con más receptores de LH continúan creciendo durante el proestro y liberando estrógenos lo que desencadena un feed back positivo con la LH finalizando con la ovulación en el estro.

Noguchi, M. y col., 2010, además de cuantificar los valores sanguíneos de las hormonas esteroideas, gonadotróficas e inhibina, tomando la ovulación como el día cero, realizaron diariamente ultrasonografía transrectal, durante el ciclo estral, para estudiar la asociación entre el desarrollo folicular y las variaciones en los valores plasmáticos de las hormonas esteroideas, gonadotróficas e inhibina, según se puede apreciar en las figuras 40 y 41, de las cuales se desprende:

.clasificaron a los folículos visibles, en pequeños de 3 a 5mm y en grandes a los mayores o iguales a 6mm de diámetro

.el reclutamiento folicular se realiza en dos períodos del ciclo estral:

1) desde la fase luteal tardía hasta la fase folicular, caracterizada por un aumento en la cantidad de folículos pequeños seguido por la presencia de grandes folículos

2) durante la fase luteal temprana, sólo con el incremento en el número de folículos pequeños

.la concentración plasmática de inhibina se eleva significativamente, coincidiendo con los dos períodos de emergencia folicular

.los niveles de estradiol aumentan durante la fase folicular, no durante la fase luteal temprana

.hay una relación inversa entre las concentraciones de inhibina y FSH, observados durante los dos períodos de emergencia folicular

.no existe correlación entre los valores de estrógenos y FSH durante la fase luteal temprana

.la inhibina tiene una retroalimentación negativa sobre la FSH a través del ciclo estral

.los estrógenos afectan la secreción de FSH sólo durante la fase folicular

.las concentraciones de estrógenos son significativamente mayores ($P < 0,05$) el día -5 ($7,9 \pm 1,1$ pg/ml que en los días -10 y -7; continúan aumentando hasta una concentración de $20,8 \pm 2,6$ /ml en los días -3,-2 y el día -1, caen significativamente ($P < 0,05$) a 1pg/ml, no habiendo incremento en las concentraciones plasmáticas después de la ovulación

.los niveles plasmáticos de la progesterona comienzan a declinar desde el día -7, tienen el menor valor entre los días -5 a .1, para aumentar luego de la ovulación hasta alcanzar una meseta el día 7

.las concentraciones de FSH son de 1,5ng/ml entre los días -10 y -8, luego decrecen significativamente desde el día -6 a -3; posterior a la finalización del celo muestra un pequeño pero significativo aumento y a los dos días de la ovulación (días 0-1) alcanza el pico más alto, 2,3ng/ml, declinando significativamente (P<0,05) el día 3.la concentración de LH muestra un pico evidente el día -1 pero no hay cambios significativos durante el resto de las etapas del ciclo estral

Figura 40: Desarrollo y regresión del cuerpo lúteo, más la dinámica folicular, en cerdas sometidas a la exploración ovárica por ultrasonografía, a intervalos de 6 horas, tomando la ovulación como hora cero. (Noguchi, M., y col., 2010)

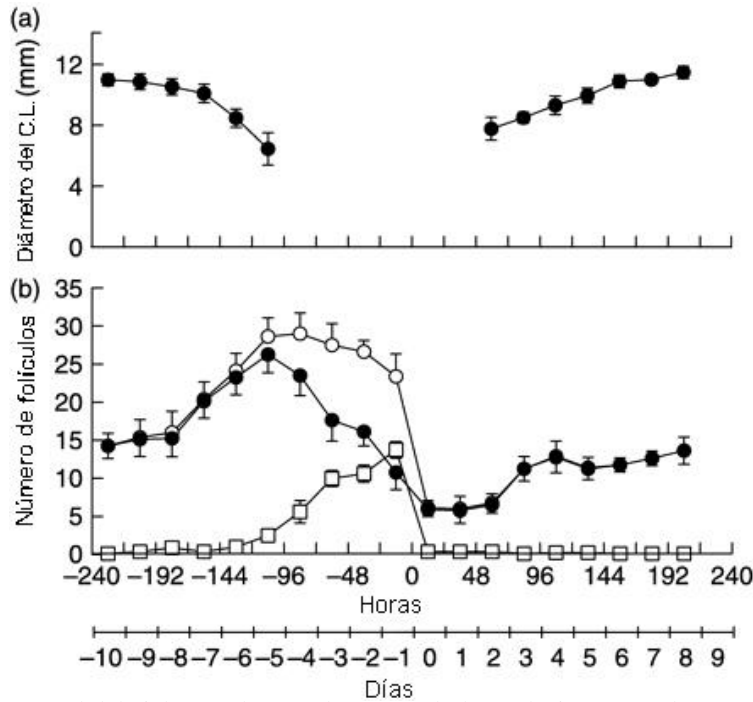
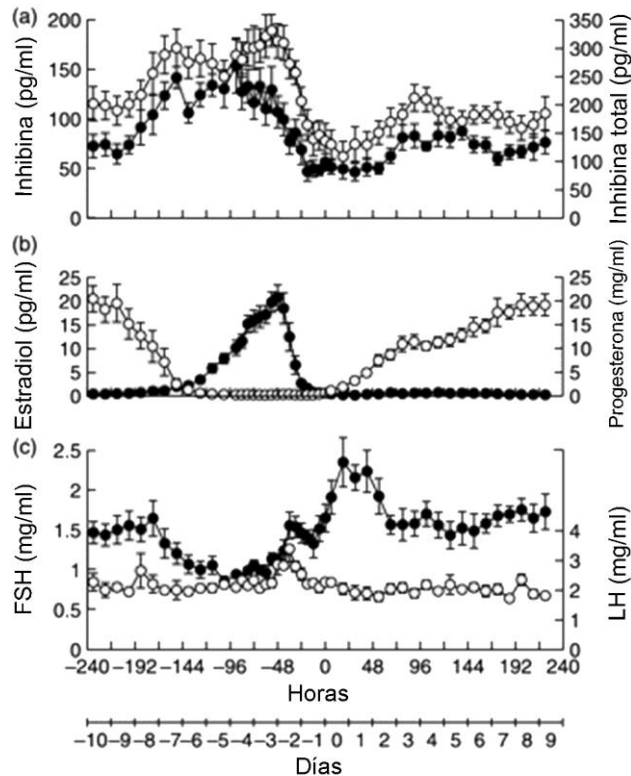


Figura 41: Perfil hormonal del ciclo estral en cerdas tomando la ovulación como día cero. (Noguchi, M. 2010)



Tiempo desde la ovulación

La combinación de los análisis de los perfiles hormonales y los cambios ováricos durante el ciclo estral, son herramientas básicas para poder manejar con criterio y mejorar la eficiencia reproductiva porcina.

-Distribución de leucocitos y cambios morfológicos en el endometrio durante el ciclo estral:

Kaeoket, K., y col., 2002, investigaron, en cerdas cruza Landrace x Yorkshire, de tres y cuatro partos, destetadas a los 35 días de lactancia, la distribución de leucocitos y los cambios morfológicos del endometrio en las diferentes etapas del ciclo estral, arribando a las siguientes conclusiones:

.el aumento en los niveles de 17β estradiol incrementa el peso del útero y la capilaridad de los vasos sanguíneos que desencadenan edema

.la presencia en el endometrio de macrófagos, neutrófilos y linfocitos se correlaciona con los niveles plasmáticos de estrógenos al producir mayor permeabilidad de los vasos sanguíneos; esto explicaría una preparación previa de defensa orgánica, ante agentes invasores en el proestro y estro, con el propósito de desencadenar un proceso normal para remover un exceso de espermatozoides y bacterias, preparando un ambiente uterino óptimo para el desarrollo del embrión

.hay un incremento de mastocitos, en el tejido conectivo subepitelial, cuyo rol es muy importante en procesos biológicos como la angiogénesis, inflamación y regeneración de tejidos

.la mayor cantidad de macrófagos, en el tejido conectivo del endometrio, se observó en el diestro temprano, tanto en la zona subepitelial y en la glandular; este hecho indicaría que la migración en el endometrio de los macrófagos, después del celo, es para fagocitar material extraño, células muertas o dañadas próximas a morir

.un aumento significativo de eosinófilos, en las paredes subepiteliales, se observó durante los días 10-14 del diestro, lo que podría estar asociado con los cambios estructurales del endometrio, necesarios para el normal desarrollo de la implantación del embrión

.los leucocitos con más presencia significativa en las paredes subepiteliales, durante las distintas etapas del ciclo estral, son los linfocitos; no obstante sostienen, como se indicó previamente, que los neutrófilos predominan en el proestro y estro junto con los mastocitos, los macrófagos en el diestro temprano y los eosinófilos en el diestro; estas células representan el mayor sistema celular de inmunidad

.según la fase del ciclo estral se observaron cambios en los parámetros morfológicos del endometrio, como altura del epitelio glandular, densidad capilar y grado de edematización

-Señal embrionaria y prolongación de la fase luteal:

Falceto, M. y col., 2005, informan que si se produce la fecundación y hay como mínimo cuatro embriones en el útero, que ocupen los dos cuernos uterinos, al menos en un 70% de su superficie, se desencadena un mecanismo fisiológico, que altera la secreción de la prostaglandina $F_{2\alpha}$ y los cuerpos lúteos, fundamentales para mantener la gestación durante 114 días, permanecen activos. Destacan que los embriones porcinos producen estrógenos entre los primeros 10 a 15 días de vida, los que cambian la secreción de la prostaglandina $F_{2\alpha}$ de endocrina a exocrina, del torrente sanguíneo a la cavidad uterina, donde quedan secuestradas e incapacitadas para ejercer un efecto luteolítico.

Ford, S., y col., 1982, comprobaron que las concentraciones de 17β estradiol y estrona son significativamente más elevadas en la arteria y vena uterina los días 11, 13 o el 15, en las hembras preñadas, al compararlas con los valores cuantificados en las hembras que no están gestando. Lo mismo sucedió con el contenido de estos estrógenos en el útero grávido, con un pico el día 15. También observaron que el flujo sanguíneo se incrementa en la arteria uterina del día 11° al 13° de gestación, para luego declinar el día 15°. Por el contrario, no hubo cambios en los días correspondientes del ciclo estral en las cerdas no grávidas.

Es muy importante tener en cuenta que los estrógenos son luteotróficos en la hembra porcina durante la fase luteal y que su administración, oral o parenteral puede prolongar el período de vida del cuerpo lúteo por varias semanas de acuerdo a lo informado por Geiser, R. y col., 1984. Estos investigadores de la Oklahoma Agricultural Experiment Station y del USDA/ARS lograron, con la aplicación I.M. diaria de 5mg de benzoato de estradiol, (B.E.), entre los días 11-15, producir, en las cachorras tratadas, un estado de pseudo preñez, dado que tuvieron celo a los 60 días de finalizado el tratamiento. También observaron, en otro ensayo realizado con 28 cachorras, que una sola inyección I.M. de 5mg de B.E., aplicada cualquier día entre los 9,5 a 15,5, prolongaron el ciclo estral 30 días, aproximadamente. Además, cuantificaron en un ensayo posterior, que a las 12 horas posteriores al suministro I.M. de 5mg de B.E., un aumento significativo de los niveles de calcio y proteínas en la secreción del útero.

-PUERPERIO

Es muy importante tener en cuenta la apariencia macroscópica de los ovarios y el útero durante el puerperio, como también los cambios hormonales, que determinan el comportamiento reproductivo durante la lactancia y los primeros días posteriores al destete. Al respecto, Palmer, W., Teague, H., y Venzke, W., 1965, realizaron un estudio que muestra, los cambios en la morfología del aparato reproductivo de cerdas de segunda parición en el transcurso de la lactancia. Observaron que:

.el útero decrece, en peso y tamaño, hasta el día 28 del posparto, luego cambia muy poco si se prolonga la lactancia

.durante los cuatro días pos destete hay un incremento del tamaño y peso del útero, completando su involución entre los 21 y 28 días posparto

.el cuerpo lúteo de gestación promedia 8,1mm en diámetro al día 1 posparto, rápidamente disminuye de tamaño y aparece como una mancha marrón oscura, en el estroma ovárico, al final de la lactancia

.los folículos , que promedian 4,6 mm de diámetro, disminuyen significativamente de tamaño en la primer semana del posparto

.a los tres y cuatro días posdestete hay un marcado incremento del tamaño folicular

.la misma tendencia se aprecia por el número de folículos de 5 mm de diámetro ,o aún mayores, que están presentes a varios intervalos después del parto.

En relación a los cambios hormonales posparto, Britt, J., 1996, divide al puerperio en tres fases:

a) hipergonadotrófica, en las 24 horas de ocurrido el parto, se produce la regresión de los cuerpos lúteos con la consiguiente declinación de la progesterona, aumentan la liberación de FSH y LH;

b) transición, del 2° al 14° días posparto, involución del útero y disminuye la liberación de FSH y LH

c) normalización, del 14 al 21 del puerperio y días posteriores, se completa la involución uterina, aumentan la liberación de FSH-LH con el consiguiente desarrollo folicular e incremento de los estrógenos.

Noakes, D. y col., 2001, informan que el estímulo físico del amamantamiento suprime la actividad sexual cíclica, pero muchas cerdas pueden mostrar un celo anovulatorio dos días después del parto.

-INTERVALO DESTETE-CELO

La lactancia y el amamantamiento bloquean la actividad sexual cíclica de la hembra. Al realizar el destete, si la cerda está bien alimentada y sana, entrará en celo 3 a 8 días más tarde (5 días en promedio). En un ensayo realizado por Weitze, K., y col., 1994, en Alemania, con 483 cerdas destetadas, se pudo cuantificar detalladamente el intervalo destete-iniciación del celo, duración del estro y momento de la ovulación, efectuando detección de celo tres veces por día, con la ayuda de un verraco marcador y ecografía transcutánea. Las conclusiones a que arribaron estos investigadores, pertenecientes a la Facultad de Medicina Veterinaria de Hannover y a la Estación Experimental de Hülseberg se detallan a continuación:

.la cantidad de días que se extiende el intervalo destete-celo tiene una correlación negativa con la duración del estro según se indica en el cuadro 15

Cuadro 15: El intervalo destete-celo y su relación con la duración del estro (Adaptado de Weitze, K. y col., 1994)

Intervalo destete-celo en días	Duración del celo en horas
3 - 4	72
5	48
6 o más	24

- .el 80% de las cerdas tuvieron celo dentro de los tres a cinco días posteriores al destete
- .en el 99,6% de las hembras la duración del celo fue de 32 a 96 horas y sólo dos mostraron celos mayores de cuatro días;
- .en 427 cerdas, el 88,4%, se pudo determinar el comienzo y finalización del celo más el momento en que ocurrió la ovulación, según se indica en el cuadro 16
- .ninguna cerda ovuló después de la finalización del celo

Cuadro 16: Distribución del intervalo inicio del celo-ovulación (Adaptado de Weitze, K. y col., 1994)

Intervalo inicio del celo-ovulación en horas	Porcentaje
<24	0.3
24	7.3
32-56	82.4
64-96	9.5
>96	20.5

CAPITULO 6: DETECCION DE CELO Y MOMENTO OPORTUNO PARA LA I.A.

DETECCION DE CELO

El signo más importante para individualizar a una cachorra o a una cerda en celo, es el reflejo de inmovilización en respuesta a la monta de un padrillo, de una hembra o de una persona. En efecto, las cachorras o las cerdas en celo permiten que se haga presión manual sobre su lomo e inclusive aceptan que el operador se siente sobre ellas o las monte a modo de jinete, según se puede apreciar en las figuras 42 y 43, respectivamente. Esta operación se facilita si se le permite a la cerda oír gruñidos, oler o ver a un verraco. Al respecto, los investigadores franceses Signoret, J. y Du Mesnil Du Buisson, F., 1961, citados por McGlone, J. y Pond, W., 2003, comprobaron como diferentes características sexuales secundarias del macho, más aún la presencia de éste, estimulan a la cerda en celo facilitando su individualización con el test de inmovilidad o del jinete según se aprecia en el cuadro 17. Se considera que este reflejo de tolerancia lo presenta el 80% de las hembras en celo, siendo más fácil realizarlo en las cerdas adultas que en las cachorras.

Cuadro 17: Porcentaje de hembras en celo que muestran el reflejo de inmovilidad de acuerdo a diferentes estímulos. (Adaptado de Signoret, J. y DuMesnil Du Buisson, F., 1961, por McGlone, J y Pond, W., 2003.)

Estímulo	Porcentaje con reflejo de inmovilidad
Presión manual dorso lumbar	48
Sonido con gruñido del verraco	70
Olor de la secreción prepucial	80
Olor de la secreción prepucial y gruñido	90
Olor, gruñido y observación del verraco	97

Willemse, A. y Boender, J., 1966, citados por Johnson, L. y col., 1982, consideran que, en presencia del macho, el celo tiene dos períodos, de acuerdo a la aceptación o no de la cerda del test de tolerancia a la monta o prueba del jinete. Sostienen que en dos tercios del estro la hembra permite la monta del operador y del verraco, pero en el tercio restante sólo acepta que la monte el padrillo. Para describir con más claridad y precisión a este concepto, subdividen al celo en seis segmentos: B1, al comienzo del estro, acepta sólo la monta del macho; I1, I2, I3, I4, acepta la monta del operador y del padrillo; B2, al final del celo, solo acepta la monta del verraco.

Para facilitar el manejo y la eficiencia de la detección de celo, utilizando el test de inmovilización o del jinete, el método más seguro para individualizar hembras en condiciones de ser inseminadas, diversos autores, entre otros, Belstra, B., y col., 2001; Estienne, M. y Harper, A. 2009; Pallás Alonso, 2015; Williams, S., 2015; Williams, S., 2016; recomiendan:

.utilizar verracos, mayores de 12 meses de edad; si hay contacto directo, en piquetes, entre machos y hembras, es adecuado que los padrillos presenten desviación quirúrgica del pene o estén vasectomizados; si bien los menores de un año, son de tamaño más pequeño, por ende de menor peso corporal y facilitan el manejo, son menos eficientes para estimular el reflejo de inmovilidad a través del contacto y el olor; se necesitan verracos adultos que eliminen, por orina y saliva, cantidades importantes de las feromonas 3a androstenol y 5a

androsteno; éstos componentes son producidos, con posterioridad a los seis a ocho meses de edad, por las glándulas salivales submaxilares, glándulas sudoríparas dorsales y las glándulas carpianas,

- .evitar el sobrepeso en los padrillos, sólo necesitan cubrir los requerimientos de mantenimiento y crecimiento, la acumulación de grasa y el letargo disminuyen la potencia sexual o líbido
- .detectar celo dos veces por día, con un intervalo de 12 horas, antes del suministro de la ración o como mínimo una hora después; en los grandes criaderos utilizar dos verracos simultáneamente por la mañana y otros dos por la tarde; la mayor oferta sexual estimula la respuesta, no todas las hembras prefieren el mismo macho
- .emplear para detectar celo como mínimo dos operadores, uno para limitar el recorrido de los verracos y el restante para observar signos de la aproximación del celo e individualizar a las hembras para inseminar efectuando el test del jinete; en la figura 44 se muestran como se van presentando, en forma secuencial en cachorras y cerdas adultas, los signos preliminares del celo como edema y enrojecimiento de la vulva, finalizando con el test de tolerancia a la monta o del jinete; el o los machos deben ir por el pasillo de alimentación, limitando su movimiento a través de sistemas de compuertas, por intermedio de un arnés unido a un robot que va por delante manejado a control remoto, carros transportadores o simplemente derramando pequeñas cantidades de comida en las proximidades de las jaulas, que además de demorar el paso por el consumo, facilitará el contacto nariz con nariz;
- .permitir el contacto directo con el verraco, por algunos minutos, a un número reducido de hembras; el efecto del macho no va más allá de cuatro a cinco jaulas; en las hembras destetadas un metro de separación entre éstas y el macho es suficiente
- .evitar el cansancio de las cerdas por excesivas montas, dado que desaparecerá el reflejo de inmovilidad por varias horas por fatiga muscular, dado la contracción isométrica de la musculatura y el bloqueo de los centros nerviosos cerebrales; el contacto con el macho desencadena el reflejo de inmovilidad en los primeros 15-20 minutos, luego hay un período refractario de un cuarto a media hora en el cuál la hembra no responde
- .alojar al verraco retajo en un lugar alejado del que se encuentran las hembras. Esta medida de manejo provocará en las cerdas en celo, al tomar contacto con el macho, una mayor respuesta al reflejo de inmovilidad.
- .en los establecimientos que alojan a las cachorras y cerdas en jaulas individuales, resulta imposible el contacto directo con el verraco. Recomiendan que un operario, mueva lentamente al macho marcador en frente de la jaula, mientras otra persona realiza la presión manual en el lomo de la hembra. La que está en celo se queda quieta, por el contrario las que no están en el período de estro tienden a escapar hacia delante
- .construir, en la medida de lo posible, un área de detección de celos y un área de destete cubrición, con locales cerrados donde se concentran todos los machos, lo que proporciona: 1. mayor oferta sexual; 2. mayor concentración de olor y feromonas; 3. mayor estimulación de la hembra; 4. poder inseminar en el momento de mayor aceptación evitando los períodos refractarios
- .evitar producir errores en el manejo de la detección de celo; los más comunes son: 1. realizar la detección de celos sólo con verracos, si el operador no está presente para identificarlas, de nada sirve ésta alternativa; 2. detectar en forma intermitente tanto en lo que se refiere a la frecuencia, regularidad e intensidad; 3. realizar la detección del celo sin la presencia del verraco o con un número insuficiente de machos; 4. efectuar la detección de celo recién a partir del tercer día postdestete; 5. mantener en forma prolongada en contacto directo al verraco con las hembras, sobre todo en las nulíparas, hay que aprovechar el efecto sorpresa; 6. manejar grupos muy grandes para seleccionar hembras para inseminar lo que ocasiona: -dificultad para ver las hembras en celo; -provocar que el macho se intimide; -impedir la correcta detección de celo de las hembras más sumisas por la acción intimidatoria potenciada de las cerdas dominantes
- .fijar altos objetivos que se puedan lograr, no utopías irrealizables que desmotivan; el 80% de las cerdas destetadas tienen que ser detectadas en celo en 3-4-5 días y el 88% del celo al sexto día; las que ciclan con intervalos destete- celo más prolongados son las de menor fertilidad

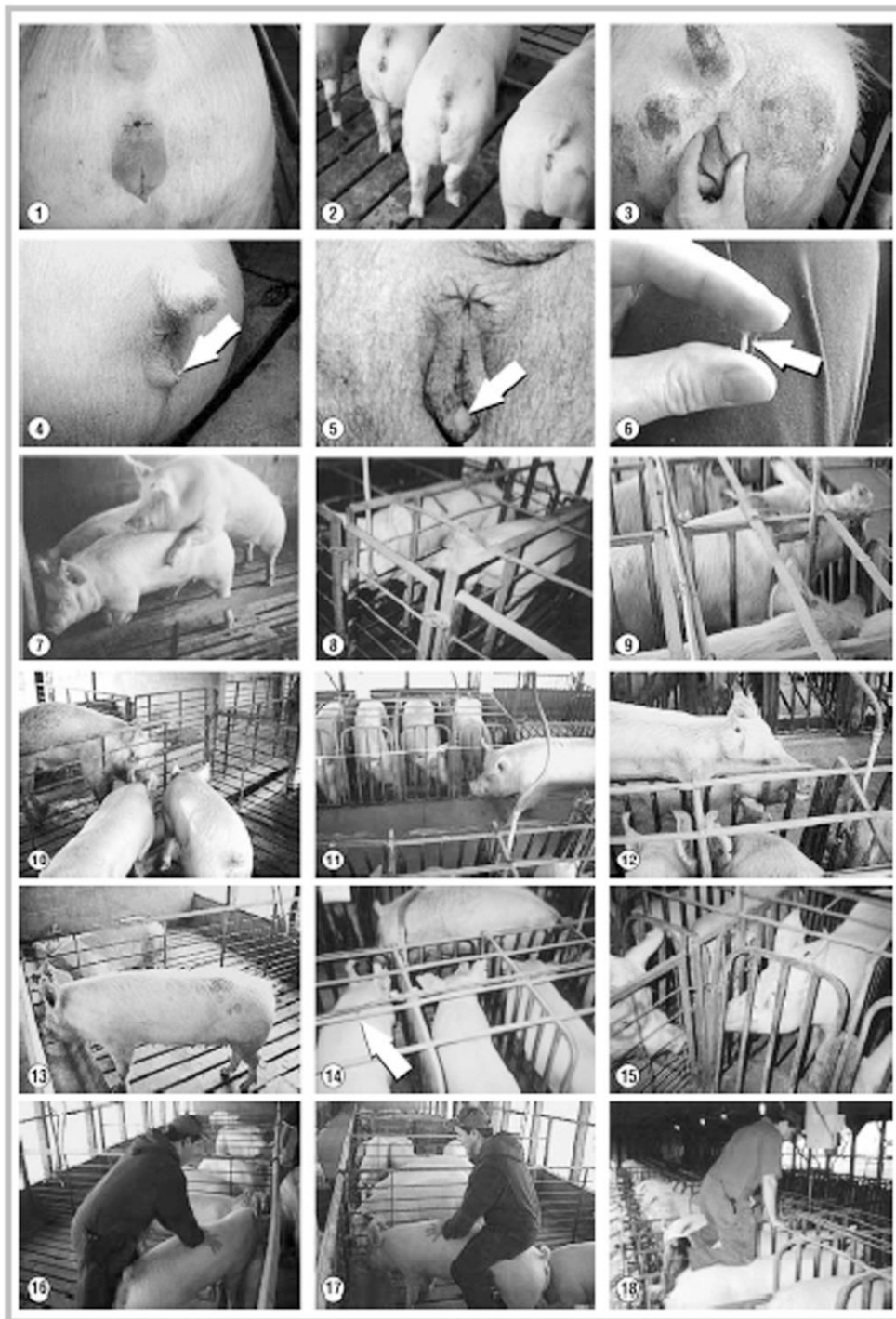
Figura 42: Reflejo de tolerancia, la cerda en celo permite que el operador se siente sobre ella. (Cañete, L., 2006)



Figura 43: Reflejo de tolerancia, test del jinete. (Cañete, L., 2006)



Figura 44: Patrones de comportamiento, signos de aproximación e imágenes del celo en cachorras y cerdas adultas. (Belstra, B., y col.,2001)

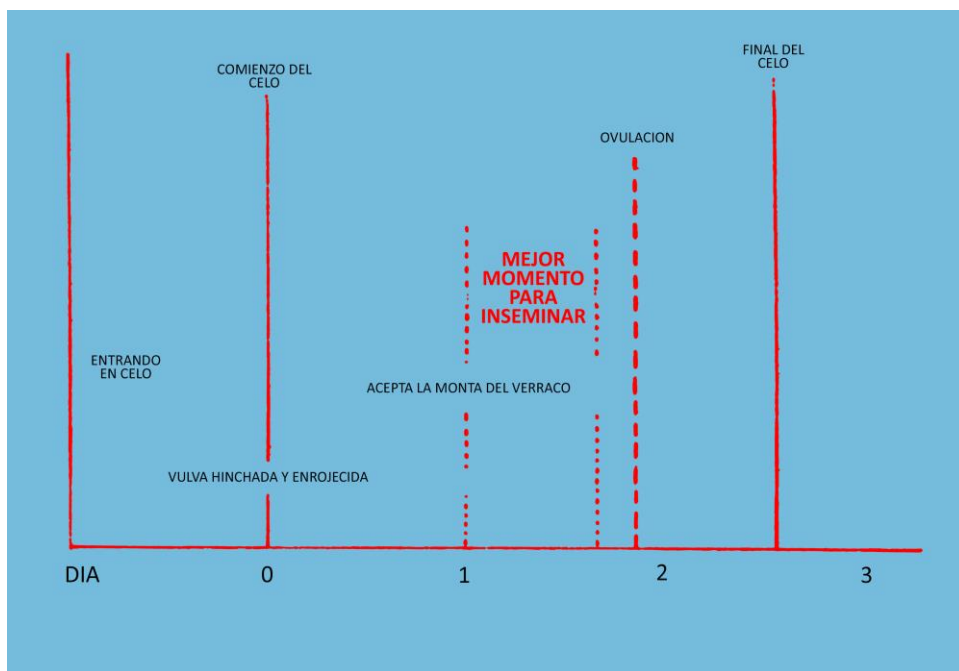


(1-2). Inflamación y enrojecimiento de la vulva en cachorras; (3) enrojecimiento de la mucosa vulvar en cerdas; (4-5) Descarga vaginal mucosa en cachorras y cerdas; (6) Test de elasticidad o del pulgar de la descarga mucosa vaginal; (7) Actividad de monta en piquetes al comienzo y al final del celo; (8-9) Las que están en jaulas intentan morder o montar a sus vecinas; (10-15) Búsqueda del padrillo de las cachorras y cerdas alojadas en piquetes o jaulas; (16) Aceptación de la presión manual en el dorso; (17-18) Test de inmovilidad o del jinete

-MOMENTO OPORTUNO PARA DAR SERVICIO

Se considera que el mejor momento para dar servicio a una cerda es el 2º día del celo, 6 a 12 horas antes de ocurrir la ovulación, si se insemina con semen fresco-refrigerado, o a las 4-6 horas previas si la siembra es con semen congelado dado su menor viabilidad. La estimación de la duración del celo y por consiguiente la ovulación, teniendo en cuenta el intervalo destete-celo, es una estrategia de manejo adecuada para programar el momento más adecuado para inseminar. Roca, J. y col., 2006, sugieren que el desarrollo de bío-sensores para poder detectar la ovulación espontánea, puede ser una herramienta muy útil en la aplicación de la I.A. Los ovarios ovulan de 10 a 30 óvulos y tardan de 30 a 45 minutos, en llegar al oviducto a la unión del tercio medio y superior donde se produce la fecundación. Las mejores chances para concebir se presentan cuando los óvulos, recién liberados por los ovarios, toman contacto con los espermatozoides ya capacitados en el oviducto. En la figura 45 y en el cuadro 18 se pueden observar detalles al respecto.

Figura 45: Momento adecuado para dar servicio (Dalrymple, J., 1979)



Cuadro 18: Porcentaje de óvulos fecundados considerando el momento en que se realizó la I.A. (Hancock, J. & Hovell, G., 1962, citado por McDonald, L., 1971)

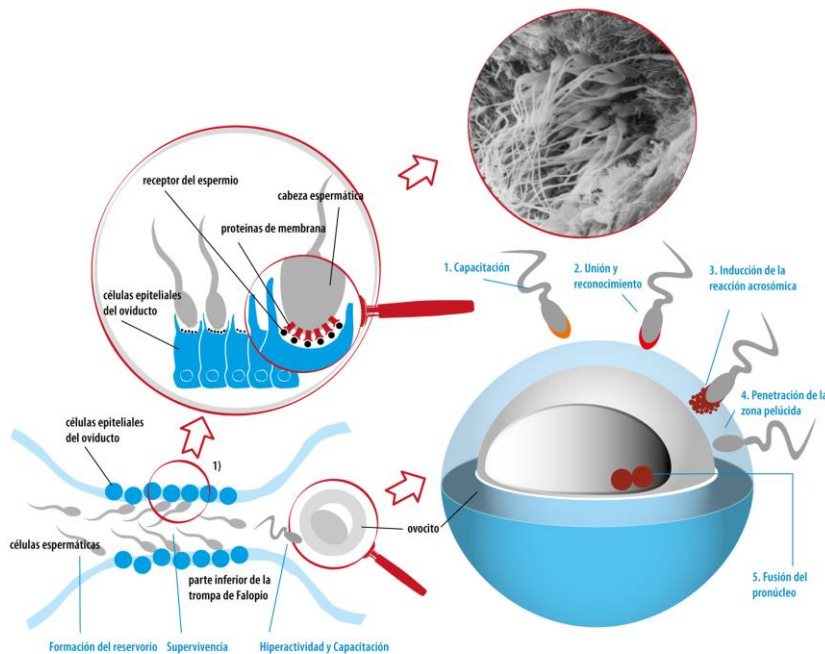
Momento de efectuar la I.A	Porcentaje de óvulos fecundados
Un día antes del celo	10
Primer día del celo	70
Segundo día del celo	98
Un día después del celo	15

El mejor momento para dar servicio está determinado por los siguientes factores:

- 1) debido a la longitud de los cuernos uterinos los espermatozoides tardan 30 minutos en llegar al oviducto. El transporte de los zoides, al tercio inferior del oviducto, es posible por las contracciones uterinas y el movimiento de las trompas de Falopio.
- 2) Antes de poder fecundar al óvulo el espermatozoide debe capacitarse en el aparato genital de la hembra. Este fenómeno dura de 3 a 6 horas. En la figura 46, citada por Simmet, C., 2015, diagramada por Töpfer-Peterson, E., de la Fundación Tiho-Hannover, se pueden apreciar los fenómenos biológicos que ocurren desde la llegada de las gametas masculinas al tercio inferior del oviducto: la formación del reservorio espermático; la protección de las células epiteliales de la mucosa oviductal a los espermatozoides, a través del contacto de las proteínas de la membrana celular de los zoides con los receptores espermáticos de las células epiteliales del oviducto; la capacitación, la reacción acrosomal y la fusión de los zoides con el ovocito. En consecuencia, es imprescindible que el diluyente empleado para la conservación del semen proteja la motilidad espermática, la función de la membrana plasmática y la integridad del acrosoma.
- 3) El período fértil del espermatozoide en el oviducto es de 24 a 48 horas.
- 4) La ovulación ocurre 8 horas antes de finalizar el celo.
- 5) La vida del óvulo, después de la ovulación, es relativamente corta, aproximadamente de 6 a 8 horas.

Figura 46: Reservorio espermático, capacitación, reacción acrosomal y fecundación. (Töpfer-Peterson, E., citado por Simmet, C., 2015)

Fisiología de la Fertilización



La I.A. realizada 6 horas antes de la ovulación o a las 24 a 30 horas de aceptar la primera monta tiene la mayor probabilidad de lograr una gestación exitosa. Por el contrario, si la I.A. se efectúa con posterioridad a las 40 horas de iniciado el celo, la corta vida de los óvulos reducirá significativamente la fertilidad y el tamaño de la camada. Otro error de manejo que disminuye la cantidad de lechones por cerda parida o inseminada es cuando la I.A. se realiza antes de iniciado el celo o al comienzo del mismo. En este manejo incorrecto, la consecuencia de la infertilidad se produce porque muchos óvulos se fertilizan con espermatozoides envejecidos, lo que traerá por consecuencia un incremento de las muertes embrionarias.

Como regla práctica se recomienda detectar celo por la mañana y por la tarde. Las cerdas observadas en celo a la mañana se inseminarán a última hora de la tarde y por la mañana siguiente. Las detectadas en celo a la tarde se inseminarán a la mañana y a la tarde del próximo día. Dos inseminaciones por celo representan un 25% más lechones logrados (König, I., 1979).

CAPITULO 7: OBTENCION DE UN RETAJO POR METODO QUIRURGICO

En nuestras condiciones de cría se recomienda, con el fin de facilitar el manejo y evitar la copulación, efectuar la detección de celo con un verraco retajo, al que se le ha desviado lateralmente el pene en forma quirúrgica. Para lograrlo, se describe a continuación la técnica quirúrgica desarrollada por Colautti, G., 1981, de la EEA Pergamino, INTA, más los cuidados postoperatorios y el manejo del adiestramiento:

Drogas e instrumental quirúrgico

Tranquilizante: Azaperona (neuroléptico específico para cerdos), dosis 3-4 mg./kg. (Previa atropinización) por vía intramuscular profunda.

Anestésico local: Xilocaína, novocaína u otros.

Coagulante.

Antisépticos.

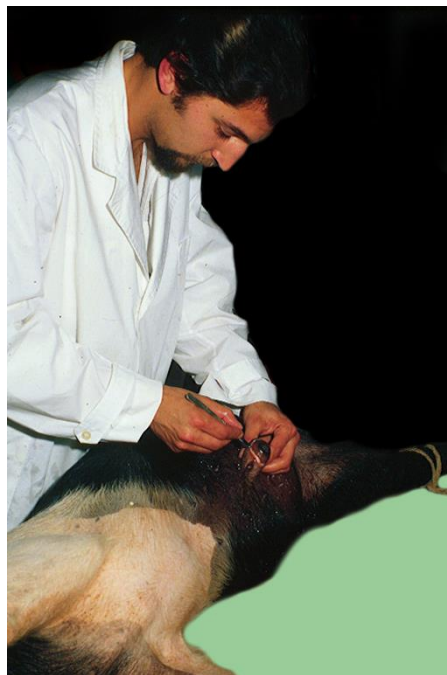
Instrumental quirúrgico: bisturí; pinza de hemostática; tijera punta roma; aguja de sutura; catgut n° 0 de resorción lenta.

Técnica quirúrgica

Para su mejor comprensión se dividirá la técnica en siete etapas:

- 1- Tranquilizar al animal, inmovilizarlo en decúbito dorsal, e inyectar anestésico local en toda la línea de incisión, este último paso puede evitarse según el grado de anestesia logrado por la azaperona.
- 2- Luego de rasurar la zona, se incide a lo largo de 15 cm. la piel del abdomen y al llegar al orificio prepucial, se hace una circunferencia de 3 cm. de diámetro. (Figura 47).

Figura 47: Incisión en forma circular de tres centímetros de diámetro alrededor del orificio prepucial. (Colautti, G., 1981)



- 3- Se procede a separar el divertículo prepucial de la piel. Este etapa es la más delicada, pues se debe evitar incidir ambas estructuras que están íntimamente adosadas por tejido conjuntivo y grasa. (Figura 48).

Figura 48 : Separación del divertículo prepucial de la piel. (Colautti, G. 1981)



- 4- Se practica una incisión circular, en cualquiera de los dos lados, por fuera de la línea de pezones, el diámetro debe ser también de 3cm. Para tomar como referencia se puede incidir entre el pezón inmediato posterior al orificio prepucial natural y el que le sigue hacia caudal. (Figura 49)

Figura 49: Incisión circular de 3 cm. de diámetro, entre el pezón inmediato posterior y el que le sigue hacia caudal. (Colautti, G., 1981)



- 5- Con una tijera roma, o bisturí, (se adapta mejor) se divulsiona el tejido laxo que se interpone entre el orificio circular y la incisión en la línea media. De esta forma queda un canal por donde se

introduce el prepucio haciendo coincidir el círculo de piel adosado al mismo, con el orificio lateral. (Figura 50)

Figura 50: Sutura del círculo de piel adosada al prepucio con el orificio lateral. (Colautti, G., 1981)



- 6- Asepsia de los tejidos intervenidos con antisépticos iodados o amonios cuaternarios.
- 7- Sutura de la piel. Es prioritario hacerlo primero en la circunferencia lateral, para restaurar en el menor tiempo posible la circulación sanguínea del injerto. Se necesitan 8 a 10 puntos separados. La incisión recta se sutura con surget simple dejando un drenaje en el límite anterior.

Postoperatorio

Antiinflamatorios enzimáticos o en su defecto otro “no corticoide”. Reposo hasta comprobar cicatrización total. En todos los casos se observó inflamación que se prolongó por 10 o 15 días, este proceso se instala en el sitio que ocupa el trasplante por reacción del tejido conjuntivo de cicatrización. Este inconveniente se evita en cierta medida con antiflogísticos.

No se produce prolapso de la mucosa refleja del prepucio. Los animales adultos comienzan a trabajar a partir del decimoséptimo día de la intervención.

Adiestramiento

Se debe procurar que primeros contactos del retajo sean con hembras en celo, para que identifique las características sexuales secundarias (olores, comportamientos, etc.). Es importante que la persona que lo controle durante el trabajo retire la hembra en celo del box o piquete donde esta se encuentra, para evitar el cansancio, y en algunos casos pérdida momentánea del deseo sexual. En la figura 51, se puede apreciar al retajo, ocho meses más tarde de ser operado, realizando la monta de una cachorra en celo. Obsérvese como el pene erecto, al estar desviado lateralmente impide la realización de la cópula.

Figura 51: Retajo con desviación quirúrgica lateral del pene realizando la monta de una cachorra en celo.



CAPITULO 8: TECNICAS DE SIEMBRA

Sólo se aplicaba el método convencional intracervical hasta fines de la década del 90, en que investigadores españoles, particularmente los de la Universidad de Murcia, desarrollaron nuevas técnicas para depositar el semen en el cuerpo del útero y más profundo aún en las proximidades de la unión útero-tubárica. Estas metodologías permiten reducir significativamente la cantidad de espermatozoides por dosis sin afectar la eficiencia reproductiva. Esta condición favorece en gran medida a los Centros de I.A.P. dado que les permite incrementar la producción de dosis seminales, aumentar la presión de selección y por consiguiente reducir los costos de producción haciendo más eficiente el negocio. No obstante, De Alba Romero, C., 2013, considera que hay las siguientes limitaciones para reducir la cantidad de células espermáticas por dosis: 1. la hembra porcina no es muy eficiente en el transporte espermático, 2. en la granja el manejo reproductivo y la técnica de I.A deben ser óptimos, 3. hasta el arribo del CASA, las técnicas de evaluación de semen no son objetivas, ni precisas para asegurar la cantidad necesaria de espermatozoides para lograr una correcta eficiencia reproductiva.

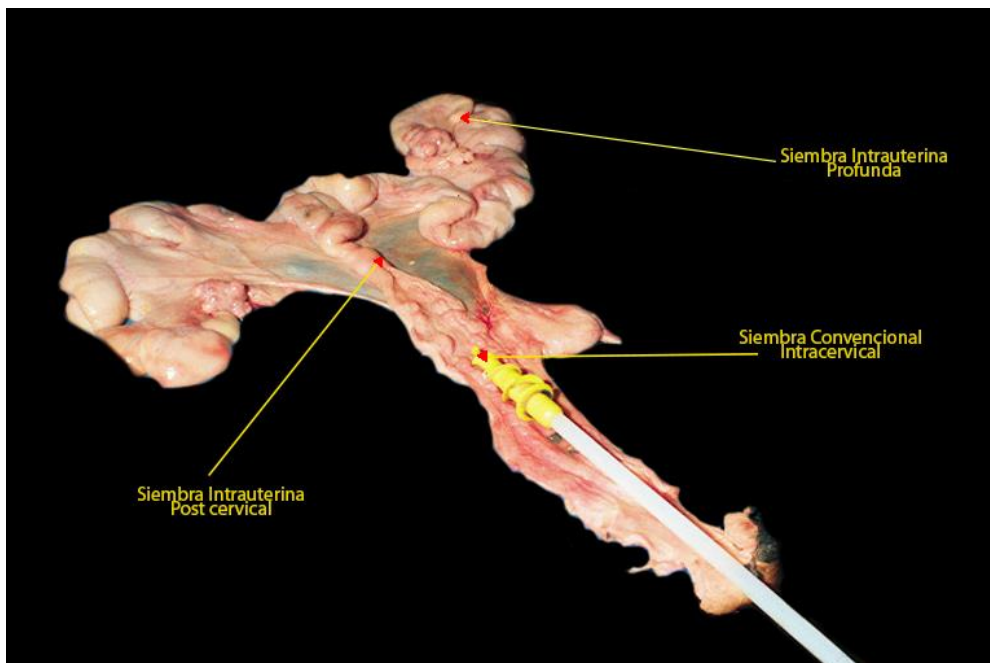
De acuerdo con Decuadro-Hansen, G., 2004; De Alba Romero, C., 2013, según el lugar del útero en que se deposita el material seminal, que se puede apreciar en la figura 52, existen las alternativas detalladas a continuación, indicando además el volumen, la cantidad de espermatozoides que se utilizan por dosis, y la longitud del dispositivo empleado para inseminar:

-I.A. convencional intracervical: es la técnica de rutina, la descarga del semen diluido, 70 a 100cc, con 2000 a 4000 millones de espermatozoides, por dosis, se realiza en la parte anterior del cuello uterino con sondas reutilizables o descartables de 54cm de longitud. El largo aproximado del cateter es de 54cm

-I.A post o transcervical: el material seminal diluido, 30 a 50cc, con 1500 millones de células espermáticas, por dosis, se deposita por vía no quirúrgica en el cuerpo del útero, por medio de una cánula que sobresale 15 a 20cm del interior de un cateter de inseminación artificial, espuma de goma, multianillas o espiral, que se fija en el cuello del útero. La longitud del cateter y la cánula es de 73cm

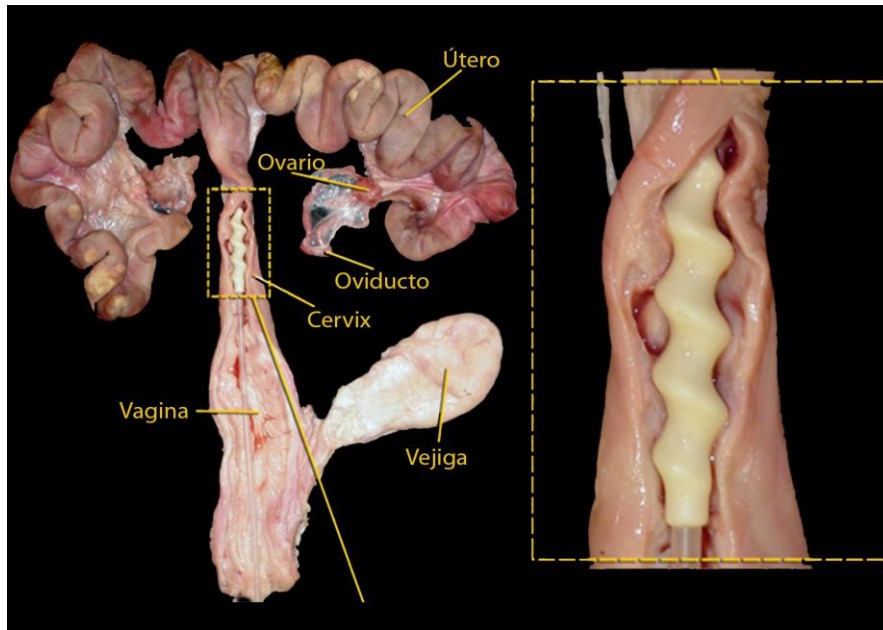
-I.A. intra-uterina profunda: el semen diluido, descongelado o sexado, 5cc, con 10 a 100 millones de zoides, se siembra en los cuernos uterinos, lo más alejado posible del cervix, tan próximo se pueda de la unión útero-tubárica. La longitud aproximada del cateter y la cánula es de 148cm.

Figura 52: Técnicas de siembra del material seminal



- I. **Siembra convencional intracervical:** la siembra del material seminal se realiza en el cuello uterino, principalmente con catéteres que tienen su cabezal en forma de espiral, según se indica en la figura 53. En la cual, se puede apreciar además, una imagen del aparato genital de la cerda, con una incisión longitudinal en el cuello del útero para observar con mayor claridad el lugar correcto donde se debe colocar la porción espiralada del cateter. La técnica es muy simple, dado que el cervix se continúa con la vagina sin proyección intravaginal, por consiguiente no hay formación de fondos de saco, entre el cuello del útero y el extremo anterior de la vagina como ocurre en la hembra bovina.

Figura 53: Siembra convencional intracervical (Estienne, M. y Harper, A., 2009)



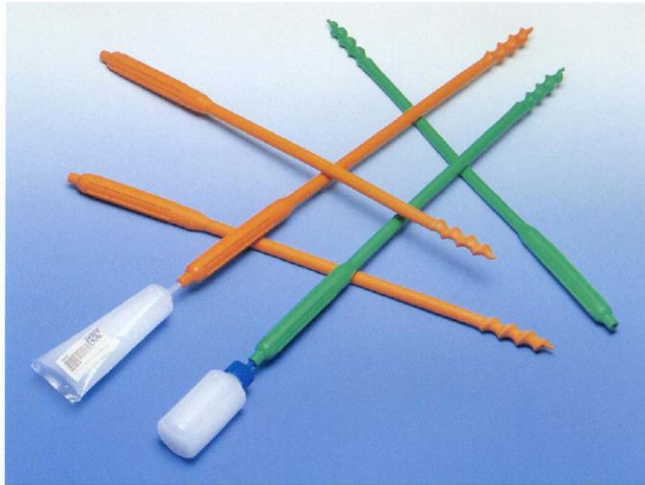
-Tipos de catéteres: Para realizar la siembra convencional hay una diversidad de modelos de catéteres, reutilizables y descartables. Los más comunes y las técnicas de siembra del material seminal se describen a continuación:

a) **Pipeta reutilizable de Melrose:**

Es una réplica del pene del verraco. En la figura 54, se puede apreciar que tiene un extremo anterior espiralado o en forma de sacacorcho que se coloca en el cervix y se adapta perfectamente, como en el servicio natural, al sinuoso cuello uterino de la cerda. En la parte posterior engrosada del catéter se adosa la punta cónica del recipiente plástico descartable que contiene el semen.

Las pipetas de Melrose, son catéteres reutilizables, recomendados únicamente, para aquellos establecimientos que tienen dificultades para conseguir con regularidad las descartables. Las anaranjados, son fabricados con latex de gran resistencia, cuya durabilidad supera los dos años. Existen, además los de color verde, elaborados en base a un elastómero plástico, son más flexibles y también muy resistentes. Poseen una pequeña esfera, en la punta de la porción espiralada, para facilitar el cateterismo del cuello uterino y disminuir los riesgos de producir lesiones en la mucosa del canal cervical, por las asperezas que se producen como consecuencia de las sucesivas esterilizaciones. En la figura 55 se muestran los dos modelos de catéteres reutilizables Melrose que eran fabricados por Minitübe, en Tiefenbach, Alemania.

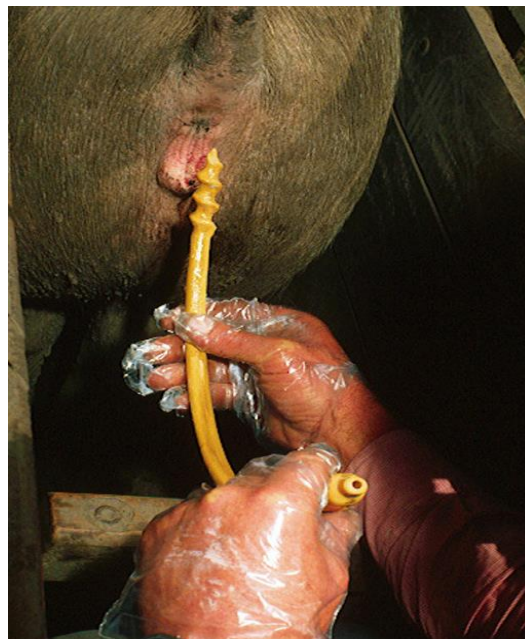
Figura 54: Pipetas reutilizables, tipo Melrose, anaranjadas y verdes. (Minitüb, Tiefenbach, Alemania)



Para realizar la técnica de siembra, se deben aplicar las maniobras que se detallan a continuación:

- Limpiar los labios de la vulva con papel higiénico o elementos de papel descartables como toallitas o servilletas.
- Sostener la cola con los dedos meñique, anular y mayor; usar el pulgar y el índice para abrir los labios de la vulva.
- Asegurarse que la pipeta esté limpia y seca.
- Lubricar con vaselina, excepto en el orificio de salida del semen. Bajo ninguna circunstancia se debe intentar lubricar el catéter con el material seminal diluido, dado que no se lubrica y se producen pérdidas significativas de espermatozoides.
- Torcer el catéter en su punto medio de manera que los dos extremos apunten hacia arriba, tal como se muestra en la figura 55
- Introducir la pipeta hacia arriba y adelante, apuntando al centro de la columna vertebral de la cerda.
- Nunca se debe dirigir la pipeta hacia abajo porque es muy posible que penetre la vejiga.

Figura 55: Curvatura que se le debe dar al catéter



- Cuando el catéter alcance la entrada del cuello uterino, se percibirá una obstrucción. Con los dedos índice y pulgar girar la pipeta hacia la izquierda (en dirección contraria a las agujas del reloj) hasta colocarla en el cuello uterino. *Esto se percibe porque la pipeta no puede girar más, si se la deja libre gira hacia la derecha una vuelta completa, y al intentar retirarla hacia atrás suavemente no se puede porque la porción espiralada está enroscada en los pliegues circulares del cuello uterino.* Este cerrojo impide que el semen caiga por los labios de la vulva.
- Sostener la pipeta con los dedos pulgar e índice y la cola de la cerda con el meñique, anular y mayor. Antes de introducir la pipeta en el cuello uterino, se debe invertir dos o tres veces en forma suave el recipiente plástico descartable, para homogeneizar el semen diluido, según se observa en la figura 56.
- Con posterioridad, hasta realizar la siembra, se guarda el frasco en el bolsillo del pantalón o la camisa.

Figura 56: Homogeneización del semen antes de realizar la siembra



- Sacar el recipiente descartable del bolsillo, adosarlo al extremo del catéter y aplicar presión suavemente para que el semen sea depositado dentro del cuello uterino, según se observa en la figura 57.
- Es fundamental que la siembra se realice lentamente por gravedad, durante un período de cinco minutos, el tiempo que tarda el verraco en eyacular. Está científicamente comprobado que en las inseminaciones donde se ejerce excesiva presión, en el recipiente que contiene el semen con el objetivo de forzar su entrada a las vías genitales de la hembra y acortar el período de siembra, disminuye significativamente la fertilidad.
- Si se observa reflujo de material seminal por los labios de la vulva, se debe interrumpir la siembra y comprobar si la pipeta sigue alojada en el cuello uterino.
- Para facilitar el vaciamiento del frasco, se puede permitir su llenado con aire si se lo desacopla de la pipeta y se lo elimina.
- Desenroscar luego la pipeta girando hacia la derecha (en dirección de las agujas del reloj), hasta que se la pueda retirar sin ninguna dificultad.

Figura 57: Técnica de siembra



-Eliminar, con papel higiénico o toallitas descartables de papel, los restos de moco y vaselina, de acuerdo a lo que se observa en la figura 58.

Figura 58: Eliminación de restos de moco y vaselina con toallitas descartables



-Lavar la pipeta con agua fría a presión, introduciendo la parte superior del catéter en el interior de la canilla, tal como se muestra en la figura 59. *Nunca se debe utilizar desinfectante, jabón o detergente.*

Figura 59: Modo de lavar la pipeta de Melrose con agua a presión



-La esterilización puede ser realizada artesanalmente, hirviendo las pipetas con agua durante diez minutos, en una olla tapada, a la cual se le ha colocado en su interior un enrejado de alambre para impedir que las pipetas tomen contacto con el fondo o floten libremente, según se aprecia en la figura 60.

Figura 60: Sistema artesanal para sujetar las pipetas de Melrose en una olla para su esterilización



-Colgar la pipetas en un lugar seco hasta su secado completo, luego guardarlas en una bolsa plástica o en guantes descartables para uso ginecológico en bovinos, tal como se aprecia en la figura 61

Figura 61: Manera práctica y sencilla de conservar las pipetas de Melrose



-La otra alternativa de esterilización, se realiza por medio de hervidores y contenedores metálicos, fabricados en forma industrial, con una capacidad de almacenamiento de nueve, veinte o cuarenta catéteres, como se puede observar en la figura 62.

Figura 62: Contenedores metálicos para nueve, veinte y cuarenta catéteres. Minitüb, Tiefenbach-Alemania

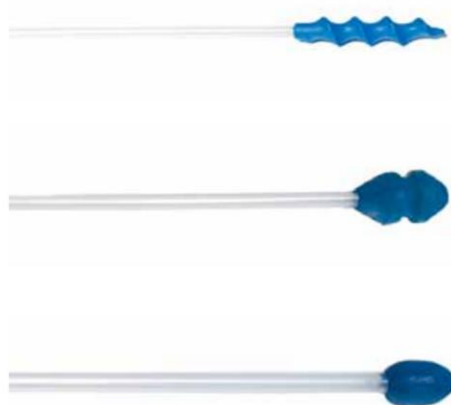


Simmet, C., 2017, informa que Minitüb ha discontinuado la fabricación de los catéteres reutilizables Melrose y sus respectivos contenedores de esterilización. Además, indica que hoy en día prácticamente el 95% del mercado utiliza pipetas descartables. En la misma línea, Decuadro- Hansen, G., 2017, asegura que la pipeta reutilizable de Melrose, ha caído en desuso por razones sanitarias e inclusive por la carga laboral que implica su limpieza y esterilización. Lo mismo ha ocurrido en Argentina, Gabosi, H., 2017; Williams, S., 2017; Vitali, L., 2017, consideran que se dejaron de comercializar, no se utiliza desde hace varios años, siendo reemplazadas por las descartables y que a través del uso de éstas disminuyeron significativamente las descargas vaginales anormales.

b) Pipetas plásticas descartables:

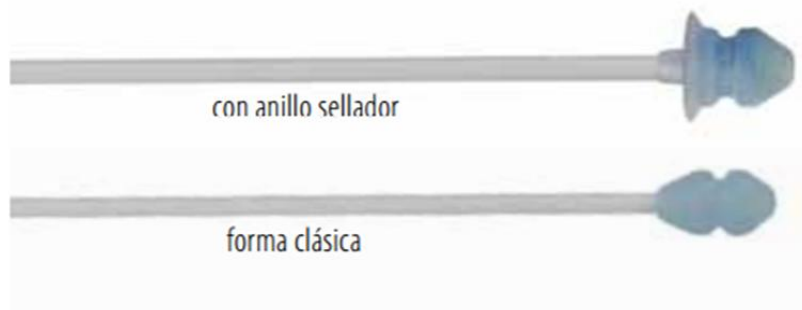
Estos catéteres plásticos descartables, permiten mejorar la higiene y facilitar el manejo. Evitan las posibilidades de contagio por la vía genital, por lo que se recomienda su uso en forma rutinaria y en piasas con problemas sanitarios su empleo es indispensable. Existen varios modelos de diverso tamaño para utilizar, de acuerdo al nivel de desarrollo de la hembra, los más pequeños en nulíparas o primíparas, y los más grandes en múltiparas. Se dispone de catéteres con diferentes cabezales, como se pueden apreciar en las figuras 52 y 63, en forma de espiral; con estrías para fijarse al canal cervical; con forma de aceituna, modelo chino, con la posibilidad de poseer una pieza trasera que facilite el agarre; de forma redondeada, fabricado de una espuma especial no absorbente.

Figura 63: Catéteres plásticos descartables. (Minitüb, Tiefenbach-Alemania)



Simmet, C., 2015, informa que Minitübe ha desarrollado un nuevo sistema de catéteres, con su cabezal, elaborado con un polímero sintético denominado comercialmente “PolyGel”, material de fácil deslizamiento y ajuste perfecto al cuello uterino. Mediante ésta acción, se logra una excelente fijación al cervix con la consiguiente reducción del reflujo durante la I.A. Se presenta en dos modelos, con anillo sellador o en la forma clásica denominada Foamtip, los que se indican en la figura 64.

Figura 64: Catéteres con sistema “PolyGel”. (Minitüb, Tiefenbach-Alemania)



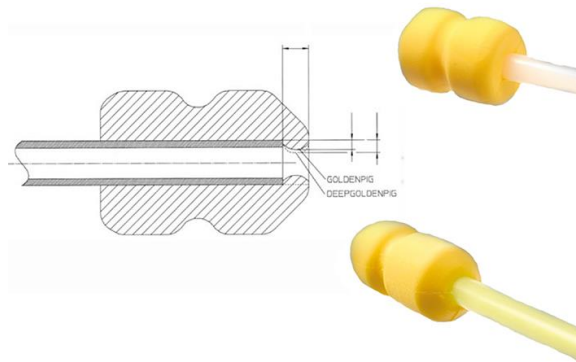
Además, Simmet, C., 2015, recomienda el uso de catéteres estériles, envasados con protección higiénica, dado que evitan la transmisión de bacterias al útero. Este sistema llamado comercialmente “SafeBlue”, mostrado en la figura 65, permite utilizar la vaina plástica protectora durante la introducción del catéter. Sólo cuando la pipeta está dentro de la vagina es empujada fuera del envase que la contiene. De éste modo se elimina la lubricación adicional, una posibilidad concreta de contaminación bacteriana del endometrio. Investigaciones científicas y de campo han permitido comprobar que, con éste sistema de protección higiénica del catéter estéril, se logra un adicional de 30 a 100 lechones nacidos por cada 100 cerdas inseminadas.

Figura 65: Catéteres estériles envasados con el sistema “SafeBlue”(Minitüb, Tiefenbach-Alemania)



En la figura 66 se muestran las dos versiones del catéter Foam Tip, fabricado por IMV Technologies, L’Aigle-Francia, introducida al mercado en 1989 con más de 400 millones de unidades vendidas. Golden Pig para cerdas adultas y Golden Gilt, de menor diámetro, ideal para el tamaño más pequeño del aparato genital de la cachorra. También se observa, en la figura 66, un esquema con el diseño esponjoso que recubre el extremo del catéter, para proteger al cervix y al mismo tiempo asegurar un perfecto cerrojo que disminuye el reflujo.

Figura 66: Catéteres Golden Pig® y Golden Gilt®. IMV Technologies, L’Aigle-Francia



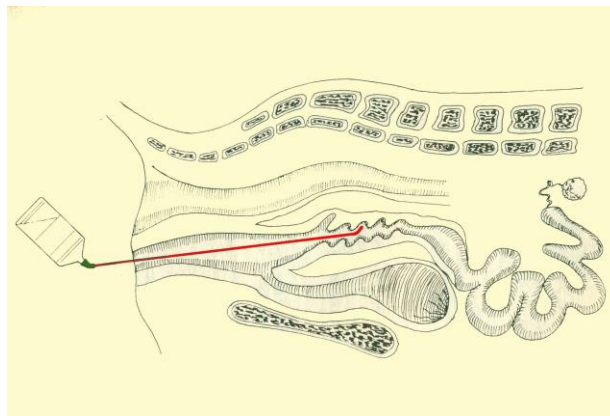
La técnica de siembra es similar a la descrita con anterioridad con las pipetas reutilizables tipo Melrose, pero es fundamental tener en cuenta que tanto la introducción como el retiro del catéter descartable deben realizarse con sumo cuidado para no lesionar la mucosa del cervix.

c) Pipeta plástica acodada

Es un catéter idéntico al utilizado para inseminar en bovinos pero está acodado en un ángulo de 30° en uno de sus extremos, para evitar su introducción en el orificio uretral externo. Para homogeneizar el semen y limpiar la vulva, se procede de la misma forma descrita en la técnica de siembra con la pipeta de Melrose. Posteriormente se procede de la manera siguiente:

- En el extremo recto de la pipeta colocar un intermediario de goma que permita adosar la punta cónica del frasco plástico descartable.
- Abrir los labios de la vulva e introducir la pipeta con el extremo acodado hacia arriba. Se dirige por el techo de la vagina para evitar el orificio uretral externo.
- Dirigir la pipeta hacia adelante aplicando suave presión, hasta sentir los pliegues circulares del cuello uterino.
- Girar la pipeta hacia ambos lados para pasar a través de 2 ó 3 anillos cervicales, sin realizar maniobras bruscas para no producir lesiones.
- Luego de introducir lo más profundamente posible la pipeta, se adosa el intermediario de goma a la punta cónica del frasco plástico y se efectúa la descarga del material seminal tal como se observa en la figura 67
- La siembra se realiza lentamente, debe durar de tres a cinco minutos. No hay que preocuparse si algo de semen cae por los labios de la vulva.
- Al terminar la siembra se descarta la pipeta y el frasco plástico. El intermediario de goma se lava con agua y cuando esta perfectamente seco, se lo puede utilizar nuevamente.

Figura 67: Técnica de siembra intracervical con catéter plástico acodado



-Manejo y estimulación de la cerda durante la I.A. convencional

Pallás Alonso, R., 2015, asegura que no se puede lograr una correcta eficiencia reproductiva, si la hembra no está correctamente estimulada cuando se realiza la I.A. Para realizar cómodamente la siembra, es necesario encerrar a la cerda en un brete sin sujetarla del cuello. Es preferible que la hembra se encuentre lo más tranquila posible. La presencia de un verraco en las inmediaciones, a no más de un metro de distancia, y la presión manual intermitente en el lomo ayudará a tranquilizarla, además de desencadenar los estímulos nerviosos necesarios y la liberación de oxitocina para provocar las contracciones uterinas que transportarán los espermatozoides al oviducto. La actividad del miometrio en la cerda se incrementa durante el celo. Esta es de origen biogénico, no obstante varios factores afectan la actividad del miometrio. Langendijk, P. y col., 2005, informan que la monta natural estimula las contracciones uterinas por varios mecanismos:

- la presencia del macho, más que el acto de la monta en sí, induce la liberación de oxitocina

- los estrógenos, en el eyaculado del verraco, estimulan la liberación de PGF2 α por el endometrio.

Indican además, que los efectos de las feromonas sintéticas del verraco, aplicadas mediante un spray, sobre la liberación de oxitocina y la actividad uterina son inconsistentes. La estimulación hormonal intrauterina con estrógenos, prostaglandinas u oxitocina, durante o después de la I.A, incrementa la tasa de fertilidad. Por lo tanto, consideran que las contracciones uterinas juegan un rol muy importante en el transporte espermático hacia el oviducto, si bien no está claro aún si son absolutamente necesarias. También, es fundamental tener presente, que un exceso de estimulación hormonal de la actividad del miometrio puede reducir la tasa de fertilidad por un incremento del reflujo del semen durante la I.A. Concluyen que lo más adecuado para estimular las contracciones uterinas al realizar la I.A, en particular en las cerdas con bajo nivel de contractilidad del miometrio, es la presencia del macho. La estimulación del verraco en la hembra, dura alrededor de una hora, pero es de máxima intensidad en los primeros 20 minutos de contacto con el macho, porque luego comienza a descender abruptamente hasta llegar a un período refractario. Por este motivo, Pallás Alonso, R., 2015, recomienda realizar la técnica de siembra convencional, entre los 5 y 20 primeros minutos de contacto con el verraco. Además, un correcto manejo de estimulación, facilita la técnica de I.A., ayuda a que el catéter quede perfectamente fijado en el cervix reduciendo el riesgo de reflujo. Recordar que el cervix tiene forma de cremallera y por esta razón anatómica el cuello del útero se contrae alrededor del pene para mantener la erección y provocar la eyaculación. El gran volumen que eyacula el verraco asegura que llegue una cantidad suficiente de espermatozoides al cuerpo del útero y por contracciones del miometrio los transportan, hasta extremos de 150cm, en una zona próxima al oviducto. Las dosis de 100cc del semen diluido también estimulan las contracciones uterinas. Además para disminuir el reflujo del material seminal, la siembra debe realizarse lentamente y con una temperatura similar a la corporal de la cerda, de acuerdo a lo indicado por García Casado, P. y col., 2013. De éste modo, consideran que el calentamiento del semen, inmediatamente antes de inseminar tiene como fundamento intentar que no se desencadenen contracciones del cuello uterino en sentido vaginal. Es una muy buena medida de manejo, apretar y masajear los labios de la vulva mientras se realiza la I.A. para estimular la descarga de oxitocina. Además, el plasma seminal contiene estrógenos que estimulan las contracciones del miometrio por la liberación de prostaglandinas de origen uterino, de acuerdo a lo informado por Claus, R. y col., 1990, citado por Williams, S., 2005.

En Baviera, Minitub ha desarrollado una abrazadera de acero inoxidable, en dos tamaños para cerdas adultas o cachorras, que se coloca sobre el lomo, según se indica en la figura 68. Está diseñada con brazos elásticos de fijación, para ejercer presión en los flancos y estimular a la hembra. Mediante una pieza flexible fija el catéter, lo que permite el movimiento durante la I.A. e inseminar treinta cerdas por hora y por operario. De Alba Romero, C., 2013, considera que en los establecimientos con buena infraestructura y correctamente organizados se pueden inseminar con normalidad cuarenta cerdas por hora.

Figura 68: Abrazadera de acero inoxidable para I.A . Minitüb, Tiefenbach-Alemania



Mediante el mismo fin, Minitüb desarrolló un cinturón ancho de tela y cierre de “abrojo” adaptable, según el tamaño de cada animal, con un soporte para el recipiente plástico que contiene el semen, de acuerdo a lo que se muestra en la figura 69. Estos dispositivos, que fijan el catéter de I.A con la dosis de semen a un nivel por encima de la vulva, permiten que el material seminal se distribuya al aparato genital, por gravedad desde el flexitubo sin necesidad de ejercer presión manual sobre el mismo, siendo fundamental además las contracciones uterinas. Esta metodología de trabajo se denomina “auto-inseminación” o “inseminación a manos libres”. Es necesario destacar que la estructura de las botellas con tapa a rosca impiden el adosamiento

total de sus paredes, tal como sucede con los flexitubos. En las figuras 70 y 71 se pueden apreciar en detalle las características de ambos tipos de envases y los materiales utilizados para su fabricación.

Figura 69: Cinturón de tela y cierre de abrojo para I.A. Minitüb, Tiefenbach-Alemania



Figura 70: Características técnicas del flexitubo Quicktip (Minitüb, Tiefenbach-Alemania)

- Ideal para el semen porcino
- Óptimo manejo en el laboratorio
- Ideal en la inseminación: la punta práctica QuickTip que se desprende manualmente ayuda a efectuar una inseminación rápida, simple e higiénica
- Llenado fácil y preciso a través de la apertura amplia y las marcas de nivel
- Ideal tanto para el envasado automático como manual

60 ml		95 ml	
50 ml	40 ml	90 ml	80 ml
30 ml		70 ml	

Material:
polietileno inocuo para el semen

Paredes flexibles:
para la absorción completa de la dosis por la cerda

Piso del tubo:
particularmente reforzado, el tubo puede estar en posición vertical sobre el catéter

Punta ergonómica y de fácil apertura:
no se necesita ninguna herramienta con los QuickTip tubos

Línea de llenado:
fácil lectura

Forma:
el paso de aire entre los tubos permite un enfriamiento constante de cada dosis de semen en la nevera

Salida:
garantiza la fijación a cualquier tipo de catéter

Paso de aire: (indicated by arrows in the diagram)

Figura 71: Botellas Minitüb con tapas coloreadas



También se incrementa el reflejo de estimulación de la hembra, si se utilizan mochilas con pesas que actúan ejerciendo peso, además de presión, en la zona lumbar y en los flancos. El equipo técnico de Kubus S.A., 2010, recomienda para hacer la I.A. “a manos libres” efectuar la metodología de trabajo que se detalla a continuación:

- realizar el contacto con el verraco hocico-hocico
- colocar la mochila en la zona lumbar, según se aprecia en la figura 72; el peso de la mochila varía de 8 a 10 kg para las cachorras y de 12-14kg en las destinadas a las cerdas adultas.

Figura 72: Estimulación de la cerda con una mochila e I.A con manos libres. (Equipo técnico de Kubus S.A., 2010)



- limpiar los labios de la vulva.
- lubricar el catéter e introducirlo suavemente.
- adosar en el catéter el envase que contiene la dosis de semen, previamente calentada a 35°C.
- sujetar la dosis de I.A. a la cincha.
- perforar la pared del recipiente con la dosis seminal.
- controlar la absorción del material seminal mientras se coloca la mochila a otras cerdas.
- al finalizar la absorción del semen se quita el catéter y se mantiene la mochila sobre la cerda por dos minutos.

El tiempo transcurrido para inseminar una cerda con el uso de mochila y la técnica de manos libres promedia entre cuatro y cinco minutos, con un rango de 1':40" a 10':30", de acuerdo a lo informado por el equipo técnico Kubus S.A., 2010. Además, comunican que en un ensayo realizado con 320 cerdas, en la mitad inseminadas con la técnica de manos libres, tuvieron mejores resultados que las servidas con la I.A. convencional tal como se indica a continuación: -Tasa de parición: 83,75 vs 80,60; -Tamaño de la camada: 10,8 vs 10,5 lechones; -Lechones nacidos por cerda inseminada: 9,0 vs 8,5.

Sin lugar a dudas, la I.A. con manos libres es la técnica más rápida y la que permite lograr mejores resultados, particularmente en las granjas de gran tamaño.

-Reflujo del material seminal

Es muy importante tener presente, aún con una correcta técnica de I.A.P. convencional, incluso con técnicas que superen la barrera del cuello del útero, que siempre hay reflujo del material seminal.

El reflujo del semen diluido, ocurre en el 98% de las cerdas inseminadas con el método convencional intracervical durante el proceso de inseminación, inmediatamente después y un par de horas posteriores a su finalización. Al respecto, en un ensayo realizado por Steverink, D. y col., 1998, se midió el reflujo en 140 cerdas inseminadas con 80 ml de semen diluido, en una mezcla de tres padrillos, y con $1,3 \times 10(9)$ o $6 \times 10(9)$ espermatozoides por dosis. El reflujo fue medido en tres ocasiones: M1, durante la I.A; M2, en el transcurso de la primeros 30 minutos de finalizada la I.A; M3, posterior a los 30 minutos hasta las dos horas y media de concluida la siembra del material seminal.

A todas las hembras se les realizó ultrasonografía transrectal, a intervalos de cuatro horas para determinar el momento de la ovulación.

La totalidad de las cerdas fueron sacrificadas a las $120 \pm 0,4$ horas posteriores a la ovulación para cuantificar la fertilidad.

Las conclusiones a que arribaron estos investigadores del WIAS, de la Wageningen Agricultural University de Holanda fueron:

-El 100% tuvieron algún grado de reflujo en volumen de semen y en la cantidad de espermatozoides, particularmente cuando la pérdida de volumen fue alto.

-El reflujo promedio de semen, en el transcurso de las dos horas y media posteriores a la I.A fue $70 \pm 3,4\%$ en volumen y $25 \pm 1,4\%$ en espermatozoides.

-La concentración espermática del reflujo (% de los espermatozoides inseminados) se reduce a través del tiempo a partir de la aplicación de la I.A en M1, 65%; M2, 40%; M3, 26%;

-La correlación entre volumen y número de espermatozoides fue alta, $r=0,97$, $r=0,81$, $r=0,73$ en M1, M2 y M3, respectivamente.

-Más del 5% de pérdida por reflujo en la dosis de $1 \times 10(9)$ afectó la fertilidad ($P<0,05$).

-El reflujo después de la I.A no afectó la tasa de concepción.

-El momento de la I.A., relacionado con el celo y la ovulación, no tuvo efecto sobre el reflujo.

-Las cerdas de primera parición fueron, las que proporcionalmente, presentaron la mayor cantidad de individuos con reflujo, 47% (8/17), en relación con las de segundo parto, 24% (14/59).

-El reflujo de semen excesivo durante la I.A., tuvo un efecto negativo sobre la fertilidad en las inseminadas con una dosis de $1 \times 10(9)$ espermatozoides.

El transporte espermático, de acuerdo con Hunter, R., 1980, comprende el movimiento pasivo de los zoides en el aparato genital logrado por la contracción de la musculatura lisa del útero y oviducto, sensibilizado por los estrógenos, lo que permite a los espermatozoides alcanzar el oviducto en menos de una hora; se han recuperado zoides, en la mitad superior del oviducto, a los quince minutos de efectuado el servicio y células espermáticas penetrando la zona pelúcida a las dos horas de finalizada la I.A convencional intracervical. Por el contrario la espermomigración está específicamente circunscripta a la motilidad de las gametas masculinas, la cual es fundamental, para la especie porcina, en la unión útero-tubárica y en la fecundación del ovocito.

Para comprender que la viabilidad espermática varía en diferentes segmentos del aparato genital y que el reflujo del material seminal siempre ocurre en el transcurso de un par de horas posteriores a la I.A., Hunter señala al respecto lo que ocurre en el servicio natural:

-a través de la porción espiralada del pene, colocada a modo de cerrojo en el cervix, y por la contractilidad de los músculos lisos del tracto genital del macho, el eyaculado de gran volumen, frecuentemente de 500 ml y $7.83 \times 10(10)$ espermatozoides, con una concentración que varía entre 0.1 a $10 \times 10(8)$ células por ml, es depositado en el cuerpo del útero previo paso por el extremo craneal del canal cervical.

-para evitar la poliespermia y el consiguiente aumento de muertes embrionarias, por una enérgica y potente actividad muscular del istmo oviductal, en el sitio de la fecundación, la unión istmica-ampular, hay sólo 10(2) zoides, mientras que en el lado uterino próximo a la unión útero-tubárica la concentración es de 10(8) zoides por ml

-la viabilidad espermática varía en diferentes segmentos del aparato genital

-los espermatozoides del verraco permanecen vivos no más de 5 horas en la vagina y el cuello del útero, pero pueden sobrevivir 24-48 horas en otros segmentos del tracto reproductivo, hasta 70-72 horas en la región útero-tubárica y en el istmo del oviducto.

-la mayor parte del voluminoso plasma seminal desaparece por reflujo a las dos horas.

-en el útero, se reduce drásticamente la motilidad espermática y aquellos que han evadido la fagocitosis, no son viables por más de 30 horas.

Hawk, H., 1982, considera que en cerdas, con óvulos fecundados, servidas naturalmente o inseminadas con semen refrigerado, la fallas en fertilización promedian el 5%. Estas obedecen a barreras estructurales que impiden la unión del óvulo y el espermatozoide, la incapacidad de los zoides para fecundar al óvulo, o a la infertilidad de la cigota. Sin embargo, este investigador del Agricultural Research Center del USDA-Beltsville, señala que las deficiencias en el transporte espermático en el tracto genital de la hembra, son la principal causa que ocasionan las fallas de fertilización. Estas están asociadas a un número insuficiente o la ausencia de zoides en las proximidades de la ovulación y representan la causa más común en la reducción de la tasa de fertilidad, en animales inseminados en el momento adecuado. Informa además que varios compuestos, cuando son agregados al semen o inyectados a la hembra en las inmediaciones de la I.A., incrementan la tasa de fertilidad al aumentar la cantidad de espermatozoides recuperados posteriormente en el oviducto en las cercanías de la ovulación. El aumento en la tasa de fertilidad es ocasionada por la acción estimulante sobre la contractilidad de la musculatura lisa, que ejerce un rol importante en el transporte espermático hacia el oviducto. También favorecen algunos mecanismos fisiológicos que disminuyen el drenaje de células espermáticas al aumentar la tasa de retención de zoides en el tracto genital. Estas funciones celulares abarcan:

-una mayor adhesión espermática a las células epiteliales de las vías genitales de la hembra.

-más capacidad de los espermatozoides para entrar en los pliegues y criptas de la mucosa del útero y oviducto.

Los compuestos que favorecen el transporte y un menor drenaje espermático incluyen: prostaglandina E¹, prostaglandina F² α , 17 β estradiol, oxitocina, y los neurotrópicos carbacolina, fenil epinefrina y ergonovina.

En la I.A convencional intracervical son fundamentales para obtener un buen resultado y reducir al mínimo las posibilidades de reflujo del material seminal, realizar las siguientes tareas:

-efectuar una correcta estimulación de la cerda.,

-lograr un buen “cerrojo” entre el cervix y el catéter.(*)

-trabajar con paciencia para brindarle el tiempo adecuado a la realización de la descarga seminal, similar a la duración del servicio natural.

Si observa un exceso de reflujo del semen, mientras realiza la siembra, interrumpa la descarga seminal, compruebe de inmediato si el catéter está correctamente colocado y realice las maniobras correctivas que correspondan, para continuar luego con la inseminación.

En síntesis, aplicando una técnica correcta de I.A., de acuerdo con De Alba Romero, C., 2011, que asegure el rápido transporte espermático en 30 minutos al oviducto, con la consiguiente formación del reservorio de zoides en la unión útero-tubárica hace que el reflujo del 70% del diluyente, que ocurre en las tres horas posteriores a la siembra del material seminal, carezca de importancia.

(*)De acuerdo con Gil Pascual, J., 2007, es muy importante tener presente que, el grado de dilatación y penetrabilidad del cervix dependen del momento del celo. Además, menciona que la I.A. realizada al inicio o al final del celo ofrece más dificultades para realizar el cateterismo cervical, requiere más tiempo de ejecución y presenta un mayor volumen de reflujo.

II. Siembra intrauterina post cervical: el material seminal se deposita en el cuerpo del útero por medio de una cánula, de 5mm de diámetro y 20cm más larga que una pipeta convencional, colocada en el interior del catéter que se emplea para inseminar con la técnica intracervical. La cánula es flexible para pasar por el sinuoso canal cervical sin provocar daños en la mucosa. Fue desarrollada por el investigador español Javier Gil Pascual, para intentar evitar la pérdida de semen en las anfractuosidades del cuello del útero, disminuir el reflujo del material seminal, y reducir la acción de los macrófagos por fagocitosis de espermatozoides en el endometrio. Los primeros trabajos de campo fueron publicados en 2002 por Watson, P. y Behan, J., citados por De Alba Romero, C., 2013, utilizando 3240 cerdas distribuidas en cinco granjas, comparando las mismas concentraciones espermáticas con ambas técnicas, convencional intracervical y transcervical en el cuerpo del útero. En este estudio se logró reducir la cantidad de espermatozoides por dosis, de 3000 a 2000 millones, sin afectar negativamente los parámetros de eficiencia reproductiva, lo que permite una utilización más intensa de los verracos de mayor mérito genético. En el cuadro 19, se resumen los 28 ensayos realizados bajo la dirección de Gil Pascual, J., 2007: veinte en España, tres en Tailandia, y uno en Estados Unidos, Francia, Hungría y México, respectivamente., en los cuales se demuestra con creces que es posible reducir significativamente la concentración espermática, inseminando en el cuerpo del útero, sin afectar la tasa de partos y el tamaño de la camada.

Cuadro 19: Resultados comparativos de tasas de partos y tamaño de la camada logradas con la técnica convencional y con la post cervical(*) (Gil Pascual, J., 2007)

I.A. Post Cervical			I.A. Convencional		
Inseminadas	Tasa de partos	Lechones por cerda parida	Inseminadas	Tasa de partos	Lechones por cerda parida
4423	83,09	11,64	4907	82,69	11,60

(*)La distribución de las concentraciones espermáticas, en millones de espermatozoides, utilizadas en los 28 ensayos fueron -con la I.A. convencional: 89% 3000 esp., 7% 5000 esp., 4% 3500 esp.; -con la I.A. transcervical: 57% 1000 esp., 22% 1500 esp., 7% 500 esp., 3,5% 1750 esp., 3,5% 1250 esp., 3,5% 750 esp. y 3,5% 500 esp.

Las secuencias de los pasos a seguir, para realizar la técnica de I.A. Post Cervical, descrita por Gil Pascual, J., 2008, con el catéter- cánula SOFT & QUICK®, Import-Vet, Barcelona-España, se detallan a continuación:

1. Limpiar cuidadosamente, con una servilleta de papel descartable, la vulva de la cerda. (Fig. 73)

Figura 73: Limpieza de los labios de la vulva (Gil Pascual, J., 2008)



2. Retirar el catéter guía-cánula (SOFT & QUICK®) del envase estéril (Fig. 74)

Figura 74: Extracción del catéter-cánula del envase estéril (Gil Pascual, J., 2008)



3. Colocar, 2 ml de un gel lubricante bactericida no espermicida, en la parte externa del cabezal del catéter (Fig. 75)

Figura 75: Lubricación del catéter (Gil Pascual, J., 2008)



4. Introducir el catéter en forma convencional hasta que el cabezal queda fijado en el cervix. El catéter guía posee un tapón que ocluye su orificio de salida para impedir que la cánula se contamine en su paso por la vagina.(Fig. 76)

Figura 76: Tapón en el cabezal del catéter multianillas, Soft Quick® Import-Vet, Barcelona, España, para impedir la contaminación de la cánula al pasar por la vagina. (Gil Pascual, J. 2008)



5. Sujetar el catéter con una mano y con la otra se empuja la cánula hasta abrir el tapón
6. Se gira la cánula para que se pueda apreciar la marca roja. Aquella dispone de una línea roja en toda su longitud e indica la posición de los orificios. Estos al estar ubicados transversalmente, a ambos

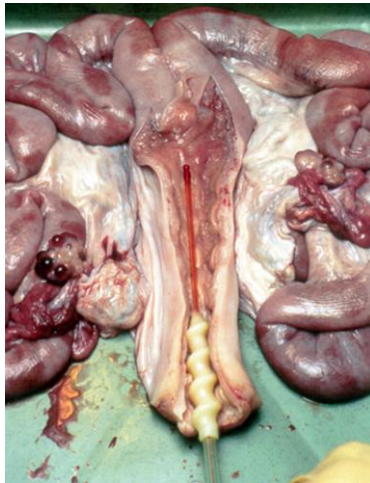
lados del tapón que ocluye el extremo de la cánula y perpendiculares a la línea roja, facilitan la salida del material seminal hacia los cuernos uterinos. (Fig.77)

Figura 77: Extremo de la cánulas y detalle del tapón con los orificios laterales, en los catéteres espiral y esponja, Soft Quick® Import-Vet, Barcelona .(Gil Pascual, J.,2008)



7. Esperar de uno a dos minutos para que se relaje el cervix y se facilite la introducción de la cánula
En la rutina de trabajo en la granja, para disminuir la pérdida de tiempo, Gil Pascual, J., recomienda:
-si insemina una sola persona, se preparan cuatro cerdas repitiendo los pasos 1 al 6 y se vuelve a la primera para continuar con el paso 8.
-si son dos los que inseminan, uno prepara cuatro cerdas realizando los pasos del 1 al 6 y el otro comienza con el paso 8 en la primera, cuando el compañero inició el paso 1 en la quinta cerda.
8. Con suaves pero enérgicos movimientos se hace avanzar la cánula entre los anillos cervicales hasta alcanzar el cuerpo del útero. Aquí el operario percibe que la cánula progresa sin dificultad y la introduce como máximo tres centímetros. Si no toma este recaudo alcanzará uno de los cuernos uterinos. (Fig.78)

Figura 78: Siembra en el cuerpo del útero con el catéter-cánula(*) Soft Quick® Import-Vet, Barcelona, España (Gil Pascual, J., 2008)



(*)Diseñada por Gil Pascual, J., en el año 2002, citado por De Alba, C., 2013.

9. Cuando la cánula está colocada correctamente en el cuerpo del útero, se acopla la dosis de semen y se insemina por presión. Se puede utilizar una dosis convencional para tres cerdas, no es lo recomendable, o una mini dosis de 15 a 30 ml y de 500 a 1000 millones de espermatozoides vivos, envasadas en tubos termosellados o en blister, según se muestra en la figura 79.

Figura 79: Blister con mini dosis de 30 ml y 1000 millones de zoides vivos. (Gil Pascual, J.,2008) .



El material seminal diluido también se puede envasar en bolsas de aluminio de gran capacidad, de dos y tres litros, que lo protegen de la luz y de los cambios de temperatura. Las mini dosis se pueden fraccionar por intermedio de una pistola dosificadora ajustable. Este sistema, ideal para granjas de mediano y gran tamaño, se conoce comercialmente como MULTIDOSIS® SOFT & QUICK, de Import-Vet S.A, Barcelona-España. En la figura 80 se pueden apreciar los elementos que lo componen, con el agregado de una mochila para favorecer al inseminador en el transporte de la bolsa de aluminio.

Figura 80: Elementos que componen el sistema MULTIDOSIS® SOFT & QUICK. de Import-Vet S.A, Barcelona-España. (Gil Pascual, J.,2008)



10. Una vez finalizada la siembra del material seminal, se retira la cánula unos 25 cm y con el catéter, aún colocado en el cuello uterino, se efectúa durante cinco a diez segundos el masaje cervical, con amplios movimientos circulares.
11. Concluido el masaje del cuello uterino se extrae el conjunto catéter-cánula en forma convencional y con suavidad.

En la figura 81 se pueden apreciar dos modelos de catéteres, TC Blue y TC Clear, para la I.A transcervical en el cuerpo del útero, con sus respectivos cabezales y cánula, fabricados por Minitüb, Tiefenbach-Alemania. El extremo del catéter externo viene recubierto con lubricante; la cánula

interna, de muy reducido canal, tiene escasas pérdidas por retención. Están esterilizados por rayos Gama y se comercializan envasados en una vaina plástica denominada SafeBlue.

Figura 81: Catéteres TC Blue y TC Clear para I.A. transcervical, fabricados por Minitübe, Tiefenbach-Alemania



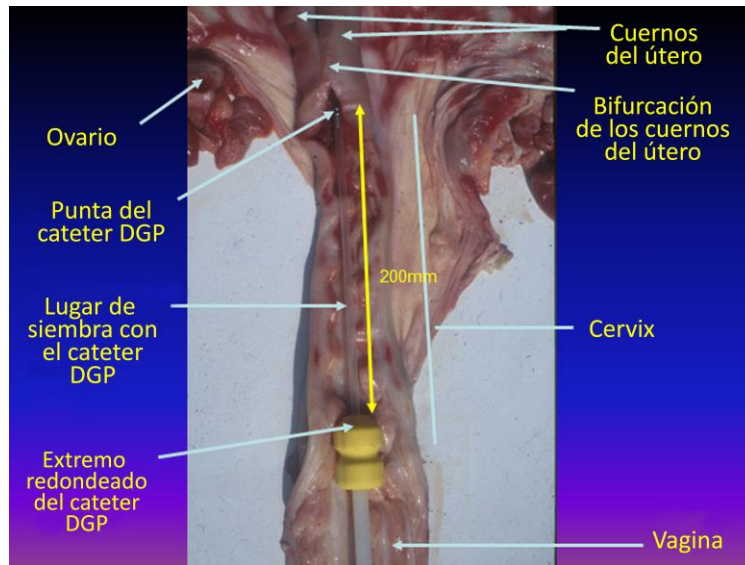
Otro modelo de catéter descartable, para la I.A. post cervical en el cuerpo del útero, es la Deepgoldenpig® (DGP), fabricada por IMV Technologies, L'Aigle-Francia. En la figura 82, se aprecian en detalle su cabezal y la cánula, que tiene en su extremo un tapón, para impedir la contaminación de la misma en su paso por la vagina, con dos orificios laterales para favorecer la salida del semen en dirección a los cuernos uterinos.

Figura 82: Catéter Deepgoldenpig®, IMV Technologies, L'Aigle-Francia, para la I.A. post cervical



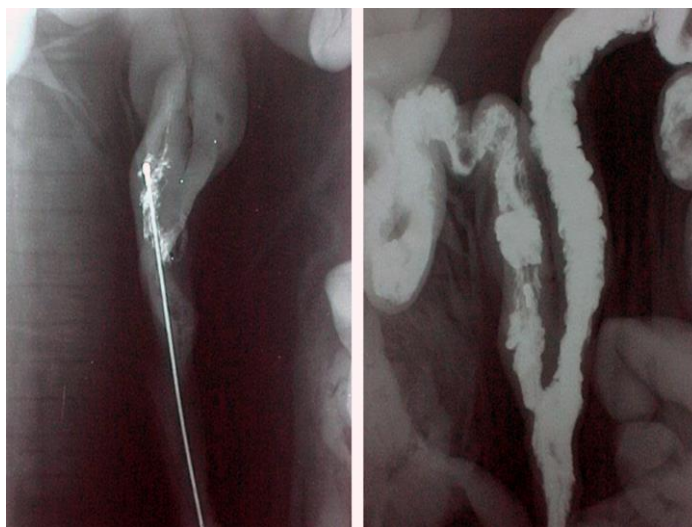
Para demostrar la velocidad del transporte espermático hacia el oviducto, por acción de la actividad contráctil del miometrio sensibilizado por los estrógenos, Decuadro Hansen, G., 2004, realizó un ensayo en una granja de Normandía, efectuando la siembra en el tracto genital de un radio-opaco. Utilizó la técnica de I.A. transcervical en el cuerpo del útero, según se indica en la figura 83, utilizando el catéter Deepgoldenpig® (DGP).

Figura 83: Siembra en el cuerpo del útero, con el catéter Deepgoldenpig® (DGP).
(Decuadro-Hansen, G.,2004)



Fueron tomadas dos imágenes radiográficas, la primera en el momento de efectuar la siembra de la sustancia radio opaca, la segunda treinta minutos más tarde. En la figura 84, se observa a la izquierda la radiografía realizada en el preciso instante de sembrar el material radio opaco en el cuerpo del útero y la derecha muestra como se distribuyó en el lapso de media hora en toda la longitud de los cuernos uterinos.

Figura 84: Imágenes radiográficas tomadas en el momento de realizar la siembra del radio opaco y treinta minutos más tarde. (Decuadro Hansen, G., 2004)



-Manejo de la cerda durante la I.A post cervical en el cuerpo del útero

Los mejores resultados se obtienen cuando el protocolo de aplicación de esta técnica no es muy agresivo. Varios autores, Gil Pascual, J., 2002, citado por De Alba Romero, C.,2013; Layún, M., 2004; Decuadro Hansen, G., 2004; De Alba Romero C., 2013; Pallás Alonso, R., 2015; Williams, S., 2015, recomiendan para lograr una correcta eficiencia reproductiva, con la I.A. post cervical en el cuerpo del útero, considerar las medidas de manejo que se enumeran a continuación:

-Selección de hembras para inseminar

.sólo en las hembras que salen en celo entre los cuatro y siete días post destete. En el resto inseminarlas con la técnica convencional:

1. destetadas que muestran celo después del 7° día
2. destetadas que entran en celo antes del 4° día
3. repetidoras, abortadas o problemas
4. nulíparas

.sólo en las nulíparas con muy buen desarrollo corporal y genital que hayan tenido más de tres celos; es una categoría complicada que necesita mucho más tiempo de realización

-Trabajar con máxima higiene para evitar la introducción de infecciones en el aparato genital de la hembra

.limpieza de la vulva y zonas circundantes

.máxima higiene de las manos del operador

.catéter estéril

-Detección de celo con la ayuda del verraco

.el éxito de la I.A. consiste en elegir el momento adecuado para dar servicio(*)

-No estimular con el verraco

. en una hembra estimulada es más difícil la introducción de la cánula ya que el cervix se cierra(**) y el tiempo que lleva llegar al cuerpo del útero es mayor

. es necesario que la hembra esté totalmente relajada:

1. sin la presencia del macho
2. sin estimulación por parte del operario
3. sin mochilas ni abrazaderas o cinturones de I.A con manos libre

-Excelente calidad seminal con buen margen de seguridad

.utilizar mini dosis, no partir las procesadas para la I.A convencional

.concentración espermática 1500-2000 x 10⁶ en 45 a 60cc de volumen(***)

-Manejo de ambas técnicas simultáneamente

.opción I:

- 1°. detección de celo con la ayuda del verraco
- 2°. transcurridos 45 a 60 minutos I.A post cervical sin la presencia del padrillo
- 3°. I.A convencional con la presencia del macho

.opción II:

- 1°. detección de celo con la ayuda del verraco
- 2°. I.A convencional con la presencia del macho
- 3°. transcurridos 45 a 60 minutos I.A post cervical sin la presencia del padrillo

-Personal capacitado

.se requiere personal entrenado que trabaje con paciencia para resolver cualquier dificultad(***)

(*)Pelland, C., y col., 2008, asociaron la intensidad de los signos del celo, en el momento de realizar la I.A., con las tasas de fertilidad y parición. Calificaron de 1 a 3 a las hembras con menor a mayor intensidad de los signos del estro. Observaron una alta correlación positiva entre el nivel de calificación de los síntomas estrales con las tasas de fertilidad y parición, independientemente del tipo de siembra realizado, convencional o post cervical en el cuerpo del útero. Consideran que la calificación de los signos del celo es de utilidad práctica y en general se acepta, que cuando una hembra es observada con un celo evidente ovule dentro de las 24 a 48 horas. También, estiman que hay otros factores asociados entre la intensidad del celo y la fertilidad, particularmente el momento adecuado para dar servicio. Es muy probable que las cerdas con celos más débiles, hayan tenido un nivel de contractilidad del miometrio muy pobre, que afectó el transporte y el reservorio espermático, afectando negativamente la fertilidad.

(**)Al introducir el catéter en el cuello del útero, éste se contrae para sujetarlo, lo mismo sucede con el pene del verraco para provocar la eyaculación. En consecuencia se debe esperar para que la cerda relaje el cervix. Por el contrario, si se intenta pasar la cánula de inmediato, es muy dificultoso atravesar el sinuoso canal cervical. Si hay varias cerdas en celo, García Casado, P. y col., 2013, recomiendan dejar el catéter colocado en el cuello uterino y hacer lo mismo con un grupo de seis cerdas. En este lapso, la primer cerda se ha tranquilizado y tendrá abierto el canal cervical, lo que facilita la introducción de la cánula y la siembra rápida del material seminal.

(***)Es fundamental no disminuir el volumen de la dosis para estimular las contracciones uterinas.

(****)Gil Pascual, J., 2013, enumera los probables problemas que pueden encontrar los inseminadores en la ejecución de la técnica:

1. Dificultad para introducir la cánula
 - .falta de desarrollo sexual en nulíparas
 - .falta de desarrollo corporal en cerdas de primer parto
 - .tiempo insuficiente para la relajación del cervix
 - .I.A al inicio o al final del celo, de 6-8 horas posteriores a la ovulación
 - .dificultad anatómica
2. Reflujo durante la I.A.
 - .la cánula está colocada en el cervix
 - .la cánula se ha acodado y avanza hacia la vagina
 - .la cerda está asustada y el útero contraído no permite el paso del semen
 - .la cerda está defecando u orinando
3. Descarga nula o dificultosa del semen
 - .la cánula se ha doblado sobre si misma

-I.A convencional o I.A post cervical en el cuerpo del útero

La preferencia en el uso de cada una de estas alternativas de siembra varía en los diferentes países avanzados en producción porcina. En España, de un total de 4.768.500 dosis de semen producidas en los Centros de I.A.P., el 60,3% de las comercializadas en el 2010, fueron para utilizar con la I.A. post cervical, de acuerdo a lo informado por Roca Aleu, J., 2014; De Alba Romero, C., 2017, indica que en ese país, en los últimos dos años, se observa un ligero incremento de la I.A. transcervical en las cerdas nulíparas, mucha de las cuales corresponde al 35 a 40% que se sirven con la I.A. convencional. Por el contrario, en Alemania sólo se utiliza ésta última alternativa, dado que no ha tenido aceptación por parte de los productores la I.A. en el cuerpo del útero, informa Simmet, C., 2017. El resto de los países europeos, Estados Unidos y México, utilizan mayoritariamente la intra cervical entre un 65 a 70% de los servicios; en Brasil, las preferencias se invierten, alrededor del 60% de las inseminaciones se efectúan con la I.A. post cervical, afirma Decuadro Hansen, G., 2017. Este investigador afirma, que la tendencia mundial hoy en día, pasa por maximizar el uso de los verracos elite utilizando menos espermatozoides por celo, mediante la evaluación seminal objetiva a través del CASA.

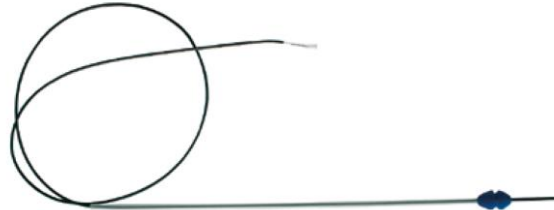
En Argentina, Williams, S., 2017, menciona que la I.A post cervical se comenzó a utilizar a comienzos del 2001, sin un nivel de aceptación importante. No obstante, considera que se ha notado un incremento en los últimos tres años, pero su uso muy reducido no supera el 5%, siendo una limitación importante para su implementación, el hecho de que no todos los Centros de I.A procesan las dosis con un volumen de 40-50cc y $1,5 \times 10^9$ espermatozoides.

Gabosi, H., 2017, informa que, Netpork S.A., el Centro de I.A.P. más importante de Argentina, procesa el 98% de las dosis de semen para utilizar con la técnica convencional. Si bien no hay inconvenientes, para que este gran proveedor de genética produzca unidades de material seminal en mini dosis, observa que los productores son reacios a la adopción de la I.A. post cervical porque los catéteres son mucho más caros y el entrenamiento del personal para adquirir esta técnica es más complicado. Desde el punto de vista de la productividad por macho, estima que se incrementa en un 30%, aunque los principales costos variables se reducen en un 10%.

También, es muy importante considerar las estadísticas de los proveedores de insumos. Al respecto Vitali, L., 2017, Asistente Técnico de Ventas, Línea Cerdos, de Biotay S.A., representante en Argentina de Minitüb, informa que en nuestro país la tendencia en la implementación de la técnica post cervical es ascendente. Asegura que aproximadamente, un 8 a 10% de los servicios efectuados, en una población de 300000 cerdas en inseminación, se realizan con la I.A. en el cuerpo del útero.

III. Siembra intrauterina profunda: es una técnica desarrollada por Martínez, E. y col., 2001, un equipo de investigadores de la Universidad de Murcia. La siembra del material seminal se efectúa en el extremo ovárico de uno de los cuernos uterinos, en su tercio distal, lo más cerca posible del orificio útero-tubárico. Se realiza a través del cateterismo del cuello del útero con una cánula de 4mm de diámetro y 180cm de longitud, que pasa por el interior de un catéter de I.A. convencional, según se puede apreciar en la figura: 85.

Figura 85: Catéter para inseminación intrauterina profunda



El diseño del catéter está basado, de acuerdo a lo informado por De Alba Romero, C., 2013, en la sonda flexible de fibra óptica con las que se realizaron las primeras siembras, en las proximidades de la unión útero-tubárica, con el empleo de un endoscopio.

El catéter DeepBlue, patentado por la Universidad de Murcia, es fabricado por Minitüb, y se presenta en un envase individual esterilizado. La cánula interna, con más de 1,50m de largo, es flexible para progresar en el trayecto flexuoso de los cuernos uterinos, pero al mismo tiempo firme y dúctil para atravesar el cervix. Posee una pequeña punta metálica que facilita su paso a través del cervix, pudiendo llegar hasta el extremo del cuerno uterino. En la figura 86 se muestra el extremo del catéter DeepBlue, pudiéndose apreciar en detalle la cánula con la punta metálica.

Figura 86: Características del catéter DeepBlue (Minitüb, Tiefenbach-Alemania)



Es muy importante mantener altos niveles de higiene, recalca De Alba Romero, C., 2013, dado que la introducción de un catéter contaminado puede producir severas endometritis. Más aún si se tiene en cuenta, lo informado por Decuadro- Hansen, G., 2017, que para esta técnica más del 90% del mercado utiliza catéteres descartables. Otro de los problemas que se mencionan con esta metodología de siembra, dado que el material seminal se deposita en un solo cuerno, es la baja correspondiente en la fertilidad, aunque puede haber espermomigración al cuerno contralateral por la vía intrauterina de acuerdo a lo que informan Vazquez, J., 2005.

Principalmente se utiliza, como se indicó anteriormente, con semen sexado o congelado. Permite reducir veinte veces, si se emplea semen refrigerado, la cantidad de espermatozoides a $0,15 \times 10^9$ y el volumen de la dosis a 5ml, de acuerdo a lo que informa Martínez, E. y col., 2002, citado por De Alba Romero, C., 2013.

Es importante recalcar que de acuerdo a lo mencionado por Leyún, M., 2004, es una metodología lenta, engorrosa que produce molestias y reflejos dolorosos en las hembras inseminadas, que motivan el rechazo de esta técnica por los propietarios de las cerdas en testaje.

También se puede realizar, en las hembras bajo anestesia general, la “Inseminación Intrauterina Profunda por Laparoscopia”. Previa incisión de 1,5cm en la zona umbilical, más la dilatación de la cavidad abdominal con dióxido de carbono, con el uso de un laparoscopio y depositar el semen mediante la utilización de agujas de inseminación, en ambos cuernos uterinos, muy cerca del orificio útero-tubárico.

Se logran altos porcentajes de fertilidad, superiores al 90%, con 10 a 20 millones de espermatozoides, por cada cuerno uterino.

Es una metodología que requiere profesionales altamente capacitados e instrumental muy costoso, por lo que su uso está limitado a fines experimentales. Estas técnicas quirúrgicas, que permiten sembrar el material seminal en ambos cuernos, a 5 cm aproximadamente de la unión útero-tubárica, fueron desarrolladas por: Krueger, C. y col., 1999; Krueger, C., 2000; Krueger, C. y Rath, D., 2000; Rath, D., 2002; Rath, D. y col., 2000; citados por Williams, S., 2012; Williams, S. y Fernandez, V., 2016.

CAPITULO 9: RECOMENDACIONES PARA AUMENTAR LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA .

A) Cachorras

-Selección, alimentación y medidas de manejo para estimular la pubertad:

Las hembras para reemplazo deben provenir de lechigadas sanas y numerosas.

Un buen indicador de la fertilidad es la edad en la que la hembra comienza a ciclar.

En buenas condiciones de alimentación y manejo el primer celo se presenta entre los 5 y 8 meses, con un peso de 70 a 114 kilos.

Para comenzar a recibir servicio en un sistema de cría intensiva, las cachorras deben pesar como mínimo 110 kg. a los 250 días de edad.

Un error de manejo que se observa muy frecuentemente es el de dar servicio a cachorras muy jóvenes, en la presentación del primer celo, cuando aún no han logrado la aptitud reproductiva para concebir.

Hay una gran diferencia entre esta condición fisiológica y la madurez sexual.

Las cachorras son sexualmente maduras, al llegar a la pubertad, cuando tienen el primer celo. No obstante es importante tener en cuenta que la actitud reproductiva para concebir se logra a partir del tercer o cuarto celo, dado que hay una mayor liberación de óvulos y el útero está más desarrollado, de acuerdo a lo indicado por van der Sluis, W., 1985.

En la hembra púber, Wrathall, A., 1980, informa que la tasa de ovulación suele ser muy baja en el primer celo; se incrementa en tres unidades en el segundo y significativamente más en el tercer celo.

Hühn, U. y König, I, 1976, recomiendan aplicar las medidas zootécnicas que se enumeran a continuación, para estimular el inicio de la pubertad con la aparición del primer celo:

-Cambiar las cachorras de lugar con intervalos de 21 días a partir de los 6 meses de edad.

-Realizar recambios de hembras entre los diferentes grupos.

-Permitir el contacto diario con un verraco, preferentemente fuera del horario en que se suministra la comida.

-Realizar una alimentación preparatoria a partir de los 7 meses, para lograr un aumento de peso de 550 g diarios.

Con esta secuencia de medidas zootécnicas, dichos autores logran que más del 90% de las cachorras llegue a la pubertad a los 8 meses. Esto permite iniciar los servicios con hembras que en su gran mayoría poseen actividad sexual cíclica, lo mencionado se esquematiza en la figura 87

-Descartar las infértiles y estériles:

Se debe rechazar las hembras que no han mostrado celo a los 10 meses de edad y las que no han quedado preñadas después de recibir el tercer servicio. Singleton, W., 1980, indica que en trabajos hechos en Europa y E.U.A. se detectó que entre un 5 y 10% del total de las cachorras vírgenes posee anomalías anatómicas en el aparato genital, entre éstas los quistes ováricos. Informa además, que los ovarios con grandes formaciones quísticas, luteales o foliculares, segregan cantidades importantes de progesterona. También señala que las hembras que poseen folículos quísticos pueden mostrar ciclos irregulares, con períodos de celo más prolongados e hipertrofia del clítoris.

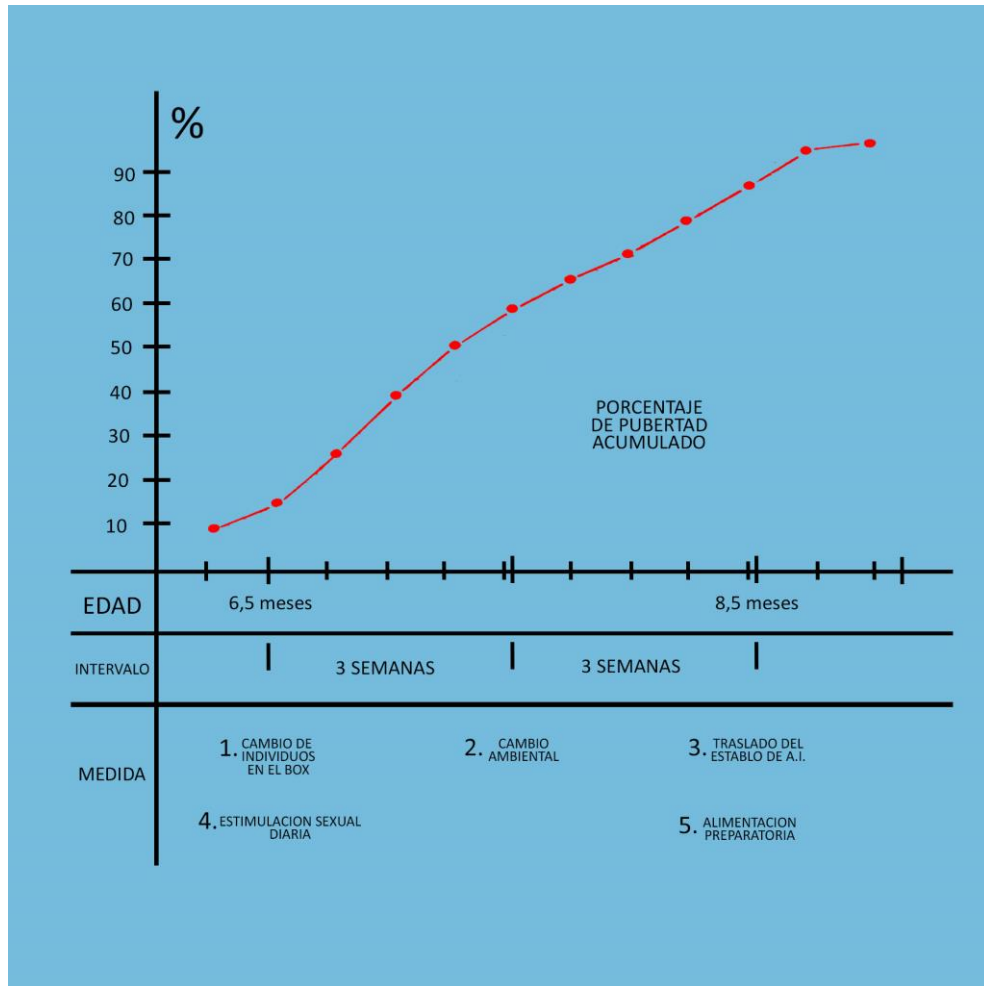
Falceto, M., 2012, informa que los quistes ováricos pueden tener un origen iatrogénico, por el uso incorrecto de gonadotrofinas aplicadas en hembras con altos niveles de progesterona, al bloquear la liberación de LH.

Ollivier, L. & Sellier, P., 1982, señalan, de acuerdo al trabajo realizado por Wiggins, E., y col., 1950, que del total de anomalías genitales observadas en cachorras las más frecuentes son: patologías del aparato genital tubular 1,4%; quistes foliculares 1,7%; ausencia de órganos o segmentos 0,7%, si se excluye la inmadurez reproductiva e intersexualidad. Informan además, en base a lo publicado por King, W. & Linares, T., 1980, que tales anomalías explican un 25% de las fallas reproductivas y que excepto, para la aplasia de una parte del útero debida a un gen recesivo, no tienen origen genético.

Williams, S., 2016, considera muy importante la realización de un examen del aparato reproductivo posterior a la faena, dado que permite evaluar si el anestro es consecuencia de problemas inherentes a un mal manejo nutricional o a condiciones ambientales adversas, al comprobar una alta incidencia de ovarios inactivos. En cambio, si se determina que la mayoría de los ovarios son activos, dado la presencia de folículos y cuerpos lúteos de diverso grado de desarrollo y funcionalidad, el anestro es falso dado que su causa obedece a fallas humanas en la detección de celos. Además, sostiene que el examen del aparato genital post mortem es muy útil para evaluar la incidencia de ovarios quísticos que lo presentan entre un 5 a 10% de las hembras. En el anestro verdadero prepuberal, Falceto, M., 2012, indica que los ovarios, al examen post mortem presentan

múltiples folículos menores de 6mm de diámetro y si el anestro es profundo sólo se observan algunos folículos menores de 2mm.

Figura 87: Porcentaje de pubertad acumulado y secuencia de medidas zootécnicas empleadas (Hühn, U. y König, I.,1976)



Estienne, M. & Harper, A., 2009, informan que el transporte de las cachorras, por diferentes áreas de la granja, conjuntamente con la observación del macho, son dos prácticas de manejo que empleadas adecuadamente pueden inducir el celo en hembras prepúberes. Aseguran que el movimiento y la mezcla de animales, con edad cercana a la pubertad, puede sincronizar los celos entre un 15 a 30%. Si a esta medida de manejo se le agrega la presencia de un verraco maduro, entre el 30 y 90% de las hembras mostrarán celo en un lapso de tres a siete días.

-Sincronización de celos:

Permite el apareamiento de un grupo de hembras en días predeterminados lo que eficientiza el manejo de la detección de celos y aún según el protocolo utilizado permite, la I.A. a tiempo fijo (IATF) en un día predeterminado, sin la necesidad de individualizar las hembras en estro.

Las alternativas posibles para inducir o sincronizar celos en nulíparas, impúberes o púberes, son las siguientes:

.Altrenogest/allyltrenboleno: si bien el manejo, a través de la inducción del stress y la presencia del macho, es empleado tradicionalmente para agrupar los celos, la administración oral de un progestágeno, altrenogest, 12,5 a 15,0 mg/díarios, durante un lapso de 14 a 18 días sincronizan el celo en el 90% de las cachorras

tratadas, de acuerdo con Kirkwood, R., 2006; Estienne, M. & Harper, A., 2009; Decuadro-Hansen, G., 2016. Este investigador indica además, que si se para la administración el miércoles por la mañana, es posible observar en celo el 70% de las cachorras el lunes de la semana próxima. Lo considera el mejor sistema, dado que tiene efecto sobre la prolificidad, pues se puede esperar en las cerdas tratadas de 0,7 a 1 lechón más por parto. También informa como una medida de manejo muy frecuente, que los productores franceses, España y Francia son los países que más usan este protocolo, al finalizar el suministro de altrenogest, coloquen las cachorras en un acoplado y las remolquen con un tractor por diferentes lugares de la granja para stresarlas, o directamente las trasladen a un corral al lado de un verraco para estimularlas a través del efecto visual y olfativo por las feromonas del macho.

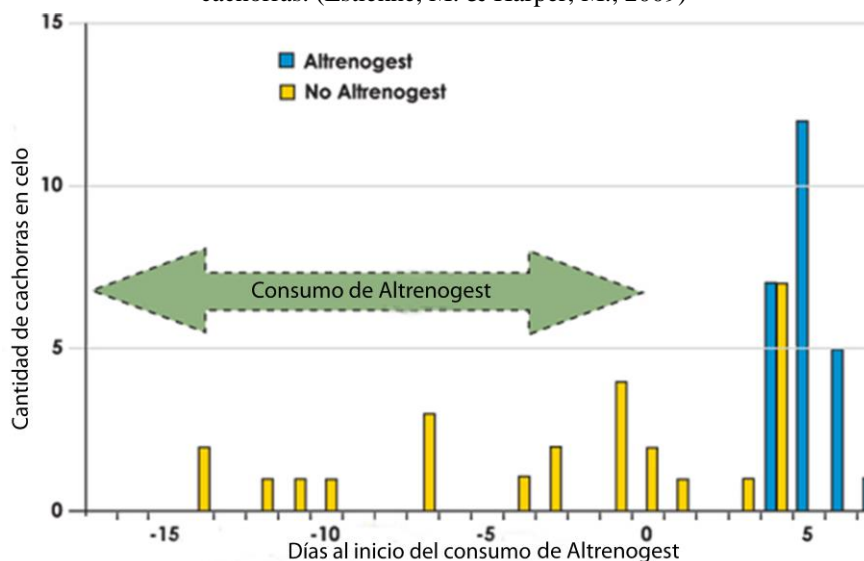
Martinat-Bottet, F., 1985, citado por Noakes, D. y col., 2001, obtuvo en cachorras cruza, con I.A.T.F. realizada a los seis y siete días de finalizado el tratamiento, un promedio de 64-73% de parición con 9,5 a 9,8 lechones por camada. La tasa de parición en primer servicio se incrementó cuando la I.A. se realizó posterior a la detección de celo convencional.

Con respecto a la dosis, por trabajos de investigación realizados en el INRA se recomienda, durante 18 días, 15mg diarios cuando se puede suministrar individualmente y 20mg por día si se suministra grupalmente. Es muy importante, para el éxito del protocolo, que la dosis consumida sea la correcta. Si bien la sobredosis no es perjudicial para la hembra, salvo la pérdida económica por un gasto inútil para la empresa, Davis, D. y col., 1979; Kraeling, R. y col., 1981; citados por Kirkwood, R., 2006, comprobaron que el bajo consumo, inferior a 13 mg/día está asociado con la formación de quistes ováricos en cachorras. Martinat-Bottet, F., 1985, citado por Noakes, D. y col., 2001, informa que un consumo diario de 2,5-5,0 mg no inhibe el desarrollo folicular, por lo tanto se desarrollan quistes foliculares después de los diez días del comienzo del tratamiento.

El altrenogest, comercializado por Intervet Inc., con la marca comercial de Matrix®, es una solución oleosa, envasada en un contenedor presurizado, con una dosis calibrada de 5 ml. Se suministra una vez por día en el “copete” de la ración para asegurar su consumo. Es absorbido en el duodeno, eliminado preferentemente con la orina y en cantidades menores también por la materia fecal. Despliega su acción en el sistema hipotálamo-hipofisario, bloqueando a los factores de liberación hipotalámica y a las hormonas FSH y LH, suprimiendo en consecuencia el desarrollo folicular, sin efectos aparentes en la funcionalidad del cuerpo lúteo. El bloqueo es reversible, ni bien se interrumpe el consumo se reinicia la síntesis y la descarga al torrente sanguíneo de las hormonas del hipotálamo e hipófisis que estimulan el reinicio de la actividad sexual cíclica. Este concepto es muy importante, dado que los progestágenos no estimulan la presentación de celos en hembras prepúberes y deben ser suministrado como mínimo durante quince días, para permitir la regresión funcional del cuerpo lúteo en aquellas hembras que estaban en la fase luteal del ciclo estral al iniciarse el tratamiento.

En un ensayo realizado por Estienne, M. & Harper, A., 2009, con 32 cachorras que habían tenido al menos dos ciclos estrales normales previos, observaron según se aprecia en la figura 88, que al finalizar el consumo de Altrenogest, 15mg diarios durante 18 días, el 90,6% mostró celo en menos de siete días, con un intervalo promedio de 5,3 días, desde el fin del tratamiento al celo. También, es importante observar en la figura 88 el grado de dispersión en la presentación de los celos, registrados en las cachorras con anterioridad al tratamiento.

Figura 88: Grado de dispersión en la presentación de los celos registrados con anterioridad y al finalizar el suministro de Altrenogest, 15mg diarios durante 18 días, en cachorras. (Estienne, M. & Harper, M., 2009)



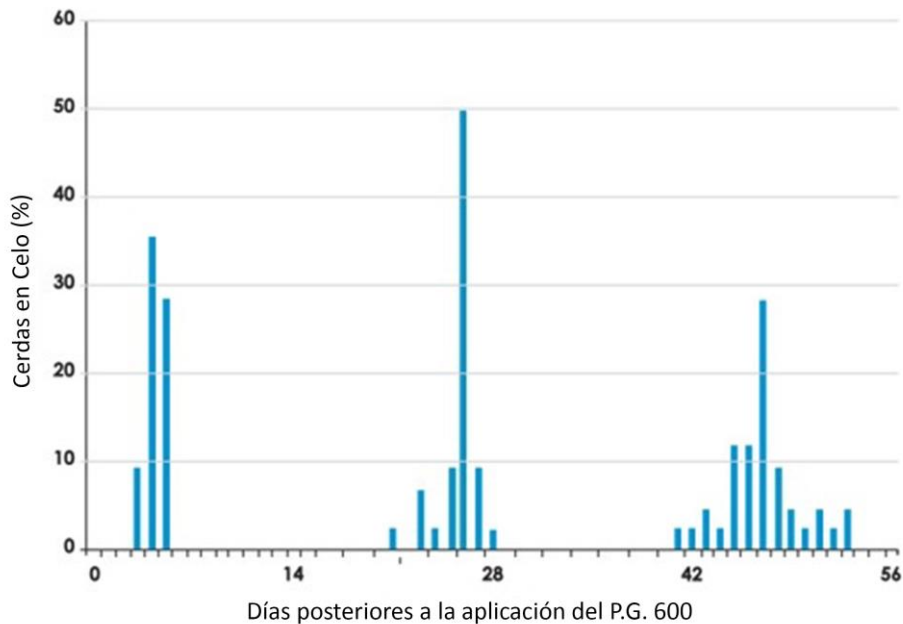
.Gonadotropinas: Davis, D., 1989, indica que la administración de PMSG o eCG, gonadotropina coriónica equina, en la proximidad de la regresión luteal, incrementa la cantidad de folículos que se desarrollan hasta ovular y por el contrario, sin éste tratamiento están destinados a la atresia.

Guthrie, H., 2005, ha demostrado la acción de la GnRH en desencadenar la onda de maduración folicular y que la administración de eCG, en cachorras prepúberes o en anestro, inicia el desarrollo folicular, aunque si no se administra junto con hCG, gonadotropina coriónica humana, los folículos no alcanzan el tamaño necesario para ovular.

El uso combinado de gonadotropinas es una alternativa que se utiliza para inducir la ovulación en nulíparas impúberes, aunque con respuestas variables, señala Radicchi Lobato Campos de Almeida, 2016. Informa además, que hay en el mercado al menos dos alternativas posibles, PG600® de Intervet y Duogestál® del laboratorio Syntex S.A., ambas marcas contienen 400UI de eCG y 200UI de hCG.

Estienne, M. & Harper, A., 2009, observaron que con una inyección intramuscular de PG600® aplicadas a 42 cachorras prepúberes, cruce Landrace por Yorkshire, con una edad mínima de 5,5 meses y un peso que superaba los 84kg, lograron que el 83% mostraran celo dentro de los siete días posteriores a la finalización del tratamiento; el intervalo promedio tratamiento celo fue de 4,3 días. En la figura 89 se puede apreciar el grado de dispersión de la presentación de los celos. Además, también se observa en la figura 89, dado que en este ensayo las cachorras no fueron inseminadas, un aumento en la dispersión de los celos, a medida que transcurren dos ciclos estrales sucesivos. El 97,1% de las hembras tratadas (34/35) y el 94,3% (33/35) tuvieron un segundo y tercer celo, respectivamente. En la mayoría de los establecimientos, señalan estos investigadores de la Universidad de Virginia, las hembras son inseminadas en el tercer celo post puberal para maximizar la tasa de ovulación e incrementar potencialmente el tamaño de la futura camada. En consecuencia, el tratamiento con 400 UI de eCG y 200 UI de hCG, podría ser usado para sincronizar celos en cachorras prepúberes, aunque la dispersión de los celos aumenta en el segundo y tercer ciclo estral como se indicó con anterioridad.

Figura 89: Grado de dispersión de los celos inducidos en cachorras con PG600® a medida que transcurren los ciclos estrales. (Estienne,M. & Harper, A., 2009)



.Combinación de altrenogest y gonadotropinas: es muy habitual en las granjas, en el grupo de cachorras destinadas a la reposición, que coincidan hembras ciclando y acíclicas. Por otra parte, como se indicó con anterioridad, las gonadotropinas no sincronizan los celos en las hembras púberes y son efectivas en inducir el estro en las que aún no han alcanzado la pubertad. En contraposición, el altrenogest es muy efectivo en sincronizar el ciclo estral en cachorras maduras sexualmente e ineficiente en las que no ciclan.

Como consecuencia de esto, Estienne, M. & Harper, A., 2009, recomiendan, para sincronizar celos en un grupo de hembras pre y post púberes suministrar, durante 14 días, 15mg diarios de altrenogest y a las 24 horas del retiro del progestágeno inyectar 400UI eCG-200UI de hCG. Además, informan que con este protocolo se mejora significativamente la tasa de ovulación en las hembras que alcanzaron la pubertad y ciclan con normalidad.

Noakes, D. y col., 2001, informan que la combinación de 400 UI de eCG y 200 UI de hCG, aplicada a cachorras en anestro, si bien induce el desarrollo folicular y el celo, una segunda inyección de hCG 72 horas más tarde puede asegurar que ocurra la ovulación.

.Hormona luteinizante porcina (pLH): con el objetivo de sincronizar la ovulación y definir un protocolo de IATF, Decuadro-Hansen, G., 2017, realizó una serie de ensayos utilizando diferentes dosis de pLH, inyectadas al comienzo del celo y por distintas vías de aplicación. En el primer ensayo, con un grupo control, se inyectó por vía intramuscular, 2,5mg y 5,0mg de pLH en los grupos pLH2,5 y pLH5, respectivamente. No hubo diferencias significativas ($P>0.05$) entre los grupos pLH2,5, pLH5, y el testigo, en lo que respecta al intervalo comienzo de celo ovulación (ICCO) y a su distribución. En el segundo ensayo evaluó distintas rutas alternativas para aplicar la pLH al inicio del celo, la inyección intravaginal con 2,5 mg (IV2,5mg) y la intramuscular con 5,0 mg (IM5,0) e IATF realizada a las 16 horas posteriores. La eficiencia reproductiva lograda con una I.A.T.F., en lo referido a tasa de parición, no fue significativamente diferente ($p>0,05$) al compararla con el grupo testigo, con detección de celo e I.A convencional. No obstante, si hubo diferencias significativas ($p<0.05$) en lo referido al total de lechones nacidos (TLN) a favor del grupo testigo y en el ICCO, más breve en el grupo IV2,5mg. El tercer ensayo, tuvo como objetivo ajustar el protocolo para su uso práctico en el campo. El grupo testigo, manejado con detección de celo convencional más múltiples I.A durante el estro y el tratado con 2,5mg de pLH por vía submucosa vaginal e IATF 12 horas más tarde. Nuevamente, el ICCO fue más breve en el grupo tratado ($p<0,05$), pero la frecuencia de distribución no fue significativamente diferente entre los tratamientos ($p>0,05$). También fue menor la tasa de parición ($p<0,05$) en el tratado, pero no se observaron diferencias significativas en el TLN ($p>0,05$).

B) Cerdas adultas

-Aumentar la longevidad:

La producción de la hembra porcina va en aumento a medida que transcurren las pariciones hasta llegar a la quinta o sexta lactancia. Posteriormente disminuyen el tamaño de la lechigada, la cantidad de lechones nacidos vivos y, por consiguiente, el número de lechones destetados. Además, al lograr una mayor permanencia y disminuir la tasa de descarte, se podrá realizar una gran presión de selección con el consiguiente mejoramiento genético y disminución de los costos de reposición. Es muy importante conocer los motivos por los cuales las cerdas se dan de baja, lo que permitirá dimensionar cuales son los problemas que afectan al establecimiento y tomar las medidas correctivas correspondientes. En un estudio realizado en Francia, por Badouad, B., 2013, citado por Palomo Echagüe, A., 2013, sobre 20139 cerdas sacrificadas, pertenecientes a 168 granjas con diferentes sistemas de alimentación y manejo, se concluyó que las principales causas de descarte fueron: fallas reproductivas 32%, edad-viejas 28%, problemas de maternidad 6,1%, y problemas locomotores 12,7%. Un factor que reduce la longevidad es el síndrome del segundo parto, que afecta además negativamente los parámetros de eficiencia reproductiva. Al respecto, en un relevamiento, presentado, en las “45as Jornadas de Investigación Porcina en Francia”, efectuado por Boulot, S., 2013, citado por Palomo Echagüe, A., 2013, sobre un total de 812 granjas y más de 42000 cerdas primerizas, se analizó que porcentaje de establecimientos tenían en las primíparas:

- . una tasa de fertilidad inferior al 85%
- . el tamaño promedio de la camada menor a dos lechones con respecto a la media
- . el intervalo destete-I.A por encima de 7 días.

En el 80% de las granjas, al menos uno de estos tres parámetros, estaban disminuidos, siendo los más frecuentes la menor fertilidad y el mayor intervalo destete-celo. En el 21% de los criaderos se encuentran afectados conjuntamente, infertilidad, anestro y menor tamaño de la camada

-Reducir las pérdidas de peso en la lactancia:

Es prioritario contar con un correcto plan de manejo para reducir al máximo la disminución del peso y estado corporal en el transcurso de la lactancia, que incluya instalaciones adecuadas, sanidad, alimentación y manejo. Thaker, M., y Bilkei, G., 2005, mediante un trabajo realizado en cuatro granjas de Alemania y once en Eslovaquia, con un total de 1677 cerdas, demostraron que la pérdida del peso corporal durante la lactancia

afecta significativamente el intervalo destete-celo. Además comprobaron que hay una interacción negativa entre el número de parición y la prolongación del intervalo destete-celo.

En las primerizas, el intervalo destete-celo se prolonga con una pérdida superior al 5%, mientras que en las de segunda o más pariciones para prolongarlo la pérdida del peso corporal debe superar el 10%. La disminución del estado corporal superior al 10% redujo significativamente ($P < 0,05$) el porcentaje de parición. Además, la caída del peso corporal durante la lactancia también afectó negativamente el tamaño de la camada, más marcado aún en las primerizas en primer servicio y de una mayor significación, ($P < 0,01$) cuando la pérdida fue superior al 20%.

Es muy importante considerar el espesor de la grasa dorsal entre el parto y el destete, asegura Pallás Alonso, R., 2015. Este investigador español recomienda que la cerda entre al parto con 16-20mm de grasa dorsal y que la pérdida entre la parición y el destete no debe superar los 4mm. Informa además, que las úlceras en la espina escapular significan que no hay cobertura grasa y reservas corporales e indican una mala alimentación. Cualquier problema de manejo que lleve a una reducción del consumo, lo que ocasiona una excesiva pérdida de peso y condición corporal es la principal causa de anestro y celos débiles.

-Estimular la presentación del celo posdestete:

El destete de los lechones, una herramienta sencilla, práctica y de costo cero, provoca una mayor descarga de las hormonas hipofisarias, LH y FSH, la cual produce el desarrollo folicular, liberación de estrógenos, celo y ovulación. El celo posdestete es el más fértil, y por consiguiente la cerda debe ser inseminada en él. Es fundamental en un programa de cría estimular la presentación del celo posdestete, ya que además de ser el celo de mayor fertilidad, es el único que puede ser inducido en forma natural y a un costo cero. Por otra parte, si se realiza el destete de las multíparas, preferentemente los días jueves o mejor aún los viernes, se evitarán la presentación de celos los días domingo. Es muy importante, para lograr celos bien marcados y concentrados, destetar todos los lechones a la vez y que la cerda esté en plena lactancia. Se favorece la reanudación de la actividad sexual cíclica posterior al destete, si se les permite a las cerdas que observen olfateen o tomen contacto con un verraco por lo menos dos veces por día durante media hora (por la mañana y por la tarde), fuera de los horarios en que se suministra comida. Hühn, U. y König, I., 1976, demostraron que es posible lograr mayor cantidad de hembras en celo, dentro de los 3 a 7 días posteriores al destete, con un pico máximo de presentación de celos el 4º y 5º días, si se reduce el nivel de alimentación un día antes del destete y no se suministra agua y ración durante las 48 horas siguientes. En el cuadro 20 se indican los resultados al respecto. Hühn y König recomiendan intensificar la observación y el cuidado de los animales, e inclusive acortar o no suprimir el suministro de agua si la temperatura ambiental es elevada. Hodson, H., 1980, considera que al no dar la ración durante los 2 a 3 días posteriores al destete se reduce significativamente la producción láctea, y por lo tanto se ayuda a eliminar el efecto bloqueante que ejerce la lactancia sobre la actividad sexual cíclica de la hembra.

Cuadro 20: Eficiencia reproductiva de las cerdas considerando el manejo posdestete (Hühn, U. y König, I., 1976)

Manejo posdestete*	Porcentaje en celo 3 a 7 días luego del destete	Duración del celo	Porcentaje de preñez	Lechones nacidos por camada
Suministro normal de agua y ración	89,7	45 h	82,4	10,6
24 h sin agua y 48 h sin ración	92,1	50 h	78,2	10,8
48 h sin agua y sin ración	96,5	52 h	82,3	10,9

(*) En los tres grupos a las 24 horas posteriores al destete, cada cerda fue tratada con 1.000 UI de PMSG.

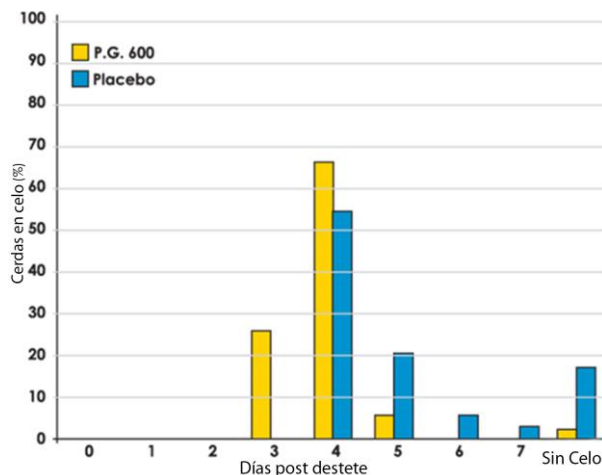
Si no hay presentación de celo a los 10 días del destete, se considera que la hembra está en anestro. Este es uno de los principales problemas reproductivos en la cría porcina. Las cerdas excesivamente delgadas, y en particular las de primera parición con camadas numerosas, presentan con mayor frecuencia períodos prolongados de anestro posdestete. También las temperaturas altas disminuyen el porcentaje de hembras en celo y afectan la fertilidad provocando muertes embrionarias y, en condiciones extremas, anulan la actividad sexual cíclica de la cerda.

-Sincronización de celos:

.Gonadotropinas: al realizar el destete, la inyección intramuscular de 400UI de eCG y 200UI de hCG, que mimetizan la acción de la FSH y LH, estimulan el desarrollo folicular, la presentación del celo y la ovulación.

Estienne, M., & Harper, A., 2009, en un ensayo realizado con un grupo de 70 hembras Yorkshire, en promedio de 4,6 pariciones, destetadas en el verano luego de 28 días de lactancia, comprobaron que las 35 cerdas tratadas con PG600, comparadas con las testigo que recibieron un placebo, tuvieron un intervalo destete-celo más breve, 3,8 vs 4,5 días y sólo un 2,9% no presentaron celo, dentro de los siete días posteriores al destete comparado con el 17,1% de las testigo. Los resultados del ensayo se muestran en la figura 90, en la cual se aprecia además una marcada concentración celos, al tercer y cuarto día del destete, en las hembras tratadas con PG600.

Figura 90: Intervalo destete celo en hembras Yorkshire tratadas con PG600 o un placebo. (Estienne, M., & Harper, A., 2009)



Por regla general, no es necesario tratar todas las hembras al destete con gonadotropinas, dado que la mayoría estarán en celo, al menos en una semana, si presentan una buena condición corporal. Recomiendan el uso de gonadotropinas en algunas ocasiones durante el verano, en primíparas con intervalos destete celos más prolongados, incluso en las hembras que no han mostrado celo transcurrida una semana del retiro de los lechones. En estos casos, el tratamiento hormonal dará por resultado la presentación del celo cinco días más tarde. No es conveniente tratar hembras que han tenido una excesiva pérdida de peso durante la lactancia.

Molinari, R., 1986, realizó un ensayo con 26 cerdas, ubicadas en la Estancia "San Alfredo", bajo condiciones de explotación semi intensiva, aplicando el PG600 al día siguiente del destete, en vez de en el momento de efectuar el mismo, con el objetivo de lograr una menor dispersión en el intervalo destete-celo y facilitar el manejo de la I.A. Entre el grupo testigo y el tratado no hubo prácticamente diferencias, en el promedio de días desde el destete al celo, 5,8 y 5,4 días; si en su distribución el 30, 7 y el 61,5% de las cerdas al quinto día post destete habían mostrado celo; ni en la tasa de parición, 92,3 y 92,3%; tampoco en el tamaño de la camada, 11,4 y 11,3 lechones por cerda parida y en la cantidad de lechones nacidos por cerda inseminada, 10,5 y 10,4, respectivamente.

Hühn, U. y König, I., 1976, desarrollaron un protocolo de IATF, aplicando gonadotropinas a partir de las 24 horas del destete, el cual se describe a continuación:

.Hora cero (ej: viernes 8hs) destete

.24hs (sábado 8hs) 1000UI de PMSG, gonadotropina sérica de yegua preñada, subcutánea (sc) detrás de la oreja

.58hs (lunes 18hs), 500UI de HCG, gonadotropina coriónica humana, sc

.24hs y 36hs (martes 18hs y miércoles 6hs) I.A

Informan que es factible lograr con este protocolo e IATF, tasas de parición del 81,0%, con un tamaño de camada de 9,8 lechones y 8,0 crías nacidas por cerda inseminada. Además, indican que hasta la cuarta parición las cerdas alcanzan los valores más altos de fertilidad, al igual que las hembras que muestran el reflejo de inmovilidad en el momento de realizar la IATF. También, consideran imprescindible que durante el desarrollo del protocolo, a partir de la mañana que se aplica la inyección de hCG, que las cerdas tengan contacto con un verraco por la mañana y por la tarde hasta el momento de realizar la IATF. Con esta metodología de manejo, la presencia del macho incrementa la tasa de parición en 3,4 unidades porcentuales y el tamaño de la camada en 0,5 lechones, con el concomitante aumento de 0,7 crías por cada cerda inseminada.

Tomando como base el protocolo desarrollado por Hühn y König, se realizaron dos ensayos, uno en las EEA Marcos Juárez, a través de Caminotti, S. y Pinotti, H., 1982; el otro por Colautti, G., 1982, en la EEA Pergamino, ambas del INTA.

Caminotti y Pinotti, trabajaron con 40 cerdas, divididas en dos grupos, el testigo con detección de celo e I.A. convencional y las sincronizadas con IATF. Los parámetros de eficiencia reproductiva fueron muy diferentes entre los grupos: tasa de parición 78,3 y 64,7%, lechones nacidos por camada 9,2 y 12,6, para la I.A. convencional y la IATF, respectivamente.

Colautti analizó la respuesta al tratamiento de sincronización e IATF, con 74 cerdas divididas en dos grupos de acuerdo a su estado corporal. El porcentaje de preñez en el celo sincronizado fue de 78% para las cerdas con buen estado corporal y de sólo 43% para las que presentaban un nivel nutricional deficiente o malo. Estos resultados confirman una vez más que las hormonas por si solas no corrigen un mal manejo. Por el contrario son una valiosa ayuda, con la que se obtienen excelentes resultados, cuando se realiza una correcta alimentación de las cerdas durante la lactancia.

Decuadro-Hansen, G., 2016 considera que lo más adecuado es el manejo en grupos del destete, dado que las cerdas entran en celo en menos de una semana, o por lo menos ese es el objetivo. En algunas ocasiones, en verano o en primíparas por tener un intervalo destete celo más prolongado se inyecta eCG y hCG al interrumpir la lactancia, para agruparlas más. También informa que la IATF es más un trabajo de las universidades que de los productores, dado que aún todavía no se utilizan hormonas en cerdas adultas con el objetivo de hacer una sola IA y no dos o tres como normalmente se hacen. Asegura, que en las granjas del grupo Sadia y Perdigo en Brasil, con 600.000 vientres totales, la prioridad es el manejo y sólo complementado con uso de hormonas cuando es necesario. Indica además que se está utilizando el GnRh vaginal en ensayos en Estados Unidos pero no tiene datos concretos para mostrarlos.

C) Banco de datos

-En la granja

Es fundamental en un programa de cría, contar con registros individuales que permitan identificar en forma rápida y eficiente, las siguientes anomalías:

- Cerdas y/o padrillos súbferiles y/o estériles.
- Repeticiones de servicios excesivas.
- Períodos entre celos irregulares.
- Bajos porcentajes de parición.
- Abortos.
- Muerte de lechones al nacimiento.
- Tamaño de camada reducido.
- Bajos porcentajes de lechones destetados.

La granja, como empresa, requiere de información adecuada para poder efectuar una correcta toma de decisiones.

Cualquier sistema informático, manual o electrónico, debe reunir las siguientes condiciones:

- .facilidad de actualización
- .capacidad para brindar la información que se necesite en el momento requerido
- .capacidad de síntesis para los diferentes niveles de decisión
- .bajo costo

El tradicional fichero, con sus distintas variantes, aún hoy es un sistema muy utilizado, particularmente en las explotaciones más pequeñas, siendo cada vez menos eficiente a medida que se incrementa el tamaño de la empresa, dado su dificultad para mantenerlo actualizado. Además, prescindiendo de la envergadura de la granja, no reúne la condición enumerada en tercer término, a menos que se incremente significativamente el costo del sistema. La capacidad de síntesis, es de fundamental importancia, dado que el nivel de información requerida por el propietario es absolutamente diferente a la requerida por el operario.

En la figura 91, este fenómeno se representa esquemáticamente, destacando que a un nivel superior de decisión se necesita una mayor síntesis de la información, de forma tal que en el nivel 1, se encuentre en pocos datos la información necesaria para evaluar la eficiencia de la empresa, sin necesidad de desperdiciar su tiempo en detalles, ajenos a su nivel.

Figura 91: Síntesis de la información requerida a medida que aumenta el nivel de decisión



- En el Centro de I.A.P

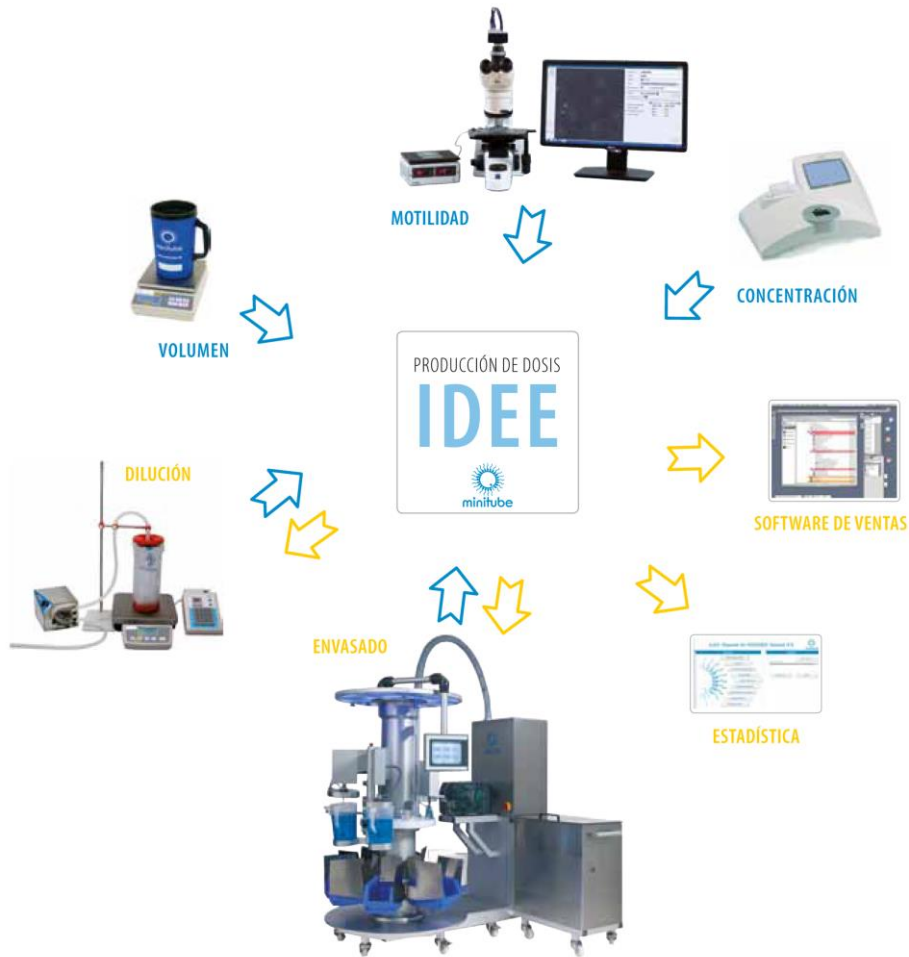
Minitüb ha desarrollado un sistema de identificación electrónica de verracos que se ofrece como un programa individual o en combinación con el IDEE, un software para el laboratorio de semen porcino. Contiene planificación de montas, identificación electrónica del verraco (01) y operario (02), más la impresión de etiquetas (03) con la identificación del envase plástico que contienen el semen del padrillo con código de barras (04), de acuerdo a lo que se aprecia en la figura 92. Este programa contiene toda la información relacionada con la recolección del eyaculado.

Figura 92: Sistema electrónico para identificación del operario, verraco y seguimiento del eyaculado. (Minitüb, Tiefenbach-Alemania)



El programa IDEE desarrollado por Minitüb gestiona los datos del eyaculado y enlaza todos los procesos desde la recolección de semen hasta la producción de dosis, según se puede apreciar en la figura 93. Tiene una integración automática de los parámetros del eyaculado, mediante la interconexión de los equipos, brindando también un análisis estadístico de los datos de producción y ventas.

Figura 93: Sistema IDEE para el seguimiento electrónico del procesamiento del eyaculado (Minitüb, Tiefenbach-Alemania)



Como conclusión es obvio mencionar que un estricto plan sanitario, un manejo racional, un adecuado balance energético y proteico, un complejo de instalaciones funcionales, además de un correcto programa de detección de celo e inseminación artificial, con un programa de computación para evaluar la eficiencia de la producción porcina, son esenciales para lograr el éxito deseado en la reproducción de cerdos.

CAPITULO 10: INFERTILIDAD ESTACIONAL

En relación a las diferentes condiciones del medio ambiente, durante las distintas épocas del año y su efecto detrimental sobre la eficiencia reproductiva de los suinos en el verano-otoño, se considera adecuado realizar los siguientes fundamentos técnicos:

-Temperatura y humedad ambiental:

Las bajas temperaturas tienen un efecto muy limitado o casi nulo sobre la fertilidad; Swierstra, E. y Rahnefield, G., 1972. Dado la inmadurez del recién nacido para controlar la temperatura corporal, si son un factor que incrementa significativamente la muerte perinatal, en los días fríos de invierno. Esto se complica, particularmente en aquellos criaderos que no regulan el medio ambiente con protección del viento y de la lluvia, agravado además por la ausencia de fuentes de calor.

Por el contrario, las altas temperaturas, más aún con elevada humedad ambiental, tienen un efecto detrimental sobre la reproducción del macho y la hembra. Además los cerdos tienen una capacidad muy limitada para regular el stress térmico, dado su ineficiente sistema de termorregulación para disipar el calor; Wrathall, A., 1973; Hancock, R., 1988.

En el macho, el escroto, provee un ambiente finamente balanceado, esencial para un correcto funcionamiento testicular, manteniendo la temperatura de los testículos entre 35°C a 36°C, 3°C por debajo de la temperatura corporal; McNitt, J., Tanner, C., y First, N., 1972. En el verraco, como en otros machos de diferentes especies de interés zootécnico, el aumento de la temperatura corporal, por efecto del medio ambiente o de enfermedades que provocan hipertermia, altera el mecanismo de termorregulación escrotal. En consecuencia, el incremento en la temperatura testicular afecta la espermatogénesis y la morfología del espermatozoide, reduce la motilidad y la concentración espermática, disminuyendo por lo tanto la fertilidad; Swierstra, E., 1970. Al respecto McNitt, J. y First, N., 1970 observaron un incremento significativo en anomalías espermáticas, a partir de los doce días de exposición al calor, en padrillos previamente aclimatados a temperaturas de 21 °C o inferiores. Los verracos fueron expuestos durante tres días a 33°C y 50% de humedad relativa ambiente, con el consiguiente aumento de 3°C en la temperatura corporal. Las anomalías observadas, se detallan seguidamente:

- Reducción en la concentración espermática.
- Pobre motilidad –vigor.
- Incremento significativo de anomalías espermáticas primarias y secundarias.
- Alta proporción de espermatozoides muertos y aglutinados.
- El volumen del eyaculado no fue afectado.

A partir de los 56 días posteriores al stress térmico todas las características retornaron a la normalidad. En un ensayo similar, Wetteman, R., y col., 1973; exponiendo a los verracos a temperaturas superiores a 30°C por períodos prolongados observaron, entre la segunda y quinta semana de iniciado el tratamiento, una marcada disminución de la motilidad espermática y un aumento de acrosomas dañados con envejecimiento prematuro. A pesar de la continuación del tratamiento con altas temperaturas, las características del semen comenzaron a retornar a la normalidad después de la quinta semana. Según Amann, J., 1991, la espermatogénesis en el verraco tiene una duración de 39 días; el transporte y la maduración espermática en el epidídimo dura aproximadamente 12 días. Este período de 12 días, entre el inicio del stress térmico y la aparición de anomalías espermáticas, indicaría que los espermatozoides no son afectados por las altas temperaturas en su paso por el epidídimo. Este investigador observó además que la recuperación del poder fecundante se produjo a los 60 días de iniciado el stress térmico. Además concluye que aún con un breve lapso de exposición al stress térmico, se requiere un prolongado período, superior a 50 días para recuperar la fertilidad, 39 días de duración de la espermatogénesis y 12 días para la maduración y transporte de los espermatozoides en el epidídimo. Gordon, I., 2004, informa que al aumentar artificialmente la temperatura escrotal, a 41°C durante tres horas, en carneros y verracos, hay una rápida destrucción de espermatozoides en la profase de la meiosis. Si bien, hay además destrucción de espermátidas, los espermatozoides son las células más sensibles al stress térmico, particularmente en los cerdos.

Las hembras servidas por los verracos afectados por el stress térmico, tienen bajas tasas de concepción por excesivas repeticiones de celo con intervalos normales de 21 días principalmente, lo que indicaría una muerte embrionaria temprana; Thibault, M. y colaboradores, 1966. En investigaciones realizadas por Rathore, A., con ovejas en 1968 y con conejos en 1970 observó, en servicios realizados con machos afectados por stress térmico, que aparentemente los espermatozoides dañados eran capaces de fertilizar el óvulo resultando en un

huevo o cigota incapaz de sobrevivir mas allá del estado de blastocisto, con un incremento significativo de muertes embrionarias antes de la implantación.

Bearden, H., Fuquay, J., y Willard, S., 2004, consideran que el período que media entre el celo y la implantación es sumamente crítico para la sobre vivencia embrionaria. Indican además, que el stress térmico afecta la viabilidad y capacitación espermática en las vías genitales de la hembra y afecta el proceso de implantación provocando una mayor incidencia de muertes embrionarias. También informan que el embrión, es menos sensible al stress térmico, cuando alcanza el estado de mórula, dado que adquiere la capacidad de desarrollar una mayor tolerancia a las altas temperaturas mediante la síntesis de proteínas anti shock térmicas o antioxidantes como el glutathion . Prunier, D. y col., 1997, comprobaron, en un ensayo realizado con 36 multíparas y 24 primíparas, de raza Large White, que el intervalo destete-celo es más prolongado en las cerdas destetadas en verano y el comienzo del otoño. Las cerdas sometidas a una alta temperatura y elevada humedad ambiental tienen una marcada disminución en los pulsos de LH y en la concentración en sangre del cortisol . Por el contrario, las hormonas de crecimiento (insulina-factor de crecimiento) y los ácidos grasos libres no fueron afectados. En contra posición los valores de la glicemia tuvieron un significativo incremento. Las cerdas en lactancia, particularmente las primerizas, reducen significativamente el consumo de alimento cuando están sometidas a altas temperaturas y elevada humedad ambiental. Esto explicaría en parte, que la prolongación del intervalo destete-celo, durante el verano, sería al menos en parte ocasionado por una deficiencia nutricional.

-Fotoperiodo:

Este efecto estacional es muy importante en las especies silvestres. Ollivier, L. & Sellier, P., 1982, indican que la domesticación del cerdo se retrotrae al período Neolítico y en China a 7000 años A.C. El jabalí europeo (*Sus scrofa scrofa*) el ancestro inmediato del cerdo doméstico (*Sus scrofa doméstica*), tiene una actividad reproductiva estacional, al final del otoño y comienzos del invierno, para que los jabatos nazcan en épocas adecuadas para sobrevivir. Los partos, a excepción del invierno, pueden ocurrir dentro de un período de 6 a 9 meses, siendo la primavera la época más frecuente. Para evitar las pariciones de invierno, el jabalí europeo, presenta una marcada inactividad reproductiva a fines del verano y en el otoño. La hembra, en su ambiente natural, es poliéstrica estacional presentando un anestro profundo. Después de parir, permanece en anestro hasta el inicio del próximo invierno. Esta conducta de inactividad sexual, Tast, A., 2002, la considera que se debe, en primer término, al anestro de la lactancia y, luego del destete de los jabatos, al fotoperíodo. Cole, D. y Foxcroft, G., 1991, informan que, la hembra jabalí, es significativamente menos prolífica, el número de cuerpos lúteos por ciclo es de 4 a 6 y el tamaño promedio de la camada es de 5 jabatos. Por el contrario, la cerda doméstica tiene de 10 a 20 cuerpos amarillos por ciclo estral y una media de 12 lechones nacidos por parto. Como efecto de la domesticación, el mejoramiento genético y la selección, el porcentaje de pérdidas embrionarias y fetales es de 30% en la cerda y sólo de 13% en el jabalí. También el macho, a fines del verano y durante el otoño, disminuye la producción de semen con una significativa reducción de la libido. Esta infertilidad otoñal, coincide con el período de mayores fallas reproductivas en el cerdo doméstico. Denominado, por Quiles, A. y Hevia, M., 2007, "Síndrome de Infertilidad Estacional", comprende:

-retraso de la pubertad en cachorras

-abortos

-alargamiento del intervalo destete-celo

-disminución de la fertilidad, por una significativa caída en la tasa de partos y disminución del tamaño de la camada

-en machos menor calidad y cantidad de las dosis de semen producidas.

Las núlparas son las más afectadas y en grado decreciente las uníparas y multíparas, respectivamente, de acuerdo a lo informado por Love, R., 1978. Se explica este fenómeno como la conservación de vestigios del comportamiento rítmico, fotoperiódico del jabalí, su antecesor inmediato en la cadena evolutiva.

Noakes, D. y col., 2001, indican que hay varias evidencias de la influencia del fotoperíodo sobre la reproducción en la cerda doméstica; por ejemplo, el anestro es más prolongado al final del verano que en el invierno y la tasa de ovulación es menor.

La luz ejerce una marcada influencia en la reproducción. La disminución de las horas de luz diarias, estimulan a la glándula pineal para incrementar la producción de melatonina. Esta hormona es inhibidora de la síntesis y liberación de gonadotropinas hipofisarias, lo que explicaría, de acuerdo con diversas fuentes bibliográficas el efecto de la luz sobre la reproducción del cerdo doméstico. Al respecto, Hermabon, A. y col., 1995; Tast, A., 2002; informan que en las núlparas y en las cerdas adultas que no presentaron celo posterior al destete observaron ausencia de cuerpos lúteos por una disminución del estímulo luteotrófico de la LH. La mayor incidencia de muertes embrionarias y abortos, de acuerdo con Tast, A. y col. 2002, se debería a

que la señal de reconocimiento materno, la segunda ola de estrógenos producida por el embrión el día 19 es muy leve; agravado por los bajos niveles de progesterona en sangre.

Hughes, P. y van Wettere, W., 2010, informan que, investigadores de la Pork CRC Research, perteneciente a la Universidad de Sydney, comprobaron que los óvulos liberados en el período de infertilidad estacional, son de menor calidad comparados con los producidos en el resto del año. Se ha demostrado que la función reproductiva del macho disminuye con la disminución de las horas de luz diarias. La fertilidad es más alta en los meses de invierno y primavera. Disminuye en forma sostenida en los meses de verano y otoño, por acción de las altas temperaturas y el fotoperíodo, afectando la producción espermática, intensificando, según, Quiles, A. y Hevia, M., 2007, la infertilidad estacional de la cerda. Sin embargo, si en forma artificial, se invierte la duración del período de luz en el otoño, se observa un aumento en la producción de testosterona, en la concentración espermática y en la libido. Un programa simple y práctico, fue ideado por Tast, A. y col., 2005, para controlar los efectos negativos del fotoperíodo. Sugiere mantener, a lo largo del año, 16 horas de luz y 8 de oscuridad.

Del mismo modo Williams, S., 2015a, recomienda, si no hay suficiente luz, proporcionar luz blanca fluorescente a la altura de la cerda, no en la parte superior del tinglado, durante 14-16 horas al día, con una intensidad de 200-300 lux, pasando a 300-400 lux en el período destete celo.

De Alba Romero, C., 2016b, indica que en el alojamiento de los verracos, se requieren condiciones lumínicas óptimas, con una intensidad de 300 lux durante 10 a 16 horas diarias. Menciona además que la luz artificial fluorescente es mejor que la incandescente, dado que se distribuye más uniformemente y sin sombras

Decuadro-Hansen, G., 2015a, observó en Brasil, que la combinación manejo e instalaciones tiene un efecto significativo sobre el control del síndrome de infertilidad estacional, dado que la caída de la tasa de fertilidad fue de 3 a 25 unidades porcentuales, al considerar el efecto granja.

En conclusión, De Alba Romero, C., 2015; Williams, S., 2015b, consideran:

-Las altas temperaturas y la disminución de las horas de luz tienen sus efectos negativos sobre el ciclo reproductivo, siendo más afectadas las nulíparas y uníparas que las múltiparas

-Generalmente se observa al comienzo del otoño, por los cambios de clima y como consecuencia de haber soportado el efecto del stress calórico.

-Al alterarse la espermatogénesis y los niveles hormonales, se produce el denominado Síndrome de Infertilidad Estacional, con disminución de la función reproductiva que incluye: 1. calidad seminal alterada; 2. retraso de la pubertad en nulíparas; 3. abortos tempranos; 4. intervalos destete celos prolongados; 5. disminución de la fertilidad;

-Es fundamental considerar los tiempos de recuperación que necesitan los procesos biológicos, como la espermatogénesis, y los niveles hormonales para la tasa de ovulación o retención de la gestación.

-Ensayo de campo

Con el objetivo de medir a lo largo del año, las variaciones en la eficiencia reproductiva del macho y de la hembra, en condiciones de explotación a campo semi intensivas, sin control artificial de la luz y la temperatura ambiental, se realizó, durante 24 meses, el siguiente ensayo: 1. se utilizaron 807 eyaculados, de 10 verracos, recolectados con vagina artificial; 2. se efectuaron 568 primeros servicios, método de siembra convencional, utilizando semen diluido con el diluyente Güelph, hasta 72 horas del procesamiento en el laboratorio; 3. los verracos se alojaron individualmente, en casillas de material, con agua corriente y sombra, en las instalaciones del Colegio Agrotécnico Regional de Venado Tuerto; 4. las cerdas involucradas en este trabajo estadístico, pertenecían a la Estancia "San Alfredo" ubicada en Santa Emilia, 50 km al este de Venado Tuerto, manejadas bajo condiciones semi intensivas, a campo, en piquetes individuales o colectivos, según el estado reproductivo; 5. las condiciones sanitarias de los machos y las hembras eran óptimas, bajo un estricto control, con sangrados cada 30 días, realizados por la E.E.A Marcos Juárez en combinación con el INTA de Castelar, que declaró a los establecimientos libres de brucelosis; 6. se realizaron las siguientes estadísticas descriptivas:

- Evaluación microscópica del eyaculado según la época del año

La variable evaluación presenta dos niveles, aprobado y descartado. Al ser una variable dicotómica se utiliza un modelo logit para analizar las influencias de las restantes variables sobre la misma.

Se construye a partir de los meses una nueva variable que comprende las estaciones del año. En el modelo resulta significativa la variable estación o época del año (al 1%).

Los cocientes de chances (razones de Odds) representan el cambio en la chance de descarte del eyaculado en una estación del año versus el verano.

Más específicamente:

- La chance de descarte es veinte veces mayor en otoño que en verano
- La chance de descarte es tres veces mayor en invierno que en verano
- La chance de descarte es dos veces mayor en primavera que en verano.

En los eyaculados descartados, las características macroscópicas: olor, color, volumen, eran normales. Por el contrario, la observación microscópica mostraba la totalidad de los espermatozoides muertos aglutinados en forma de rosetas.

-Fertilidad considerando la época del año

Además, se analizó la relación entre la fertilidad, representada en la variable porcentaje de paridas con primer servicio, y el porcentaje de eyaculados descartados. Se consideró también, el tamaño de la camada y la cantidad de lechones por cerda inseminada. Los valores observados para el conjunto de datos se presentan en el cuadro 21.

Cuadro 21: Porcentaje de eyaculados descartados, porcentaje de paridas en primer servicio, lechones por cerda parida y lechones por cerda inseminada en cada período del año

Período	Porcentaje de eyac. descartados	Porcentaje de Paridas	Lechones / Cerda Parida	Lechones / Cerda Inseminada
Enero-Marzo	3,9%	69,4%	9,2	6,4
Abril-Junio	44,6%	61,5%	8,6	5,3
Julio-Septiembre	12,8%	82,8%	9,6	7,9
Octubre-Diciembre	8,5%	77,5%	10,3	7,8

Se calculó el coeficiente de correlación de rangos de Spearman para los distintos pares de variables. Los resultados se observan en el cuadro 22 . La correlación entre el porcentaje de eyaculados descartados y las restantes variables es negativa. Esta resulta más intensa al analizar las variables porcentaje de eyaculados descartados con el tamaño de la camada al parto y con los lechones nacidos por cerda inseminada.

Cuadro 22 : Correlaciones para el porcentaje de eyaculados descartados, porcentaje de cerdas paridas con un servicio, lechones por cerda parida y lechones por cerda inseminada.

Variables	Correlación
% de eyaculados desc.-% de cerdas paridas	-0,20
% de eyaculados desc.-Lechones/ c. parida	-0,40
% de eyaculados desc. -Lechones/c.Inseminada	-0,40

La figura 94 refleja los resultados obtenidos en el cuadro 21, ya que las variables porcentaje de eyaculados descartados y porcentaje de cerdas paridas en primer servicio, visualmente presentan una correlación negativa. Valores altos para el porcentaje de eyaculados descartados, infertilidad estacional del macho, coinciden, y estarían vinculados, con valores bajos en el porcentaje de cerdas paridas en primer servicio, infertilidad estacional de la hembra. La figura 95 presenta el comportamiento del tamaño de la camada por cerda parida con primer servicio y la cantidad de lechones nacidos por cerda inseminada, considerando la época del año.

Figura 94: Porcentaje de eyaculados descartados y porcentaje de cerdas paridas en primer servicio según el período del año

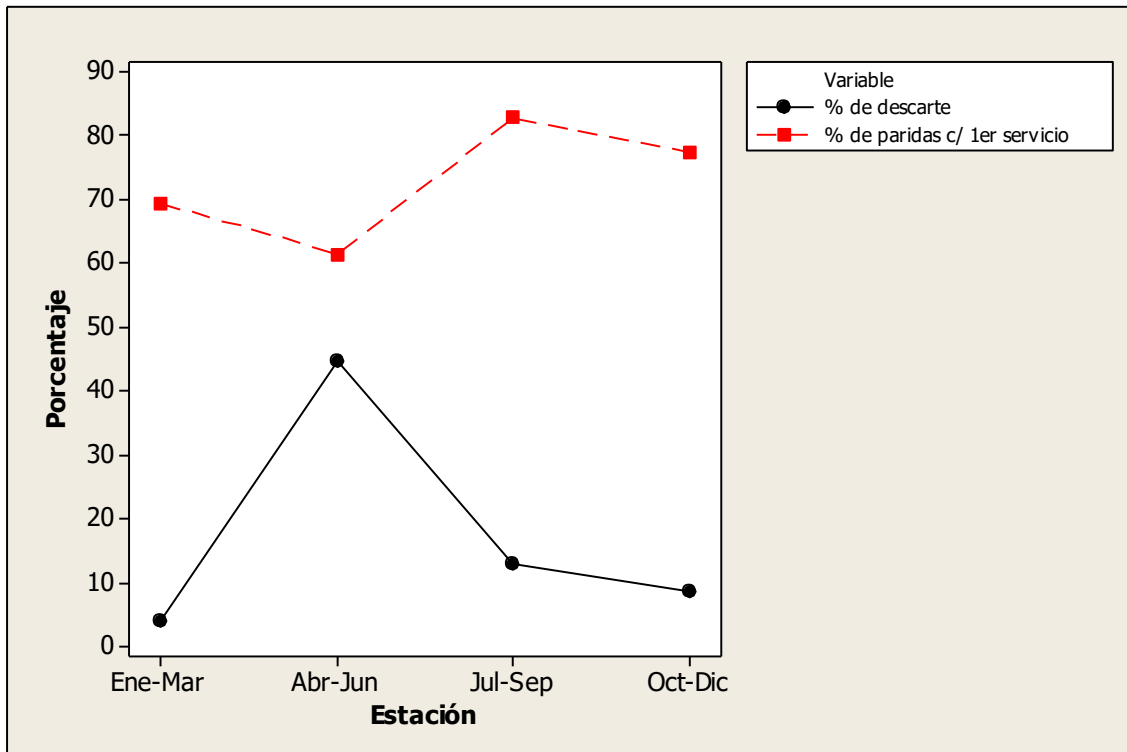
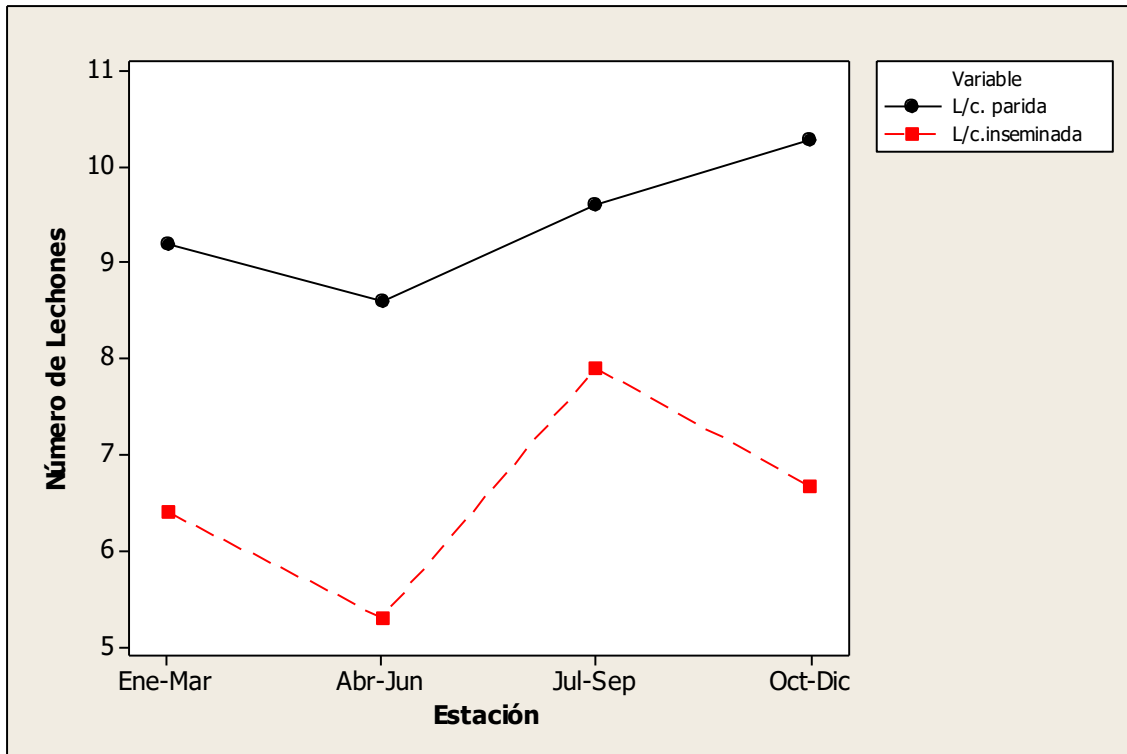


Figura 95: Tamaño de la camada por cerda parida en primer servicio y lechones nacidos por cerda inseminada según la estación del año.



CONCLUSIONES

- El mayor porcentaje de eyaculados descartados se produce en el otoño.
- La variable estación del año, al analizar la frecuencia de eyaculados descartados es significativa al 1%.
- En el otoño se obtienen los menores valores de fertilidad en las cerdas inseminadas. Disminuyen el porcentaje de cerdas paridas con primer servicio, el tamaño de la camada y el número de lechones nacidos por cerda inseminada.
- Existe una correlación negativa de -0,20, entre el porcentaje de eyaculados descartados y el porcentaje de cerdas paridas con primer servicio.
- La correlación negativa más intensa, de -0,40, se da entre porcentaje de eyaculados descartados/tamaño de la camada/lechones nacidos por cerda inseminada.

BIBLIOGRAFIA

- Almound, G.; Poolperm, P. Semen contamination and choosing antibiotics. Proceedings of the North Carolina Healthy Hogs Seminar. 96, 5, 1996
- Amann, J. Effects of testosterone injection on the semen quality in boars during high ambient temperature-Animal Reproduction Science, vol. 25 (1) 73-82, 1991
- Arisnabarreta, E. Inseminación artificial y sincronización de celos en cerdas. VIII Jornadas de Reproducción Animal. CIAVT, Venado Tuerto, S.Fé, 29 y 30 de junio, 1984
- Awda, B., Buhr, M. The effect of glove type on boar semen quality. Theriogenology/Abstracts 70, 1388, 2008
- Bearden, H.; Fuquay, J.; Willard, S. Environmental Management. Chapter 22, Pag. 338-339, in Applied Animal Reproduction, Sixth Edition, Pearson Prentice Hall, 2004
- Belstra, B., Flowers, B., & Todd See, M. Estrus or Heat Detection. Cfactsheet, Pork Information Gateway. Originally published as PIH-64. Pag. 1- 6, 2001
- Betteridge, J. The normal genital organs, In Laing, J.: Fertility and Infertility in the Domestic Animals, Chapter 2, Pag. 27-80. Balliere, Tindall & Cassell, 1970
- Bonet, S., Briz, M., Pinart, E., Sancho, S., Bussalleu, E., Yeste, M., Casas, I., García, E., Fabrega, A. y Torner, E. Biotecnología de la Reproducción Porcina: Estado actual y futuro de las técnicas de análisis seminal. en Biotecnología de la Reproducción Porcina, Universidad de Girona, pág. 18-23, 2009
- Brinley Morgan, W. Brucellosis. In Laing, J. Fertility and Infertility in the Domestic Animals, Chapter 7, 241-268. Balliere, Tindall & Cassell, 1970
- Britt, J. Biology and management of the early weaned sow. Proc. Am. Assoc. Swine Prac. 417-426, 1996
- Brogliatti, G.; García Migliaro, F.; Larraburu, G.; Herrera, C. y Tríbulo, H. Aplicación del análisis computarizado de semen – C.A.S.A. en la evaluación de la calidad seminal y la fertilidad. Resumen VI Simposio Internacional de Reproducción Animal. IRAC. Pág. 221. Junio 2005
- Caminotti, S. y Pinotti, H. Sincronización de celos con gonadotropinas en cerdas destetadas e inseminación artificial a tiempo fijo. Comunicación personal, 24-03-1982.
- Cano, A., García Mata, E. Cría de Cerdos, Enciclopedia Agropecuaria Argentina, Cap. III, pág.71-121, Editorial Sudamericana, Buenos Aires, 1953
- Cañete, L., Reflejo de tolerancia a la monta, test del jinete. Comunicación personal, 18-07-2006
- Christenson, R., Levis, D. Breeding Management of Swine. Sow Manual. Journal Of The Society For Theriogenology, Vol:XVII, pag. 17-40, 1989
- Cibelli, J. Spectronic 20 – Bausch & Lomb: su regulación. Informe I y II. CIAVT, Dic.1990
- Colautti, G. Obtención de un retajo (cerdo marcador de celos) por un método quirúrgico. Primera Reunión Informativa para Médicos Veterinarios sobre I.A. en Cerdos. CAR-CIAVT, Venado Tuerto- S. Fé, 2-11- 1981
- Colautti, G., Sincronización de celos con gonadotropinas, en cerdas destetadas, considerando el estado corporal. Comunicación personal, 13-01-82
- Cole, D. y Foxcroft, G. Reproducción porcina, Capítulo 4, 79-92, en Compendium de Reproducción Animal. P. Broers, editor. Laboratorios Intervet S.A., 1999.

- Dalrymple, J. Maximizing sow productivity. OMAF Factsheets, Agdex 440-35. Ontario Ministry of Agriculture and Food. 1979.
- Davis, D. Reproductive Physiology. Sow Manual, J. Of The Society For Theriogenology. Vol. XVII, 1-16, 1989
- De Alba Romero, C., Apuntes sobre Inseminación Intrauterina (IA-IU) en ganado porcino. Technical Report, Minitube, 03/2011
- De Alba Romero, C. La inseminación intrauterina en cerdos beneficios y riesgos. Avances en tecnología porcina. ISSN 1697-2015, Vol. 10, N° 101, pág. 16-24, Julio-Agosto, 2013
- De Alba Romero, C. Infertilidad en la época otoñal en porcinos. Comunicación personal, 26.5. 2015
- De Alba Romero, C. Uso del semen congelado en porcinos. Comunicación personal, 25.5.2016a
- De Alba Romero, C. Manejo de un centro de inseminación artificial. En Williams, S. Atlas de reproducción porcina. Capítulo 2, pág. 7-24, Inter-Médica Editorial, 2016b.
- De Alba Romero, C. Uso de la I.A post cervical en España, evolución y tendencia de uso. Comunicación personal, 10.04.17
- Decuadro-Hansen, G. Avances en I.A. en porcinos – Rev. Taurus Año 1 N° 3, 34-35, Set, 1999
- Decuadro-Hansen, G. Resultados práticos da Inseminação pós ou trans-cervical em suínos. Proceedings of 2° Congresso Latino Americano de Suinocultura Do Mercosul. Foz Do Iguaçu, Paraná, 2004
- Decuadro-Hansen, G. Infertilidad estacional. Comunicación personal, 21.5.2015a
- Decuadro-Hansen, G. Métodos de recolección de semen: alternativas más utilizados en Europa y América. Comunicación personal, 16-6-2015b
- Decuadro-Hansen, G. Protocolos destinados a sincronizar el celo en cerdas. Comunicación personal, 9.1.2017
- Decuadro-Hansen, G. Uso de catéteres reutilizables tipo Melrose para I.A convencional y utilizados como guía en la I.A. intrauterina profunda, en la actualidad. Comunicación personal, 6.04.2017
- Decuadro-Hansen, G. Uso de la I.A post cervical en los países avanzados en producción porcina. Comunicación personal, 27.04.17
- Du Mesnil Du Buisson, F., Dauzier, L. Improvement of practical use of preservation techniques for boar semen by saturation of the diluent with carbondioxide. Ann. Zootech. Suppl. 8, 81-96, 1959
- Du Mesnil Du Buisson, F., Paquignon, M. & Courot, M. BOAR SPERM PRODUCTION : USE IN ARTIFICIAL INSEMINATION-A REVIEW. Livestock Production Science, 5, 293-302, 1978.
- Equipo Técnico de Kubus S.A. Aplicación del semen. En Manual de Inseminación Artificial Porcina, Cáp.7, pág. 75-81, 2010
- Estienne, M., Harper, A. Using Artificial Insemination in Swine Production: Detecting and Synchronizing Estrus and Using Proper Insemination Technique. Publications and Educational Resources, Virginia Tech. Virginia State University- 414-038, May 1, 2009
- Estrada, E. Efectos del glutatión reducido y la procaina en la resistencia a la criopreservación de semen porcino. Acciones a nivel de la estabilidad nuclear y su efecto en la fertilidad in vivo. Tesis Doctoral, Facultad de Veterinaria de Barcelona, Universidad Autónoma de Barcelona, 2014

Estrada, E., Rodríguez-Gil, J., Rocha, L., Balasch, S., Bonet, S., & Yeste, M. Supplementing cryopreservation media with reduced glutathione increases fertility and prolificacy of sows inseminated with frozen-thawed boar semen. *Andrology*, Volume 2, Issue 1, January. Pages 88-99, 2014

Falceto, M. Diagnóstico y tratamiento del anestro en la cerda. XXXIII Simposio Anaporc. Lisboa, Portugal, 25-26 Octubre, 2012.

Falceto, M., Duque, C., Alfonso, M., Ciudad, M., y Espinosa, E. Variaciones fisiológicas de la funcionalidad ovárica en la cerda. *Fisiopatología ovárica en la cerda*, Anales de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza, Cap.I, pag. 11-32, 2005

Feitsma, H. Artificial insemination in pigs, research and development in the Netherlands, a review. *Acta Scient Veterinariae*, 37, Suppl.1, 61-71, 2009

Ford, S., Christenson, R. & Ford, J. Uterine blood flow and uterine arterial venous and luminal concentrations of oestrogens on Days 11, 13, and 15 after oestrus in pregnant and non-pregnant sows. *J. Reprod. Fertility*, January 1, 185-190, 1982

Foxcroft, G., Hunter, M. Basic physiology of follicular maturation in the pig. *J. Reprod. Fert.* 33: 1-19, 1985

Fraser, L.; Gorszczaruk, K.; Strzezek, J. Relationship between motility and membrane integrity of boar spermatozoa in media varying in osmolality. *Reproduction Domestic Animal*. 36, 325-329, 2001

Gabosi, H. Capacidad de alojamiento de verracos de los Centros de I.A.P en Argentina. Comunicación personal, 15-11-2015

Gabosi, H. Métodos de recolección de semen utilizados por los Centros de I.A.P en Argentina. Comunicación personal, 15-4-2016

Gabosi, H. Uso actual de la pipeta de Melrose. Estadísticas sobre utilización de la I.A. post cervical. Comunicación personal, 10-04-17.

Gabosi, H. Cantidad de dosis producidas anualmente por un verraco adulto. Comunicación personal. 22-05-17

Gadea, J. Diluyentes de semen utilizados en la I.A del cerdo. *Revisión Bibliográfica. Spanish Journal of Agricultural Research*, I (2): 17-27, 2003

Gadea, J., Selles, E., Marco, M., Coy, P., Matas, C., Romar, R., Ruiz, S. Decrease in glutathione content in boar sperm after cryopreservation. Effect of the addition of reduced glutathione to the freezing and thawing extenders. *Theriogenology*, Aug. 62(3-4): 690-771, 2004

Gadea, J., García-Vazquez, F., Matas, C., Gardón, J., Cánovas, S., Gumbao, D. Supplementation of the freezing media with reduced glutathione preserves sperm function. *J. Androl.* 26 (3) 2005

Gadsby, J., Balapure, A., Britt, J., Fitz, T. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ Receptors on Enzyme-Dissociated Pig Luteal Cells throughout the Estrus Cycle. *Endocrinology* 126 : 787-795, 1990

Garay, A. Modelo artesanal de potro móvil para monta de verracos. Comunicación personal, 08-01-2005

García Casado, P., Sardan, L., Carrasco, D., Castedo, J., Cardoso, R., Lorenzo, J. Evolución de la técnica de inseminación artificial en el ganado porcino. *Avances en tecnología porcina* Vol. X, N°98 83-87, Abril, 2013

Geiser, R., Biggers, B., Wetteman, R., Zavy, M. Length of pseudopregnancy in the gilt is influenced by days of oestradiol treatment. *Proc. 10th International Congress on Animal Reproduction & A.I.* Vol. I, 507, 1984

Gil Pascual, J. Los expertos opinan: Inseminación artificial en porcino según el punto de deposición de la dosis seminal. *3tres3*, la página del Cerdo <https://www.3tres3.com> 27-ago-2007

Gil Pascual, J. Inseminación Artificial Post Cervical con Masaje Cervical. Arvet Veterinaria, SL. Agosto 18, 2008.

Gil Pascual, J. Inseminación Artificial Post Cervical Con Estimulación Cervical. Producción Porcina, noviembre 28, 12: 40 views: 353, 2013

Gilmore, J.A.; Du, J.; Tao, J.; Peter, A.T.; Critser, J.K. Osmotic properties of boar spermatozoa and their relevance to cryopreservation. J. Reprod. Fertil. 107, 87-95, 1996

Gordon, I. Controlled reproducción in pigs. CABI Publishing. 1997

Gordon, I. Introduction. Chapter 1, 1-48, in Reproductive Technologies in Farm Animals, CABI Publishing, 2004.

Gordon, I. Artificial Insemination. Chapter 2, 49-81, in Reproductive Technologies in Farm Animals, CABI Publishing, 2004.

Guerin, B., & Pozzi, N. Viruses in boar semen: detection and clinical as well as epidemiological consequences regarding disease transmission by artificial insemination. Proceedings of the V International Conference on Boar Semen Preservation. Theriogenology Vol. 63. Issue 2, Pages: 556-572, 15 January, 2005

Guthrie, H. The follicular phase in pigs: follicle populations, circulating hormones, follicle factors and oocytes. J. Anim. Sci. 83: E79-E89, 2005.

Hancock, J., & Hovell, G., Pig insemination technique. Veterinary Record, 71, 523-527, 1959.

Hancock, R. Clinical observations on seasonal infertility in sows in Cornwall. Vet. Rec., 123: 413-416, 1988

Hawk, H. Sperm Survival and Transport in the Female Reproductive Tract. J. Dairy Sci. 66: 2645-2660, 1983.

Hermabon, A., Prunier, A., Djane, J. y Salesse, R. Gonadotropins in lactating sows exposed to long or short days during pregnancy and lactation: serum concentrations and ovarian receptors. Biol. Reprod. , 53: 1095-1102, 1995

HTM-IVOS Software Guide, 2002

Hodson, H. Postpartum sow management for maximum reproductive performance. In Morrow, D. A.: Current therapy in theriogenology, section XII, 1096-1099, 1980

Hughes, P., & Varley, M. Fertility in the male. Chapter 12, 187-195, in Reproduction in the Pig, Butterworths, 1980.

Hughes, P. & van Wettere, W., Seasonal infertility in pigs. Pork CRC, 1-6, Dec., 2010

Hühn, U. y Koning, I. Recomendaciones científico-técnicas para la tecnología de la reproducción del cerdo. Editado por la Academia de Ciencias Agrícolas de la RDA. 1976

Hunter, R. Differentiation, Puberty, and the Oestrus Cycle. in Physiology and Technology of Reproduction in Female Domestic Animals, Academic Press, Chapter I, Pag. 1- 34, 1980a

Hunter, R. Mating, Sperm Transport in the Female Genital Tract, and Artificial Insemination. in Physiology and Technology of Reproduction in Female Domestic Animals, Academic Press, Chapter IV, Pag. 104-144, 1980b

Iritani, A. Problems of freezing spermatozoa of different species. 9th International Congress on Animal Reproduction & A. I., Vol. 1, Plenary Sessions, 115-132, 1980

Johnson, L., Aalbers, J., & Arts, J. Use of boar spermatozoa for artificial insemination II. Fertilizing capacity of fresh and frozen spermatozoa in gilts inseminated either at a fixed time or according to Walsmeta readings. *J. Animal Sci.*, Vol. 54, N°1, 1982

Johnson, M. Regulation of Gonadal Function. in *Essential Reproduction*. Chapter 6, pag:102-132, Sixth Edition- Blackwell Publishing, 2007

Kaeoket, K., Persson, E., & Dalin, A. Corrigendum to “The sow endometrium stages of the oestrus cycle: studies on morphological changes and infiltration by cells of the immune system” *Animal Reproduction Science* , Vol.: 73, Issues 1-2, 89-107, 2002.

Keller, M. Nociones de inseminación artificial en el ganado porcino. en: *Inseminación artificial y sus últimos avances*. Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería. Editorial Codex S.A. Buenos Aires. Pag. 52-59, 1975

Kennelly, J. & Foote, R. Sampling boar testes to study spermatogenesis quantitatively and to predict sperm production. *J. Anim. Sci.*, Vol. 23, (1), 160-167, 1964.

King, G., & Macpherson, J. A comparison of two methods for boar semen collection. *J. Anim. Sci.* Vol. 36, 3, 563-565, 1973

Kirkwood, R. Reproductive innovations: control of sow estrus and breeding. London Swine Conference- Thinking Globally, Acting Locally, 5-6 April, 161-168, 2006

Knox, R. Recruitment and selection of ovarian follicles for determination of ovulation rate in the pig. *Domestic Animal Endocrinology*, 29: 385-397, 2005.

Knox, R. The Fertility of Frozen Boar Sperm When used for Artificial Insemination. *Reprod. Domest. Anim.* Jul.; 50, Suppl.2: 90-7-101: 1111/rda. 12552, 2015

Kóning, I. Inseminación de la cerda. en *Inseminación de la cerda: Biología, técnica, organización*. Cap.4. Editorial Acribia, 1979.

Langendijk, P., Socde, V., Kemp, B. Uterine activity, sperm transport, and the role of boar stimuli around inseminations in sows. *Theriogenology*. Vol.63, Issue 2, January, 2005

Layún, M. Estudio comparado de diferentes sistemas de aplicación de semen porcino. *ITG Ganadero*- Pag. 41-48, Mayo-Junio, 2004.

Lellbach, C., Leiding, C., Rath, D., Staehr, B. Effects of automated collection methods on semen quality and economic efficiency of boar semen production. *Theriogenology/Abstracts* 70, 1389, 2008

Levis, D. AI Laboratory – Part I. Processing of Semen. The Ohio State the University Extension. Page 2-3. Nov.2004

Love, R. Definition of a seasonal infertility problem in pigs. *Vet. Rec.*, 103: 443-446, 1978.

Llóveras, M. Mayor inseminación artificial en porcinos. *Suplemento Campo*, pág.8, La Nación, 20-07-2013

Marotta, E. Extracción de semen en el cerdo: técnica y material. *Revista de Medicina Veterinaria*. Vol.54, pág. 25-34, 1973.

Marotta, E. Inseminación artificial en la especie porcina. *Revista de Medicina Veterinaria*. Vol. 59, Pág. 310-312, 1978

Martín Rillo, S.; Shokouhi, V.; García Boix, E.; Hernandez Gil, R.; Romero, L. Contamination of semen doses and its possible relationship with the bacterial flora of the prepuce. 15th IPVS Congress. 3, p 60, 1998

Martinez, E., Vazquez, J., Roca, J. Lucas, X., Gil, M., Parrilla, I., Vazquez, J., Day, B. Successful non-surgical deep intrauterine insemination with small numbers of spermatozoa in sows. *Reproduction*, 122: 289-296, 2001

McDonald, L. Tipos de reproducción en porcinos. En *Reproducción y endocrinología veterinarias*, Cap. 16, pág. 387-396, Editorial Interamericana S.A. 1971.

McGlone, J., Pond, W., in *Reproductive Biology*, Chapter 5, pag. 51-65. *Pig Production: Biological Principles and Applications*. Thomson- Delmar Learning. Clifton Park. N.Y., 2003

McNitt, J. y First, N. Effects of 72-hour heat stress on semen quality in boars. *Int. J. Biomet.* 14, 373-380, 1970

McNitt, J.; Tanner, C. y First, N. Thermoregulation in the scrotal system of the boar. I- Temperature distribution. *J. Anim. Sci.* 34, 112-116, 1972

Melrose, D. & O'Hagan, C. Investigations into the techniques of inseminations in the pig. *Proc. 4th Int. Congr. Anim. Reprod.* , The Hague 4, 855-859, 1961

Miles, P. y Allende, R. Calibración de un espectrofotómetro en el Laboratorio de Inseminación Artificial. *Rev. Arg. de Producción Animal-AAPA*. Vol. VII, 1981

Molinari, R., Parámetros de eficiencia reproductiva en cerdas tratadas con PG600 al día siguiente del destete. Comunicación personal, 14-11-1986

Noakes, D., Parkinson, T. & England, G. Endogenous and exogenous control of ovarian cyclicity. En *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. Eight Edition, Chapter: 1, pages: 3-53, Elsevier, 2001.

Noguchi, M., Yoshioka, K., Itoh, S., Susuki, C., Arai, S., Wada, Y., Hasegawa, Y., & Kaneko, H. Peripheral concentrations of inhibin A, ovarian steroids, and gonadotropins associated with follicular development throughout the estrus cycle of sow. *Reproduction*, Vol: 139, 153-161, 2010

Okasaki, T., Abe, S., Yoshida, S., Shimada, M.. Seminal plasma damages sperm during cryopreservation, but its presence during thawing improves semen quality and conception rates in boars with poor post-thaw semen quality. *Theriogenology*. Feb, 491-498, 2009

Okasaki, T., Shimada, M.. New strategies of boar sperm cryopreservation: development of novel freezing and thawing methods with a focus on the roles of seminal plasma. *J. Anim. Sci.* Sep, 83 (9) 623-629, 2012

Ollivier, L. & Sellier, P. Pig genetics: a review. *Ann. Génét. Sél. anim.*, 14 (4), 481-544, 1982.

Pallás Alonso, R. Manejos reproductivos en cerdos. Primer Congreso Latinoamericano del Interior. Drovot, Rosario, S. Fe, 5 y 6 de junio, 2015.

Palmer, W. M., Teague, H. S.; Venzke, W. G. Macroscopic observations on the reproductive tract of the sow during lactation and early postweaning. *J. Anim. Sci.* Vol. 24, N° 2. pág. 541-545, 1965

Palomo Echagüe, A. Resúmenes de las 45as Jornadas de Investigación Porcina en Francia. Paris ,5-6 de febrero, 2013

Paquignon, M. Congelación de semen de verraco en pellets. Entrevista personal en la Estación de Fisiología de la Reproducción, INRA, Nouzilly, Julio, 1980

Pelland, C., Cassar, G., Kirkwood, R., Friendship, R. Fertility after intrauterine insemination with conventional or low numbers of spermatozoa in sows with synchronized ovulation. *J. Swine Health Prod.*, 16(4): 188-192, 2008.

Perez García, T., Vazquez Gonzalez, I. y Martin Rillo, S. Inseminación artificial porcina. Ganado Porcino, suplemento 2. Avances en alimentación y mejora animal, 46: 3-11, 1978.

Polge, C., Artificial insemination in pigs. Vet. Rec., 68. 62-76, 1956. .

Prunier, A., Messias de Bragan, M. , Le Dividich, J. Influence of high ambient temperatures on performance of reproductive sows. Livestock Production Science. Vol. 52, Issue 2, Pag. 123-133, December, 1997.

Pursel, V., Schulman, L., Johnson, L. Distribution and Morphology of Fresh and Frozen Thawed Sperm in the Reproductive Tract of Gilts after Artificial Insemination. Biology of Reproduction, Vol:19, N°1, 69-76. August 1, 1978

Pursel, V. Advances in preservation of swine spermatozoa. in Animal Reproduction. Beltsville Symposia in Agricultural Research. Hawk, HW John Willey and Sons, New York, 145, 1979.

Pursel, V., Johnson, L., & Schulman, L. Effect of dilution , seminal plasma and incubation period on cold shock susceptibility of boar spermatozoa. J. Anim. Sci. , 37, (2), 528-531, 1973.

Quiles, A. y Hevia, M. Infertilidad estacional en la cerda. Producción Animal, N° 233, 19-32, 2007.

Radicchi Lobato Campos de Almeida. Manejo del ciclo estral y la gestación en la cerda. En Williams, S. Atlas de reproducción porcina. Capítulo 6, pág. 49-56, Inter-Médica Editorial, 2016.

Rathore, A. Effects of high temperature on sperm morphology and subsequent fertility In Merino sheep. Proc. Aust. Soc. Anim. Prod. 7, 270-274, 1968.

Rathore, A. High temperature exposure of male rabbits: fertility of does mated to bucks subjected to 1 and 2 days of heat treatment. Br. Vet. J. 126, 168-172, 1970.

Riesenbeck, A. Review on International Trade with Boar Semen. Reproduction in Domestic Animal, 46 (Suppl. 2), 1-3, 2011

Rigau, T.; Piedrafita, J.; Reverter, J.; Canal, M.; Rodríguez Gil, J.E. The rate of L-lactate production: a feasible parameter for the fresh diluted boar semen quality analysis. Anim. Reprod. Sci. 43, 161-172, 1996

Roca Aleu, J. Inseminación artificial porcina: ¿ que técnica utilizar y con cuantos espermatozoides por dosis? Los expertos opinan. www.3tres3.com Abril, 07,2014

Roca, J., Rodríguez-Martinez, H., Vazquez, J., Bolarin, A., Hernandez, M., Saravia, F., Wallgren, M., Martinez, E. Strategies to improve fertility of frozen-thawed boar semen for artificial insemination. Soc. Reprod. Fertil. Suppl. 62; 261-275, 2006

Rodríguez-Martinez, H. ¿ Es posible simplificar la congelación del semen porcino? Los expertos opinan. www.3tres3.com Julio, 22, 2013.

Rouco, A.; Muñoz, A. Economic weights determination of zootechnical parameters in pig production. 15th IPVS Congress. Birmingham. 3, p 8, 1998

Sanchez Sanchez, R. Congelación del semen porcino. Historia y evolución. Los expertos opinan. www.3tres3.com Febrero, 20, 2007.

Santa María, P. Mejora genética en cerdos para una mayor producción. Campo, pág.6, La Nación, 20-02-2016

Selk, G. Using Fresh and Frozen Semen in Swine AI Programe. Cooperative Extension Service, Oklahoma State University. E.3607, 1990

- Simmet, C. Manejo del semen porcino para la inseminación artificial. Minitüb, Reproducción Animal SRL, 1991
- Simmet, C. El principio básico: un concepto científico. Tecnología de Reproducción Animal, Porcino-Minitüb, pág. 12, 2015
- Simmet, C. Uso de catéteres reutilizables tipo Melrose y sus respectivos contenedores de esterilización. Comunicación personal, 4.04.2017
- Simmet, C. Aplicación de la I.A. post cervical en Alemania. Comunicación personal, 19.04.17.
- Singleton, W. Physical examination of the female and the female reproductive tract. In Morrow, D., Current therapy in theriogenology, section XII, 1027-1033, W.B. Saunders Company, 1980
- Soede., N., Helmond, F., & Kemp, B. Periovarial profiles of estradiol, LH, and progesterone in relation to oestrus and embryo mortality in multiparous sows using transrectal ultrasonography to detect ovulation. J. Reprod. Fertil., 101, 3, 633-641, 1994.
- Steverink, D., Soede, N., Bouman, E., & Kemp, B. Semen backflow after insemination and its effect on fertilization results in sows. Animal Reproduction Science, Vol. 54, Issue 2, 31-12, Pag. 109-119, 1998.
- Swienstra, E. Effect of disease and stress on reproductive efficiency in swine. 8. Coop. Ext. Service, University of Nebraska, 1970
- Swierstra, E., & Rahnefeld, G. Semen collections with artificial vagina in swine. Can. J. Anim. Sci. 47, 283-288, 1967.
- Swienstra, E. & Rahnefeld, G. Effect of cold stress and repeat mating on reproductive performance of swine. Can. J. Anim. Sci. 52, 309-316, 1972
- Tast, A. Endocrinological basis of seasonal infertility in pigs. Academic Dissertation. PhD Thesis, Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki, 2002
- Tast, A., Peltoniemi, O., Virolainen, J., y Love, R. Early disruption of pregnancy as a manifestation of seasonal infertility in pigs. Animal Reproduction Science, 74 (1-2) : 75-86, 2002
- Tast, A., Hall, O., Virolainen, J., Oravainen, J., Heinonen, M. & Peltoniemi, O. Investigation of a simplified artificial lighting programme to improve the fertility of sows in commercial piggeries. Vet. Rec. 156: 702-705, 2005
- Terlouw, S., Simmet, C., Schlingen, T., Schenk, J., James, E., Gunderson, G., Didion, B., & Dobrinsky, J. Comparison of AutoMate[®] and the gloved-hand method for boar semen collection. Theriogenology/Abstracts 70, 1388, 2008
- Thaker, M. & Bilkei, G. Lactation weight loss influences subsequent reproductive performance of sows. Animal Reproduction Science. Vol. 88, Issues 3-4. September. Pag. 309-318, 2005
- Thibault, M.; Courot, M.; Martinet, L.; Mauleon, P.; Du Mesnil du Buisson, F.; Ortavant, R.; Pelletier, J., & Signoret J. Regulation of breeding season and oestrus cycles light and external stimuli in some mammals. J. Anim. 25, 119-139, 1966.
- van der Sluis, W., Minimizing lost days increases litter index. Pigs, 38-39, February, 1985
- van Gemert, W. Take a closer look at Boar Semen. Pigs, 6-7, February, 1985

Vazquez, J., Martinez, E., Roca, J. Gil, M. Parrilla, I., Cuello, C., Carvajal, G., Lucas, X., y Vazquez, J. Improving the efficiency of sperm Technologies in pigs: The value of deep intrauterine insemination. *Theriogenology*, 63: 536-547, 2005.

Vitali, L., Uso actual de la pipeta de Melrose. Estadísticas sobre utilización de la I.A. post cervical. Comunicación personal, 17.04.17.

Weitze, K., Wagner-Rietschef, H., Waberski, D., Richter, L., Krieter, J. The Onset of Heat after Weaning, Heat Duration, and Ovulation as Major Factors in AI Timing in Sows. *Reprod. Dom. Anim.* 29, 433-443, 1994

Wetteman, R.; Omtvedt, I.; Wells, M.; Pope, C. & Turnan, E. Effect on elevated ambient temperature on boars. *J. Anim. Sci.* 37, 332-333, 1973

Williams, S. Inseminación Artificial en Porcinos. En Bosch, R. Actualización de temas en Reproducción Animal. Segunda Edición, U.N.R.C. 397-417, 2005.

Williams, S. Reproducción Porcina: Técnica pos cervical en porcinos. *Revista Veterinaria Argentina*, Vol. XXX, N° 303, Julio, 2012.

Williams, S. Infertilidad otoñal en porcinos. Comunicación personal. 23.5.2015a

Williams, S. Inseminación Artificial una técnica de bajo costo y alto impacto. Jornada TODO CERDOS, Villa María, Cba, 15-07-2015b

Williams, S. Fisiología y endocrinología de la hembra porcina. En Williams, S. Atlas de reproducción porcina. Capítulo 4, pág. 33-38, Inter-Médica Editorial, 2016.

Williams, S. y Fernandez, V. Evaluación, procesamiento y conservación del semen. Inseminación artificial. En Williams, S. Atlas de reproducción porcina. Capítulo 3, pág. 25-32, Inter-Médica Editorial, 2016.

Williams, S. Uso actual de la pipeta de Melrose. Estadísticas sobre utilización de la I.A. post cervical. Comunicación personal, 27.04.17.

Wrathall, A. Reproductive disorders in pigs. *Diagnosis. Br. Vet. J.* 129, 106-115, 1973.

Wrathall, A. Management. in Wrathall, A. Reproductive disorders in pigs. 7: 212-225, Commonwealth Agricultural Bureaux, 1975

Wrathall, A. Ovaries disorders in the sow. *The Veterinary Bulletin*, Vol 50, April, N°4, 1980

Yamaguchi, S., Funahashi, H., & Murakami, T. Improved Fertility in Gilts after Artificial Insemination of Frozen-Thawed Boar Semen by Supplementation of Semen Extender with Caffeine and CaCl₂. *J. Reprod. Dev.* 55: 645-649, 2009

EPILOGO

Nuestro maestro Pedro Miles, fundador, mentor e ícono de CIAVT, al tomar conocimiento de la decisión empresarial de cerrar el Centro de IAP CAR-CIAVT, fue hacia nosotros y nos dijo: "hacharon el árbol antes que diera sus frutos". Esta metáfora, aún hoy, después de transcurridas más de tres décadas, tiene plena vigencia.