

Ventajas de la inseminación artificial en órganos (Parte I)

Fuente: Actualidad Porcina (www.actualidadporcina.com)

Una ventaja zootécnica para una correcta inseminación artificial, es la Difusión rápida del progreso genético. Al utilizar sementales de mayor valor genético, se logra una mejora rápida en las explotaciones porcinas.



Actualmente están en uso las siguientes técnicas de reproducción asistida de ganado porcino:

- Selección de los futuros reproductores
- Manejo de los verracos para IA
- Selección de las futuras reproductoras
- Educación sexual de la nulípara
- Detección de celo de las nulíparas y cerdas destetadas
- Inseminación
- Manejo de granja en continuo o en bandas (3 o 5 semanas)

Introducción a la IA

Para que sea posible mejorar los resultados de una explotación sirviéndose de las ventajas de la IA hace falta formarse y aplicar con todo detalle los protocolos que hablan de:

Obtención del material:

- Colección de los eyaculados
- Recogida de oocitos mediante laparoscopia o cirugía
- Recogida de embriones mediante laparoscopia o cirugía

Tratamientos biotecnológicos:

- Preparación de dosis seminales y envasado/encapsulado

- Refrigeración y conservación de las dosis seminales
- Congelación y conservación de las dosis seminales
- Descongelación de las dosis seminales
- Separación espermática por citometría de flujo
- Fecundación in vitro de los oocitos
- Conservación de los embriones
- Vitricación de los embriones

Técnicas de inseminación de las cerdas:

- Inseminación artificial estándar
- IA estándar bifásica
- IA estándar “manos libres”
- Inseminación postcervical
- Inseminación intrauterina profunda
- Inseminación intraoviductal con laparoscopia
- Trasplante de los embriones mediante cirugía o sin ella

Ventajas de la inseminación

Ventajas zootécnicas:

- Disminución del número de verracos con ahorro de espacio y de costes de mantenimiento.

- Difusión rápida del progreso genético, mejorando los rendimientos al utilizar sementales de mayor valor genético, se logra una mejora rápida en las explotaciones porcinas.

- Producción de lotes más homogéneos para matadero.

- Incremento en precisión de evaluación del valor genético
- Los sementales en I.A. producen gran descendencia
- La información medida en la descendencia e incluida en un índice de selección aumenta la precisión en la evaluación de los caracteres medidos.

- Incremento en la intensidad de selección por aumentar el número de concepciones por semental vía IA en comparación con monta natural, por lo que se reduce el número de sementales a ser seleccionados.

- Permite controlar la calidad espermática de los sementales que están sujetos a múltiples efectos medio ambientales, de manejo y sanitarios.

Ventajas sanitarias:

- Reducción del riesgo de transmisión y aparición de enfermedades infecto-contagiosas por vía sexual.
- Se reduce la entrada de animales portadores de enfermedades del exterior.

Ventajas de manejo:

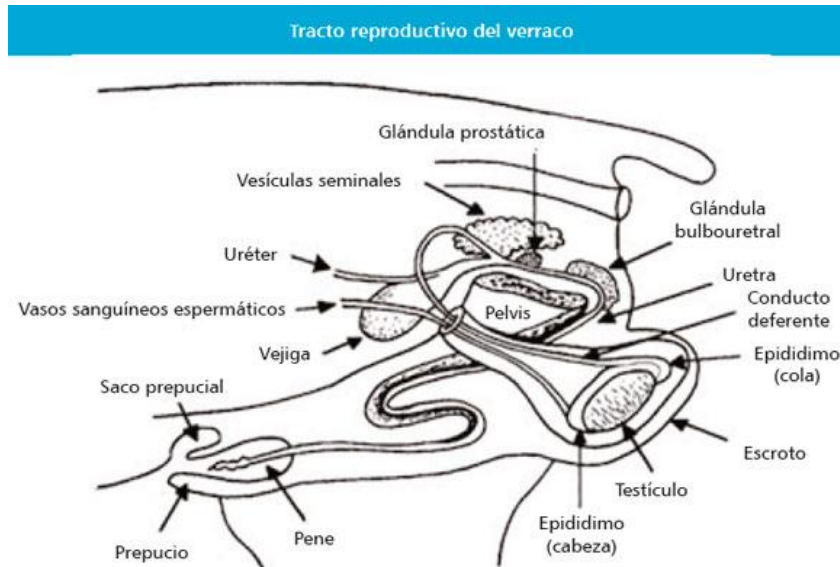
- Ahorro de tiempo y esfuerzo evitando la monta natural y el desplazamiento de los reproductores.
- Permite usar animales de distinto peso en el cruce.
- Reduce el stress de animales con problemas cardíacos o de claudicación durante la monta.

El verraco

Anatomía del aparato genital masculino

1. Testículo.
2. Cabeza del epidídimo.
3. Cola del epidídimo.
4. Pene.

5. Divertículo prepucial.
6. Glándula bulbouretral.
7. Glándula vesicular.
8. Músculo retractor del pene.
9. Vejiga.
10. Próstata.
11. Uretra.



Fisiología del aparato genital del verraco

Las principales hormonas reguladoras del sistema reproductivo del macho son:

- La hormona liberadora de gonadotrofina o gonadorrelina (Gn-RH) producida en el hipotálamo.
- La LH, hormona luteinizante, y la FSH, hormona foliculoestimulante, que se producen en el lóbulo anterior de la hipófisis.
- Testosterona, principal esteroide producido por las células de Leydig.

Durante la eyaculación se mezclan casi de manera instantánea en la región de la uretra pelviana una masa densa de espermatozoides con el plasma seminal de las glándulas accesorias para formar el fluido, semen, expulsado desde el pene. El testículo y epidídimo contribuyen con el 5% del eyaculado final, mientras que las glándulas accesorias aportan hasta 95% de su volumen.

Entrenamiento de los verracos para la I.A.

El entrenamiento de los verracos consiste en hacerlos saltar sobre un potro o maniquí para poder realizar la extracción de semen.

Para proceder, el potro o maniquí ha de ser fácil de transportar y ligeramente más bajo que la altura de los ojos del verraco, por lo que debe tener las medidas aproximadas a una cerda primeriza. Debe ser lo suficientemente cómodo y firme para que el animal no sufra daño y mantenga la estabilidad durante el procedimiento.

Un verraco puede comenzar a ser entrenado a partir de los 6 - 7 meses de edad. Los machos adultos que ya han sido utilizados para la monta natural no presentan ningún inconveniente para someterles a entrenamiento, aunque en

ciertas ocasiones, con determinados machos, no se logra el objetivo de que salte sobre el potro.

Producción de dosis seminales

Laboratorio, recolección y contrastación Laboratorio de I.A.: Equipamiento mínimo necesario y opciones

Dependiendo del tamaño, funcionamiento del centro y del uso de material desechable o de vidrio a continuación se enumeran los distintos equipamientos para el laboratorio y opciones existentes:

- Potro de recogida
- Baño María
- Sistema purificador de agua
- Microscopio
- Cámara de video y monitor
- Balanza electrónica
- Selladora de tubos o blister
- Conservadora a 16°C para el almacenamiento de dosis.
- Termómetros máxima y mínima

Material de laboratorio

Para la recogida de los eyaculados

- Vasos de precipitado de vidrio de 250 cc /400 cc o vasos plásticos desechables
- Bolsas de plástico con o sin filtro incorporado
- Termos de recogida
- Gomas y filtros
- Guantes de vinilo sin talco
- Guantes de plástico

Para la evaluación de la calidad seminal

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Probetas graduadas
- Cámara de conteo Newbauer o Burker
- Pipetas Pasteur
- Pipetas de 1 ml cristal o automática
- Pipetas de vidrio de 10ml
- Matraces aforados de 100ml
- Fiole aforada de 50 ml
- Termómetros de alcohol o termómetro láser
- Suero fisiológico formolado
- Reactivos comunes: formaldehído al 40%, citrato sódico, cloruro sódico

Para la preparación de las dosis seminales

- Matraces Erlenmeyer de 2000 / 5000 ml
- Jarras de plástico 2000 / 5000 ml
- Bolsas de dilución
- Diluyente de semen de verraco
- Agua bidestilada o purificada
- Envases de dosis seminales (botellas, tubos, sachets...)

Para la inseminación

- Nevera portátil de transporte a 16°C, a batería.
- Catéteres de inseminación desechables (espuma o espiral)
- Toallitas desinfectantes

- Guantes de látex o plástico
- Alforjas de inseminación
- Feromonas sintéticas en spray
- Baño María para calentamiento de dosis a 37°C

Recolección de semen

El eyaculado se debe recoger directamente en vaso de precipitado u otros recipientes desechables (vaso o bolsa de plástico) situados dentro de un termo para mantener la temperatura cercana a los 37°C. A la vez sobre el recipiente se coloca un filtro para que durante la recolección se impida la mezcla de la fracción espermática del eyaculado con el gel o tapioca u otras partículas extrañas. Actualmente, en el mercado están disponibles bolsas de recogida de plástico que llevan el filtro incorporado. La técnica más correcta para la extracción es la de “doble guante”, donde el segundo guante, o guante externo, mantiene limpio el primero o interior hasta el momento inmediatamente anterior al inicio de la sujeción del pene para comenzar la recogida.

- El semen cae sobre un medio adecuado.
- Catéteres de inseminación desechables (espuma o espiral)
- Toallitas desinfectantes
- Guantes de látex o plástico
- Alforjas de inseminación
- Feromonas sintéticas en spray
- Baño María para calentamiento de dosis a 37°C

Fracciones del eyaculado

El eyaculado del verraco se compone de tres fracciones: La fracción pre-espermática es la primera emisión de eyaculado. Es transparente, muy líquida y de escaso volumen, 10-15 cc aproximadamente.

La fracción espermática o rica en espermatozoides viene a continuación de la primera fase y sale rápidamente debido a la primera contracción que sufre la cola del epidídimo. Es de color blanco y muy densa, de aspecto “lechoso”. Tiene una gran concentración de espermatozoides y un volumen cercano a los 100 CC. Esta es la fracción que más nos interesa recolectar para la I.A.

La fracción post-espermática o pobre en espermatozoides está constituida por secreciones de las glándulas accesorias del aparato reproductor del verraco y con escasos espermatozoides. Es de color blanquecino transparente, con grumos gelatinosos a lo largo de su emisión, con un volumen aproximado de 200 CC.

Se realizará la recogida de la fracción rica o bien una fracción intermedia de 150 cc o superior cuando la concentración sea elevada y el número de dosis previstas para preparar nos indique que la dilución (semendiluyente) puede ser superior a 1:25.

El grado de dilución de un eyaculado nos indica la relación entre el volumen de semen y de diluyente. Siempre debe estar entre 1:4 y un máximo de 1:25, debiendo saber que la mejor conservación de las dosis se obtiene cuando el grado de dilución se sitúa alrededor de 1:10

3.4 Evaluación del semen

La evaluación de semen es fundamental para detectar problemas de subfertilidad e infertilidad en el verraco, consecuencia de distintos factores que influyen sobre la calidad seminal, como son los medioambientales, nutricional, sanitarias, etc.

Podemos resumir las técnicas de evaluación en el siguiente esquema:

Evaluación macroscópica:

- Color, olor y volúmen

Métodos microscópicos:

- Motilidad
- Grado de aglutinación
- Concentración espermática
- Morfología del espermatozoide.
- Integridad de acrosomas.
- Funcionalidad espermática.
- Grado de contaminación

Análisis microbiológico:

Control de presencia de microorganismo, como el PRRS u otros

Evaluación seminal: Una vez el eyaculado llega al laboratorio, los parámetros que pueden evaluarse son los siguientes:

1. Color y olor: Se observa si el color blanquecino del semen es nítido, o está enturbiado con otros tonos, como marrón o rojizo

2. Temperatura: Se mide la temperatura del semen en el vaso de recogida antes de situarlo dentro del baño maría (o estufa de conservación) a una temperatura entre 33-37°C dependiendo de la forma de trabajar. Comprobar que la diferencia de temperatura entre el eyaculado recogido y el baño maría no sea superior a 2°C. Si esto ocurre, se ajusta siempre la temperatura del baño maría a la temperatura del semen, nunca al revés.

3. Volumen del eyaculado (Fracción rica): Se cuantifica en cc o ml. Para realizar su medida se utilizan probetas graduadas o una balanza, pesando el eyaculado y habiendo tarado previamente el vaso de recogida. Se considera que 1gr = 1cc. El volumen normal de la fracción rica del eyaculado oscila entre 50 y 150 cc aproximadamente. Varía según edad, tamaño testicular, raza y estado fisiológico del verraco

4. Motilidad:

- Mediante visualización por microscopía: Se evalúa colocando una gota pequeña del eyaculado en un portaobjetos atemperado a 38 -39°C, y sobre ella se coloca el cubreobjetos. La muestra se observa a través del microscopio a 100 - 200 aumentos, evaluando el movimiento general (valoración en porcentaje) y el tipo de movimiento individual (puntuación de 0 a 5).
- Espermatozoides sin movimiento: Espermatozoides con movimiento pobre, las cabezas de los espermatozoides quedan fijas, y sólo se mueven las colas, pudiendo girar sobre sí mismos. Espermatozoides sin movimiento progresivo.
 1. Espermatozoides con desplazamiento en círculos y algunos progresivos.
 2. Movimientos progresivos y sinuosos.
 3. Movimientos progresivos rápidos.
 4. Movimientos progresivos muy rápidos.

5. Aglutinación: Al evaluar la motilidad espermática, a veces se observan cúmulos de células más o menos grandes, es la aglutinación espermática. Se evalúa de 0 a +, siendo las 3 cruces una aglutinación muy evidente. Al evaluar

la motilidad de la muestra, las células aglutinadas no se consideran en el porcentaje total de células en movimiento.



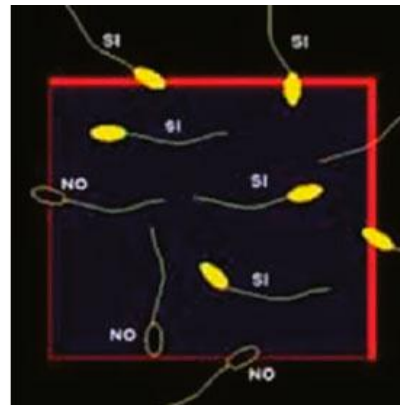
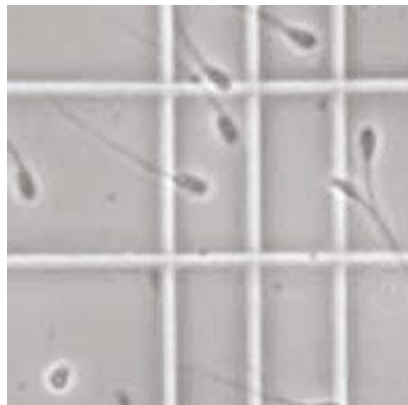
6. Concentración del eyaculado: Es fundamental su cálculo, ya que en función de la concentración y del volumen del eyaculado, se podrá calcular el número de dosis a preparar. Consiste en la determinación del número de espermatozoides por unidad de volumen. Esta determinación se puede realizar por diferentes métodos, siendo los más usuales:

- Cámaras de recuento celular (Bürker, Neubauer, Thoma...).
- Colorimetría.
- Sistema integrado de conteo de espermatozoides mediante microscopía de fluorescencia (Nucleocounter).
- Sistemas automáticos de análisis de imágenes CASA (Computer Assisted Semen Analysis).

6.1. Recuento de espermatozoides con cámara de Neubauer:

Contaremos aquellos espermatozoides cuyas cabezas estén situadas dentro de los cuadros de la retícula, y aquellos cuya cabeza toque el lado superior, el lado derecho y las esquinas superior e inferior derechas del cuadro.

El área de los cuadros pequeños de la retícula viene especificada en la cámara de Neubauer y es de 0.0025 mm^2 . La altura entre la cámara y el cubre es de 0.1 mm^2 .



6.2. Colorimetría:

La determinación de la concentración a través del espectrofotómetro o colorímetro es un método muy utilizado en grandes centros de I.A. donde se requiere realizar recuentos de una gran cantidad de eyaculados.

6.3. Sistema integrado de microscopía fluorescente (Nucleocounter):

El Nucleocounter consiste en un microscopio de fluorescencia con un software integrado capaz de leer y contar las señales luminosas que desprenden los núcleos de las células espermáticas después de haber sido teñidas con yoduro de propidio y después excitadas con luz a una determinada longitud de onda. De esta forma, el Nucleocounter puede medir la concentración de semen de verraco, tanto puro como diluido en una dosis seminal.



Formas anormales espermáticas

7. Formas anormales:

Gota citoplasmática proximal, cola en ovillo y cola en látigo.

8. Estado del acrosoma: El acrosoma es una estructura del espermatozoide situada en la parte anterior de la cabeza y que juega un papel fundamental en la fecundación, ya que contiene enzimas necesarios para la penetración del cúmulo oophorus y de la zona pelúcida del óvulo. Alteraciones del acrosoma o del proceso de capacitación inhiben la capacidad fecundante de la célula espermática.

9. Contaminación: Se puede evaluar mediante contraste de fases además, de forma general el grado de contaminación (presencia de bacterias, células de descamación, plasma seminal...) existente de grado 0 a 3 cruces (+++) o mediante tinciones tipo Panóptico Rápido.

10. Tinciones Vitales: Las tinciones vitales se utilizan para poner en evidencia la integridad estructural de la membrana espermática mediante el uso de colorantes no permeable que sólo penetraran en el interior de la célula si la membrana no está íntegra.

Elaboración de dosis seminales

Preparación del diluyente.

1. Medir el volumen de agua destilada a 37°C, (con una probeta o mediante una balanza) según el formato de envase del diluyente e introducirla en un recipiente (matraz Erlenmeyer o bolsa).
2. Añadir el diluyente necesario para cada litro de agua purificada.
3. Mezclar durante 5 minutos de forma manual o ayudándose de un agitador electromagnético hasta la completa disolución del polvo del diluyente.

Actualmente, existe en el mercado diluyente líquido. Preparación del diluyente listo para usar, lo que facilita la producción de dosis seminales sobre todo en centros de pequeño o mediano tamaño.

Preparación de dosis seminales.

Una vez que la calidad del semen ha sido evaluada y se le ha considerado apta para la I.A., conociendo la concentración espermática por mm³ pasamos a cal

cular el nº de dosis que se pueden obtener de ese eyaculado. Podemos considerar que la dosis mínima recomendada para la inseminación convencional tiene una concentración de 2×10^9 espermatozoides, sin embargo la de uso más corriente es de 3×10^9 espermatozoides para semen de buena calidad espermática, es decir que tenga niveles bajos de morfoanomalías y otras alteraciones. Finalmente se envasan las dosis de semen diluido en las botellas de inseminación, tubos o blisters identificadas con una etiqueta con los siguientes datos como mínimo: N° de verraco, Raza y Fecha de preparación/ fecha de caducidad.

Una vez envasadas las dosis seminales, deben permanecer a temperatura ambiente (20-25°C) durante al menos 1,5 a dos horas, para que la temperatura descienda lo más gradualmente posible. Pasado este tiempo, podemos almacenarlas en la nevera de conservación de 16°C o en cuarto frío.

Características y propiedades del diluyente:

- Permitir el grado máximo de extensión o aumentar el volumen del eyaculado sin afectar la calidad seminal.
- Conservar la capacidad fecundante de los espermatozoides durante el mayor tiempo posible.

Conservación de las dosis seminales

Para que el semen diluido mantenga su capacidad fecundante a lo largo de su almacenamiento en refrigeración a 16°C, es indispensable cumplir las siguientes condiciones:

- El material que esté en contacto con el semen debe estar previamente limpio y esterilizado, sin residuos químicos ni biológicos.
- Utilizar agua purificada contrastada y que no esté alterada bioquímica ni microbiológicamente.
- Utilizar diluyente de larga conservación.
- Recoger la fracción espermática del eyaculado para reducir las sales que se encuentran en el plasma seminal.
- Diluir en un período inferior a 15 minutos desde la recogida del semen, con una dilución semen: diluyente entre 1:4 y 1:25; (grado de dilución óptimo 1:10) a 37°C. Concentración mínima por dosis 2×10^9 espermatozoides en 100 cc y máxima de 8×10^9 espermatozoides en 100 CC.
- Descender lentamente la temperatura de 37°C a 23°C (durante 1,5 - 2 horas) a la temperatura ambiente del laboratorio (entre 20 - 25°C) y posteriormente introducir en la estufa de 16° C.
- Conservar en anaerobiosis a 16°C; por lo que no se debe dejar en las botellas un espacio de aire superior al 20% de su volumen.