

V Manejo del semen

V.1. Recolección del semen

En la práctica de la IA es necesario seguir un orden cronológico de operaciones previas y sistemáticas que influirán en el éxito o fracaso de la técnica. En las explotaciones porcinas el primer problema que se enfrenta es la selección de los verracos que serán los donantes de semen, los cuales deben ser escogidos sobre la base de factores gen éticos, sanitarios y reproductivos.

En la extracción del material seminal se utiliza un potro o maniquí, forrado de piel de bovino por ser más resistente y durable, impregnado con secreciones vaginales de una hembra en celo o fracciones del semen de otros cerdos, lo cual produce un estímulo suficiente para aumentar la actividad sexual. Para realizar esta técnica es necesario un entrenamiento previo de los verracos al salto con el potro, siendo indispensable disponer de un lugar o sala de recolección donde el verraco no pueda distraerse y realizar la monta normalmente sin alteraciones de ruidos, olores o la vista de otros machos (figuras 4 y 5).



Figura 4. Verraco sobre maniquí para la recolección de semen.

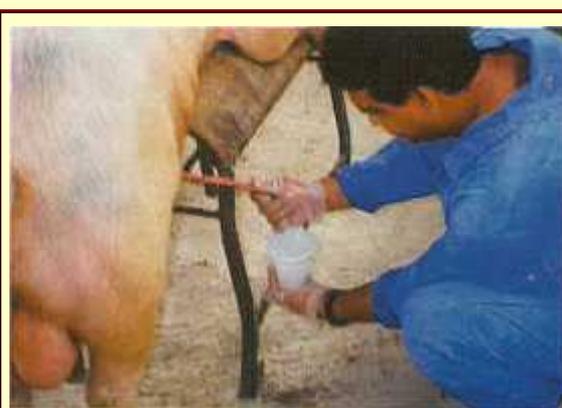


Figura 5. Recolección de semen sobre maniquí.

El entrenamiento de los verracos es aconsejable que se inicie a los cinco meses, aunque también se puede realizar a los 7 u 8 meses, pudiendo efectuar dos sesiones diarias de entrenamiento de 10 a 15 minutos en días alternos. Otra de las técnicas utilizadas en la extracción del semen, es el uso de una hembra en celo, con reflejos de inmovilidad, el inconveniente presente, a veces, es el excesivo peso del verraco o la inquietud de la hembra, al no permitir una buena extracción (Figura 6) .

Para la evaluación de la fertilidad del semen de verraco se utilizan tres métodos de recolección: electroeyaculación, vagina artificial y manual (mano enguantada o desnuda).

- **Electroeyaculación:** tiene un valor limitado en el examen de evaluación de la fertilidad del verraco, ya que no puede ser observada la líbido y la habilidad de la

monta. Su uso está indicado en verracos lesionados, de baja libido o viejos de gran valor (Gibson, 1983).



- **Vagina artificial:** diferentes vaginas artificiales han sido empleadas por Mckenzie (1931), Polge; Aamdal (1959) o combinaciones de la misma por Bonadonna (1938) con vagina artificial fijada al maniquí. El principio del uso de esta vagina es el de crear un ambiente de temperatura y presión similar al tracto genital de la hembra, capaz de producir estímulos suficientes en el macho y provocar la eyaculación, este método trae una serie de desventajas, tales como costo del material utilizado, complicación en la manipulación del material, imposibilidad de separar las diferentes fracciones del eyaculado y reacciones de inhibición, causadas por variaciones en la temperatura de la vagina artificial.
- **Manual:** existen dos técnicas, la de mano enguantada descrita por Hancock y Howell (1959) y la de mano desnuda que resulta ser más simple y económica. Este método permite obtener un normal y completo eyaculado. Una vez que el verraco efectúa la monta y deja al descubierto el pene, se coloca el dorso de la mano contra la pared ventral del abdomen por delante del orificio prepucial, sujetándolo suavemente y ejerciendo una ligera tracción hacia delante con el fin de lograr su amplexación. Se debe aplicar una presión digital rítmica a 2 o 3 cm distal del pene para estimular la eyaculación, la cual puede durar de 4 a 10 minutos.

El equipo utilizado inicialmente para la recolección del semen constaba de un envase de vidrio o plástico con capacidad máxima de 500 ml y un embudo cubierto con un filtro de gasa estéril, con la finalidad de separar la fracción sólida (tapioca) de la líquida.

Posteriormente se ideó el uso, práctico y económico, de un envase plástico de jugo o leche, fácilmente esterilizable y sin costo alguno, por ser un producto de desecho doméstico, al cual se le coloca una gasa estéril con una banda de goma para sujetarla (Fuentes y Serrano, 1984)*. Existen varios tipos de envases, incluso desechables que se eliminan una vez procesado el semen.

Durante el eyaculado, el espermatozoides es emitido en tres fracciones diferentes, las cuales constituyen el total del eyaculado, éstas son:

Fracción pre-espermática: constituida por las secreciones de la próstata, glándulas vesiculares y algunos grumos de las glándulas bulbouretrales (Cowper) es transparente,

carece de espermatozoides, representa 5 a 20% del total. Su función fisiológica consiste en la preparación de la uretra al pase de la fracción espermática.

Fracción espermática: está constituida principalmente por espermatozoides y secreciones de las glándulas vesiculares y próstata; el volumen es de 40 a 100 ml y corresponde de 30 a 50% del eyaculado total.

Fracción post-espermática: contiene poca cantidad de espermatozoides y está formada principalmente por secreciones de las glándulas de Cowper y la próstata; presenta grumos gelatinosos; tiene un valor cercano a los 200 ml y representa 40 a 60% del eyaculado total.

Aamdal (1959) ha señalado que el eyaculado está constituido por una fracción gelatinosa y otra líquida. El gel o tapioca está constituido por las secreciones de las glándulas de Cowper; se hace presente principalmente en la primera y tercera tracción del eyaculado, con el fin de formar un tapón en el cuello uterino para evitar el reflujo del esperma. Representa 10 a 13% del total del eyaculado (Fuentes, 1988).

V.2. Evaluación del semen

En la práctica, la capacidad fecundante de un reproductor se mide por el porcentaje de gestaciones respecto al número de cubriciones o inseminaciones realizadas. Este método, aun cuando es el más exacto, tiene el inconveniente de que los resultados se conocen tardíamente, lo cual puede ocasionar fallas graves en el caso de que el verraco presente problemas de fecundidad. De allí la necesidad de detectar, lo más pronto posible, aquellos machos con baja calidad espermática (Rillo, 1982). La valoración de la calidad espermática se considera de vital importancia, ya que permite decidir sobre el uso del eyaculado a los efectos de la IA; si bien la evaluación depende en gran parte de la subjetividad del evaluador, tiene alto valor de predicción, por cuanto se ha demostrado que existe una estrecha relación entre evaluación y fertilidad.

De las múltiples pruebas que se realizan actualmente, ninguna por sí sola tiene valor absoluto, a excepción de los casos extremos de esterilidad; por ello, sólo de la adecuada interpretación de las diversas pruebas pueden obtenerse conclusiones válidas que garanticen la posibilidad de éxito de la fecundación.

Si en la monta natural la calidad del semen es importante, en la IA ésta es mucho mayor. La razón es evidente, ya que en la monta natural sólo se afectaría una hembra, mientras que por IA podrían ser afectadas 20 o 30 hembras. Este riesgo destaca la necesidad de realizar las pruebas de valoración espermática (Martín, 1982).

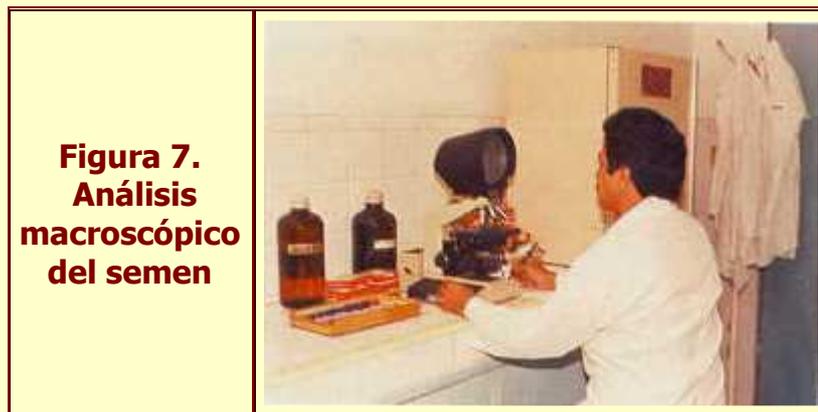
Igual que en otras especies, en el verraco la evaluación espermática se realiza en cuatro fases: macroscópica, microscópica, bioquímica y bacteriológica.

a. Evaluación macroscópica

Volumen: el volumen del eyaculado de un verraco depende de factores, tales como:

edad, raza, frecuencia de uso y condiciones ambientales. Mckenzie (1938) sostiene que el volumen normal del eyaculado de un verraco adulto varía de entre 125 a 500 ml con un promedio de 200 ml. Sin embargo, en ocasiones se puede obtener eyaculados de 700 a 800 ml, posiblemente se deba a un gran desarrollo de las vesículas seminales o a procesos inflamatorios de las glándulas anexas (Figura 7).

Fuentes (1988) en Venezuela, encontró un mayor volumen durante los meses de más altas temperaturas, corroborando lo observado por Cameron (1985) en Australia, con promedio de 231,35 ml. Como componente extra del eyaculado, la fracción sólida (tapioca) presenta un volumen promedio de 32,45 ml.



Color: el color de eyaculado es resultado de la combinación de sus diferentes fracciones. La fracción pre-espermática tiene un color muy transparente, la segunda fracción es de color blanquecino lechoso, la tercera es blanquecina transparente y la fracción gelatinosa es blanca grisácea. El eyaculado total generalmente tiene un color blanquecino con variaciones hacia el gris.

En ocasiones se producen contaminaciones del semen con sangre, orina, secreciones prepuciales, pus, sucio, otras, las cuales determinan variaciones del color y que pueden alterar la calidad del eyaculado y confundir la evaluación.

Olor: el olor del semen de verraco es sui generis; en caso de contaminación con orina, presentará modificaciones características, mayor volumen, escasa concentración y un pH alto.

Densidad: viene dada por la concentración espermática del eyaculado. Altas concentraciones resultan en densidades más altas y viceversa. Para medirla se utiliza un densímetro que se colocará dentro de un cilindro graduado que contiene semen. Los eyaculados muy densos dan lecturas superiores a 1 020 y los pocos densos son inferiores a 1 010.

pH: es indicador de la concentración de iones de hidrógeno. La evaluación de la acidez o alcalinidad del eyaculado es de gran importancia y debe realizarse inmediatamente después de la extracción, ya que pueden presentarse variaciones amplias en poco tiempo.

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

Roberts (1971) señala que el pH en el verraco varía de 7 a 7,8 con media de 7,4 (ligeramente alcalino). La medición del pH se realiza con un peachímetro o con cinta de azul de bromotimol, siendo más preciso el primero. Generalmente, cuando existe una afección inflamatoria de las glándulas accesorias hay una elevación del pH. El semen con un pH alcalino resulta con escasa posibilidad fecundante.

b. Evaluación microscópica

Motilidad: la observación de la motilidad espermática debe efectuarse inmediatamente después de la recolección, por cuanto puede ser afectada por factores exógenos como excesivo calor, luz, frío, agentes químico o extraños. El primer eyaculado después de un largo período de inactividad sexual tiene baja motilidad y elevado número de espermatozoides muertos (Roberts, 1971). La técnica a seguir para evaluar la motilidad se basa en determinar el tipo de movimiento del espermatozoide en el ayaculado. La clasificación de 0 a 5 comprende desde los espermatozoides inmóviles (0) hasta aquellos con movimientos progresivos muy rápidos (5).

0 = Espermatozoides inmóviles.

1 = Espermatozoides con movimientos lentos sin desplazamientos.

2 = Espermatozoides con movimientos más vigorosos y casi ninguna o poca progresión.

3 = Espermatozoides con movimientos y desplazamientos lentos.

4 = Espermatozoides con progresiones rápidas.

5 = Espermatozoides con movimientos progresivos muy rápidos (forma de tirabuzón).

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

En Venezuela, Fuentes (1988) observó variaciones de la motilidad en las diferentes época del año, siendo las mejores entre noviembre y enero, disminuyendo para los meses de febrero, marzo y abril. El rango observado fue de 2,82 a 4,44 con promedio de 3,63.

Vitalidad: es otro patrón de medida que puede emplearse para estimar la fertilidad del semen. Se evalúa de 0 a 100 sobre la base del porcentaje de espermatozoides con movimiento tipo, según la evaluación de la motilidad individual. Otra forma de determinar la vitalidad es mediante el uso de coloraciones vitales (azul de bromofenol, eosina-negrosina). Desde el punto de vista práctico los resultados obtenidos con estos colorantes, en el Laboratorio de Reproducción del IIZ no han sido satisfactorios, presentando mayor confiabilidad la combinación de eosina-negrosina.

Los trabajos de investigación realizados en Venezuela determinaron que existe una correlación alta entre la motilidad y vitalidad ($r:0,85$) altamente significativa. Estos dos

factores repercuten sobre la eficiencia reproductiva conjuntamente con lo demás factores. El rango observado fue de 63,28 a 89,89 con un promedio de 76,57% (Fuentes, 1988).

La vitalidad presenta variaciones durante el año, indicando que es afectada por la época, presenta los mayores valores en el trimestre noviembre-enero y los menores en febrero-abril, cuando se registran las mayores temperaturas ambientales.

Atipias: las formas anormales pueden apreciarse a través de la lectura de frotis con semen fresco (coloreado o no) y utilizando un microscopio normal con objetivo 40. El porcentaje de atipias de las células espermáticas es variable. Según Pánciroli y Lucerni (1986) el porcentaje óptimo para la IA debe ser menor de 10% (Figura 8).

Gibson (1983) señala que los valores normales de atipias para verracos maduros puede llegar al 30% (15% primarios y 15% secundarios) siendo mayor el porcentaje para las gotas citoplasmáticas proximales. Serrano y Fuentes (1987) encontraron, en 345 muestras de semen de verracos de diferentes razas, en promedio 15,83% de atipias, de las cuales 2,48 % corresponden a la cabeza; Inseminación artificial porcina en Venezuela . 1,70 % acrosomas; 3,90 % cuello y pieza intermedia, 4, 13 % cola y 3,62 % gotas citoplasmáticas (Cuadro 4).



Mediante la coloración de Karras, modificada por Nibart, se puede hacer el estudio morfológico e identificar las formas anormales de la cabeza, pieza intermedia y cola.

Concentración: la concentración expresa el número de espermatozoides por centímetro cúbico. La técnica empleada consiste en hacer una dilución 1/100 en una solución de cloruro de sodio al 0,99%. La lectura se realiza utilizando un microscopio con objetivo 40X y una cámara de Neubauer. Este método es el utilizado en el IIZ Existen otros métodos, tales como el espectrofotómetro, la cámara de Bunker, densimetría (poco confiable) y otros.

Cuadro 4. Distribución de las diferentes anomalías espermáticas según la raza porcina.						
RAZA	CABEZA	ACROSOMA	CUELLO y	COLA	GOTA	TOTAL

			PIEZA INTERMEDIA			
Yorkshire	2,39	1,78	4,21	4,02	3,25	15,65
Landrace	2,6	2	3,5	3,63	3,51	15,24
Poland	2,14	0,82	3,64	8,03	4,09	18,72
Duroc	2,69	1,16	4,32	2,74	5,06	15,97
Promedios	2,48	1,7	3,9	4,13	3,62	15,83

Serrano y Fuente, 1987

Las técnicas que utilizan la cámaras de Neubauer y de Bunker presentan el mismo principio, el de conteo directo uno por uno en proporción a la dilución utilizada (ver Rutina) es más precisa, por lo que requiere de tiempo para su determinación. La técnica que utiliza el espectrofotómetro es más rápida, pero menos precisa, ya que la determinación está en función de la opacidad de la muestra, J, hecho que además de la concentración espermática, la lectura también dependerá de la concentración de proteínas plasmáticas.

Un eyaculado completo tendrá una concentración media de 300.000 espermatozoides por milímetro cúbico, con un promedio de 60 a 80 x 10⁹ espermatozoides totales, Estos valores son de gran importancia cuando se usa la IA, ya que permiten determinar el número de dosis. Cada dosis debe contener un promedio de 3-5x10⁹ células espermáticas viables para garantizar un alto porcentaje de concepción. La concentración media observada es de 338,13 esp.x10⁹/mm³. (Fuentes, 1988)

Espermatozoides totales por eyaculado: un detalle muy importante, es la producción espermática referida en el total de espermatozoides por eyaculado, éste se obtiene multiplicando el volumen por la concentración, expresándose en miles de millones (E x 10⁹). Fuentes (1988) encontró eyaculados promedios de 68,88x10⁹, con rango de 26,13 a 111,63x10⁹, superiores a los observados en otras latitudes.

En el trópico, los verracos presentan un mayor potencial reproductivo, ya que se puede obtener un mayor número de dosis por eyaculado, esto permite utilizar los mejores reproductores, maximizando su uso.

c. Control bioquímico

Existen una serie de pruebas que determinan la capacidad fecundante de la célula espermática. Estas pruebas se realizan basadas en la correlación que puede haber entre la actividad metabólica y su capacidad fecundante. Aun cuando estas pruebas son poco utilizadas, se señalan las más importantes: actividad respiratoria, índice de glucólisis, prueba de reducción del azul de metileno, test de resazurina y prueba de resistencia osmótica (Martín, 1982). La determinación de proteínas totales, componentes

fosfolipídicos de la membrana espermática y de algunos minerales orientan las nuevas investigaciones para determinar la calidad del eyaculado, lo cual sirve para clasificar a los verracos por su potencial reproductivo (De Alba y col, 1997).

Actividad enzimática: la acrosina se encuentra en el acrosoma de la célula espermática, su pérdida determina claramente la disminución de la capacidad fecundante. También es muy importante la determinación del ATP, por su relación con la energía metabólica de la célula y en consecuencia con la motilidad celular y determinación de la actividad aspartato amino transferasa (De Alba, 1997)

d. Control microbiológico

Es recomendable realizarlo cada cinco meses para evitar la transmisión de infecciones a través del semen de los verracos utilizados en IA y para la identificación de los agentes patógenos, mediante el uso de diferentes medios de cultivo. Serrano, Fuentes y Polanco (1985)* efectuaron un estudio bacteriológico del semen de verracos evaluados en fincas de los estados Aragua y Carabobo, obteniendo importantes resultados en cuanto a la bacteriología seminal (Cuadro 5).

e. Otras pruebas (García, 1994)

Test de acrosomía: éste es utilizado para la evaluación de la integridad acrosómica y determinación de los daños observados durante la conservación del semen diluido, lo que permite clasificar a los verracos en cuanto a la resistencia del acrosoma.

Cuadro 5. Resultados de un examen bacteriológico en verracos del estado Aragua, Venezuela.		
GÉNERO-ESPECIE	CEPAS AISLADAS	
	Nº	%
Echericha coli	118	26.8
Corynebacterium SP.	108	24.7
Proteus mirabilis	73	16.7
Staphylococcus (COAG -)	69	15.8
Pseudomona aeruginosa	37	8.4
Staphylococcus SP	9	2.1
Citrobacter diversus	6	1.4
Acinetobacter lowffi	3	0.7
Micrococcus SP	3	0.7

Proteus vulgaris	2	0.5
Bacillus SP	2	0.5
Enterobacter cloacae	2	0.5
Citrobacter SP	1	0.2
Klebsiella pneumoniae	1	0.2
Proteus morgani	1	0.2
Enterobacter aerogeno	1	0.2
Atreptococcus b hemolitico	1	0.2
Staphylococcus (COAG +)	1	0.2
	438	100

Serrano, Fuentes y Polanco 1988

Test de resistencia osmótica: está basado en la propiedad de la membrana espermática para resistir cambios en el medio osmótico. Se complementa con el test de acrosomía. En general, el semen para ser usado en IA debe ser de óptima calidad, para garantizar los mejores resultados.

V.3 Clasificación del verraco según el eyaculado

Se ha demostrado que cada macho presenta un potencial reproductivo determinado por la capacidad fertilizante de sus espermatozoides, esto garantiza un mayor número de hembras preñadas. Esta capacidad está asociada a la calidad y producción espermática y que varía de un animal a otro, siendo también afectada por factores propios del animal (raza, edad, otros) o a factores externos como el ambiente climático, frecuencia de uso, nutrición, enfermedades, otros. En el IIZ se diseñó una metodología práctica para seleccionar a los verracos desde el punto de vista de la calidad seminal, tomando en consideración los valores medios determinados por Fuentes (1988) en Venezuela.

Valores promedios y rangos de las características espermáticas de verracos		
	Media	Rango
Volumen (ml)	231,35	132,07-330,63
Concentración (E/mm ³)	338, 13	86,91-589,35
Motilidad (0-5)	3,63	2,82-4,44

Vitalidad (%)	76,57	63,28-89,86
Esp. Totales (E x 10 ⁹ /mm ³)	68,88	26,13-111,63
Anormalidades (%)	13,66	4,67-22,6

Fuentes. 1988

Clases

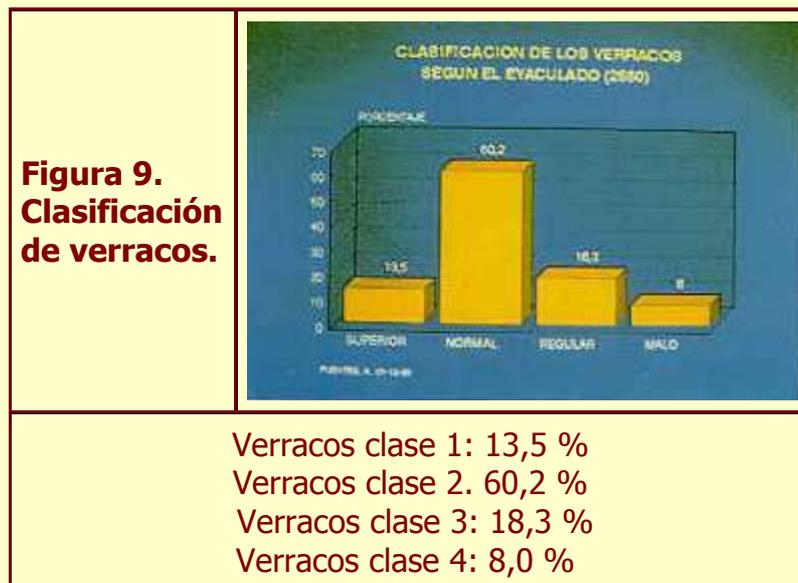
1 = Mejores que los valores medios

2 = Dentro de los valores medios

3 = Alguna variación negativa leve y temporal de los valores medios

4 = Variación negativa significativa progresiva o permanente de alguno de los valores medios

En trabajos realizados a nivel nacional, sobre evaluación seminal de verracos, en granjas y explotados bajo condiciones del medio tropical (Venezuela) se han encontrado los valores siguientes:



Los verracos clase 4 (8%) afectan entre ello y 15% de la eficiencia reproductiva en las explotaciones porcinas, por lo que su eliminación y reemplazo por verracos nuevos en condiciones normales, repercute positivamente sobre la respuesta reproductiva de las hembras en la granja. Los verracos de clase 1 que presentan, al análisis seminal, características superiores a las medias señaladas en nuestro medio, son los recomendados para ser usados para la inseminación artificial, ya que los mismos garantizan alta eficiencia reproductiva, conservación del poder fecundante, mayor número de dosis y posibilidades de almacenamiento. Pero los mismos están sujetos a variaciones estacionales o no, dependiendo de factores internos o externos.

Las altas temperaturas ambientales, en el trópico, tienen un efecto nocivo sobre las características espermáticas de los verracos, efecto que se manifiesta posterior a la acción de las altas temperaturas en las variables espermatozoides totales y atipias, pero que llenen una respuesta mas inmediata en la motilidad, vitalidad y atipias sobre los espermatozoides que se encuentran en el epidídimo. Este efecto está asociado a la baja respuesta reproductiva de la hembra (Fuentes y col, 1994) .

La exposición al sol provoca disminución de la producción espermática, así como aumento de las anomalías, hecho que fue verificado en verracos expuestos al sol durante una hora diaria (Fuentes y col, 1994).

El aumento de la frecuencia de uso de los verracos provoca una disminución del número de espermatozoides por eyaculado en 76 %, cuando se realizan recolecciones interdiarias, por lo que se considera que dos montas por semana con tres días de descanso entre montas mantendría el nivel de producción espermática, garantizando la fertilidad (Mazzarri y col, 1986).

Frecuencia de uso Veces x semana	Espermatozoides totales (E x 10⁹)
1	122,5
2	66,5
3	45,2
4	29,0

Al realizar la evaluación seminal de verracos en el trópico, es importante tomar en consideración el efecto de las variables antes señaladas, ya que las mismas podrían dar lugar interpretaciones erróneas y así descalificar a un potencial reproductor.

V.4 Dilución

Conociendo el número total de espermatozoides por eyaculado, se puede calcular la cantidad de dosis a usar, partiendo de que cada dosis debe llevar un promedio de 5×10^9 espermatozoides. La dilución del semen fresco se efectuará en una proporción de 1/101/15, disminuyendo así los riesgos de lesiones que se producen en el espermatozoide por efecto del plasma seminal.

Un detalle muy importante, al realizar la dilución, es igualar la temperatura del diluyente a la del semen para evitar un choque térmico en el momento de la unión de ambos (Figura 10).

En la práctica, es común utilizar el semen fresco sin diluir con un volumen de 60 ml/cerda, con la desventaja que sólo se pueden servir 4 o 5 hembras.

El volumen a utilizar por dosis varía de 50 a 100 μ l, dependiendo de la calidad espermática y del estado fisiológico de la hembra. Se recomienda uso de dosis no menores 60 μ l de semen diluido; según experiencias del autor.

**Figura 10.
Igualar la
temperatura
del
diluyente a
la del
semen.**



Una vez diluido el semen con un volumen dado de diluyente y mezclado a igual temperatura, se distribuye en frasco-dosis o simplemente es colocado en un recipiente dosificador y se procede de inmediato a la IA de las hembras en celo. En términos generales, es recomendable utilizar para la IA sólo el eyaculado que presente las condiciones óptimas que garanticen alta eficiencia de la técnica.