

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

**USO DE LECHE DESCREMADA EN POLVO A DIFERENTES
CONCENTRACIONES COMO EXTENSOR DE SEMEN PORCINO**



EDDY ESTUARDO GONZÁLEZ COJULUN

SEPTIEMBRE 2006

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

**USO DE LECHE DESCREMADA EN POLVO A DIFERENTES
CONCENTRACIONES COMO EXTENSOR DE SEMEN PORCINO**

TESIS

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR

EDDY ESTUARDO GONZÁLEZ COJULUN

COMO REQUISITO, PREVIO A OPTAR AL GRADO ACADEMICO DE

MÉDICO VETERINARIO

GUATEMALA, SEPTIEMBRE 2006

**JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS GUATEMALA**

DECANO: Lic. Zoot. Marco Vinicio de la Rosa Montepeque
SECRETARIO: Dr. M.V. Marco Vinicio García Urbina
VOCAL I: Dr. M.V. Yeri Edgardo Véliz Porras
VOCAL II: Dr. M.V. Fredy Rolando González Guerrero
VOCAL III: Dr. M.V. Edgar Bailey Vargas
VOCAL IV: Br. Yadyra Rocío Pérez Flores
VOCAL V: Br. José Abraham Ramírez Chang

ASESORES

Dr. M.V. Yeri Véliz

Dra. M.V. Ligia González

Dr. M.V. Gustavo Taracera

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de tesis titulado:

**“USO DE LECHE DESCREMADA EN POLVO A DIFERENTES
CONCENTRACIONES COMO EXTENSOR DE SEMEN PORCINO.”**

Que fuera aprobado por la Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título profesional de

MÉDICO VETERINARIO

TESIS QUE DEDICO

A Dios que me a guiado a lo largo del camino ya que sin el no hubiese sido posible llegar a este momento.

A mis padres los mejores, Enrique Carlos González y Olga Graciela Cojulun que con amor me han orientado y brindado su apoyo a más del 100%, porque sin ellos jamás lo hubiera logrado.

A mi hermana Mayra González Cojulun a quien adoro, porque ha luchado junto a mí a cada momento sin permitir que me desmaye.

A mis abuelitas Rosa del Cid y Alicia Alvarado a quienes quiero.

A mis tíos y tías pero especialmente a mi tía Clarita quien siempre me ha apoyado.

A mis primos y primas para que sigan luchando y puedan también alcanzar sus metas.

A mis amigos con quienes he vivido momentos muy felices, Melissa Álvarez, Ericka Calderon, Ruby Escamilla, Anacani Madrid, Heidi Sandoval, Viviana Saenz, Astrid Montealegre, Gloria Rebuli, Analfi, Sigrid, Gaby, María José Vaides, Inger de Paz, Mariana Corzo Gunther Boy, Jorge Sandoval, Byron Cabrera, Asdrúbal Casasola, Carlos Maldonado, José Flores, Quique, Ismael, Carlos Ovando.

A mis compañeros y amigos de las promociones 2004 y 2005 de Veterinaria.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, así como al claustro de catedráticos por haberme formado en esta maravillosa carrera.

A mis asesores Dr. Yeri Veliz, Dr. Gustavo Taracena y la Dra. Ligia González por guiarme durante el desarrollo de esta investigación.

Al departamento de Salud Publica Veterinaria por toda la colaboración brindada.

A la Clínica Veterinaria Súper Pet por todo el apoyo que me brindaron a lo largo de la carrera.

Al personal de la granja porcina de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por su colaboración.

INDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. HIPÓTESIS.....	2
III. OBJETIVOS.....	3
3.1 Objetivo general.....	3
3.2 Objetivos específicos.....	3
IV. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.....	4
4.1 Inseminación artificial.....	4
4.2 Inseminación artificial en cerdos.....	4
4.3 Ventajas de la inseminación artificial.....	4
4.4 Limitaciones de la inseminación artificial.....	5
4.5 Técnica de inseminación artificial.....	5
4.5.1 Colecta del semen.....	5
4.5.2 Evaluación del semen.....	6
4.5.2.1 Examen macroscópico.....	7
4.5.2.1.1 Temperatura.....	7
4.5.2.1.2 Volumen.....	7
4.5.2.1.3 Consistencia.....	7
4.5.2.1.4 Color.....	7
4.5.2.1.5 Olor.....	8
4.5.2.1.6 Impurezas.....	8
4.5.2.1.7 pH.....	8
4.5.2.2 Examen microscópico.....	8
4.5.2.2.1 Motilidad.....	8
4.5.2.2.2 Aglutinaciones.....	9
4.5.2.2.3 Concentración.....	10
4.5.2.2.4 Porcentaje de vivos y muertos.....	11
4.5.2.2.5 Anormalidades.....	11
4.5.3 Preparación de dosis seminales.....	11
4.5.3.1 Diluyente.....	12
4.5.3.1.1 Ingredientes y funciones del diluyente.....	12
4.5.3.1.2 Nutrientes.....	12
4.5.3.1.3 Buffers.....	12

4.5.3.1.4	Electrolitos.....	13
4.5.3.1.5	Antibióticos.....	13
4.5.3.1.6	Estabilizadores de membrana.....	13
4.5.3.1.7	Clasificación de los diluyentes.....	13
4.5.3.2	Cálculos para la preparación de dosis seminales.....	14
4.5.4	Procedimiento de inseminación.....	15
V.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
5.1	Materiales.....	16
5.1.1	Recursos humanos.....	16
5.1.2	De laboratorio.....	16
5.1.3	De campo.....	17
5.1.4	Biológicos.....	17
5.1.5	Centros de referencia.....	17
5.2	Metodología.....	17
5.2.1	Colecta de semen.....	17
5.2.2	Evaluación de la muestra.....	17
5.2.3	Preparación de dosis seminales.....	18
5.2.4	Conservación de la muestra.....	19
5.2.5	Unidad experimental.....	19
5.2.6	Diseño y análisis estadístico.....	19
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
VII.	CONCLUSIONES.....	22
VIII.	RECOMENDACIONES.....	23
IX.	RESUMEN.....	24
X.	BIBLIOGRAFIA.....	25
XI.	ANEXOS.....	27
INDICE DE CUADROS Y GRAFICAS		
CUADRO 1	Evaluación de las muestras sin diluir.....	28
CUADRO 2	Evaluaciones del diluyente leche descremada en polvo 50 gr.....	28
CUADRO 3	Evaluaciones del diluyente leche descremada en polvo 75 gr.....	29
CUADRO 4	Evaluaciones del diluyente leche descremada en polvo 100 gr.....	29
GRAFICA 1	Promedio de las aglutinaciones de los 3 tratamientos.....	30
GRAFICA 2	Promedio del movimiento individual de los 3 tratamientos.....	30
GRAFICA 3	Porcentaje de espermatozoides vivos.....	31

I. INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial en animales domésticos es una práctica que se ha venido realizando por más de 200 años, la cual ha tomado mucho auge en las últimas décadas, debido a que cuenta con muchas ventajas zootécnicas y sanitarias al compararla con la monta natural.

Entre las ventajas se pueden mencionar la disminución del número de sementales necesarios en la granja, lo que a su vez disminuye considerablemente los costos en el mantenimiento de los verracos, mejora el control de la calidad del semen, cambio rápido de genética, reduce el riesgo de contagio de enfermedades de transmisión sexual y hace más eficiente la reproducción ya que con un solo eyaculado se pueden inseminar varias hembras.

Para utilizar el eyaculado del verraco en inseminación artificial, este debe ser diluido, con la finalidad de aumentar su volumen y preservar la viabilidad de los espermatozoides por más tiempo.

En la actualidad se cuenta con una variedad de diluyentes los cuales se clasifican de corta, mediana y larga duración, respecto al tiempo que mantienen viables y aptos para la inseminación artificial a los espermatozoides.

En el presente trabajo de investigación se evaluó la efectividad de la leche descremada en polvo en diferentes concentraciones como extensor de semen porcino con respecto a la viabilidad espermática.

II. HIPÓTESIS

El uso de leche descremada en polvo funciona como extensor de semen porcino.

III. OBJETIVOS

3.1 General

- Contribuir con el estudio del uso de extensores de semen en porcinos.

3.2 Específicos

- Evaluar la eficacia del uso de leche descremada en polvo como extensor de semen porcino en base a la calidad espermática.
- Determinar si existe diferencia significativa al utilizar 3 diferentes concentraciones de leche descremada en polvo como extensor de semen, sobre la calidad espermática y tiempo de duración.

IV. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

4.1 Inseminación artificial

Es un método de reproducción que consiste en obtener el semen del macho e introducirlo en el aparato reproductor de la hembra, aprovechando al máximo la función reproductora. (3)

4.2 Inseminación artificial en cerdos

Las primeras inseminaciones en cerdos se llevaron a cabo en 1931 por Inavov en la Unión Soviética, prosiguieron las investigaciones y Lipatov, Rodin y Camisarov introdujeron el maniquí para la colecta de semen para luego descubrir la vagina artificial en 1938 por Bonadonna. A partir de 1950 se empezaron a describir técnicas de conservación y dilución del semen en países como Japón, Inglaterra, Francia y Noruega. (8, 12)

En la actualidad la inseminación artificial es una técnica reproductiva de aplicación en todo el mundo y se estima que de los varios millones de vientres existentes más de un 25% son inseminadas, no obstante las diferencias son importantes según los países. En los países europeos la aplicación de la técnica es elevada superando el 80% de las reproductoras (Holanda, Francia, Noruega, Finlandia, etc.). (5,14)

Según las últimas estimaciones del total de las inseminaciones que se realizan a nivel mundial cerca del 99% se llevan a cabo con la utilización de semen refrigerado a 15-20°C. (5)

4.3 Ventajas de la inseminación artificial

- Disminución del número de verracos dentro de la granja.
- Utilización de verracos genéticamente superiores permitiendo un mejoramiento general de la granja.
- Aprovechamiento al máximo de los machos.
- Cambio rápido de la genética.
- Mejor control de la calidad del semen.

- Utilización de verracos grandes en hembras pequeñas.
- Reducción del riesgo de extender enfermedades de contagio sexual.
- Reducción del tiempo de trabajo. (10,11,12, 14)

4.4 Limitaciones de la inseminación artificial

- Se necesita establecer un nivel elevado de manejo que puede consumir gran cantidad de tiempo si no se organiza correctamente.
- La inseminación artificial requiere que el servicio se haga correctamente y en el momento apropiado durante el estro.
- El semen fresco sin diluir debe emplearse dentro de las dos horas siguientes a la colecta.
- El semen diluido puede almacenarse solamente de 3 a 7 días.
- La higiene del equipo es esencial. (11)

4.5 Técnica de inseminación artificial

Es una técnica relativamente sencilla y se puede dividir en 4 fases siendo éstas: colecta de semen, evaluación del semen, preparación de las dosis seminales y por último la inseminación de la hembra.

4.5.1 Colecta del Semen

El semen es un fluido que se produce durante la eyaculación, el cual está compuesto de una fracción celular (espermatozoides) y un vehículo fluido en el que están suspendidas las células conocido como plasma seminal. (10)

Para el éxito en la colecta de semen se deben tomar en cuenta algunos factores como, preparación del material antes de entrar a la sala de colecta, preparación del verraco, técnica a utilizar para obtener la muestra, etc. La muestra de semen se obtiene de un verraco entrenado, utilizando un maniquí con fijación manual del pene. (7,8)

Todo material que se utiliza debe ser estéril y a la temperatura del semen que es de 37 °C. La sala de colecta debe estar limpia antes de que entre el verraco, dentro se encuentra el potro o maniquí, en posición fija. Antes de empezar la extracción, se debe limpiar en seco toda el área alrededor del pene y prepucio. Una vez el verraco

monta el potro, se debe sostener firmemente el pene extrayéndolo en toda su longitud. El frasco de colecta deberá tener un filtro o gasa para evitar la contaminación de la muestra. (9,15,17)

La eyacuación en lo cerdos es de larga duración, de 10-15 minutos. El eyaculado se divide en 3 fracciones:

Fracción pre-espermática: está constituida por secreciones de las glándulas accesorias, principalmente de la próstata, vesículas seminales y grumos procedentes de la glándula de Cowper, esta fracción es transparente, sin espermatozoides, con alto contenido bacteriano y un volumen aproximado entre 10-15 ml. (2,17)

Fracción espermática: también se le conoce como fracción rica en espermatozoides, es de color blanco lechoso. Constituida de espermatozoides y secreciones de la vesícula seminal y próstata, con un volumen promedio de 100 ml o más. (2,17)

Fracción post-espermática : es pobre en espermatozoides, constituida por secreciones de la próstata y glándula de Cowper (tapioca). Es de color blanquecino transparente, con grumos gelatinosos y un volumen de 200 ml o más. (2,17)

4.5.2 Evaluación del semen

La valoración de las características seminales es fundamental, ya que de ello depende el éxito de emplear el semen para inseminación artificial. Este examen debe realizarse lo antes posible, luego de terminada la colecta, llevándose a cabo una evaluación macroscópica y una microscópica. (2,10,12)

4.5.2.1 Examen macroscópico

Este examen comprende los siguientes aspectos:

- Temperatura
- Volumen
- Consistencia y Color
- Olor
- Impurezas
- pH

4.5.2.1.1 Temperatura

La temperatura del semen debe medirse en el recipiente de colecta antes de introducirlo en el baño María, comprobando que la diferencia de temperatura entre ambos no sea mayor a 2°C, si esto sucede, ajustar la temperatura del baño María a la temperatura del semen, pero nunca hacer lo contrario. El eyaculado debe permanecer en baño María a 37°C durante toda la evaluación espermática, la cual no debe durar más de 15 minutos. (2,17)

4.5.2.1.2 Volumen

El volumen de la fracción rica en espermatozoides oscila entre 50-125 ml y puede determinarse con la utilización de recipientes tarados para la colecta. Al obtener la muestra y pesarla, se asume que 1 gr de semen equivale a un 1 ml pero también se pueden utilizar bolsas plásticas y probetas graduadas.

4.5.2.1.3 Consistencia

Esta se evalúa exponiendo por un momento a la luz solar el eyaculado, pudiéndose observar los siguientes datos: transparente acuoso, acuoso-turbio, lechoso cremoso, siendo el deseable lechoso pálido.

4.5.2.1.4 Color

Si se observa un color blanquecino es normal, pero puede encontrarse mezclado con otros colores como marrón, rojizo o amarillento, lo cual puede ser debido a alteraciones patológicas del aparato reproductor o a la contaminación con orina durante la eyaculación.

4.5.2.1.5 Olor

El olor debe ser sui géneris y la aparición de olores anómalos puede deberse a alteraciones patológicas del aparato genital o a la mezcla de semen con la orina durante la eyaculación.

4.5.2.1.6 Impurezas

Se debe observar que el semen no contenga pus, orina, tierra, pelos, estiércol, sangre o lubricante, ya que esto puede ser indicativo de algún proceso patológico del aparato reproductor o de contaminación en el momento de la colecta. (2,17)

4.5.2.1.7 pH

El pH debe estar entre 6.4 a 7.6.

4.5.2.2 Examen microscópico

Este incluye un cálculo de la proporción de espermatozoides con motilidad activa, concentración, aglutinaciones, anormalidades y relación vivos-muertos. (9)

4.5.2.2.1 Motilidad

Indica la capacidad de movimiento de los espermatozoides, se valora la motilidad individual. Esta evaluación es cuanti cualitativa, ya que se valora el porcentaje de espermatozoides en movimiento (de 0 a 100%) y la calidad se determina en una escala de de 0 a 5, según el tipo de movimiento. (9)

Para observar la motilidad se coloca una gota del eyaculado sobre un portaobjetos poniéndole encima un cubreobjetos. Ambos deben estar atemperados a 37° C.

Clasificación del Movimiento Individual

- 0** Inmóviles o muertos.
- 1** Movimiento pobre, la cabeza del espermatozoide queda fija y sólo se mueve la cola, pudiendo girar sobre sí mismos.
- 2** Los espermatozoides se desplazan en círculos más o menos amplios y algunos progresivos.

- 3 Movimientos progresivos lentos y ondulatorios.
- 4 Movimientos progresivos cortos y rápidos.
- 5 Movimientos progresivos rectilíneos muy rápidos. (2, 17)

Existen otros métodos más sofisticados apoyados en sistemas eléctricos y técnicas fotoeléctricas. Estas técnicas de valoración seminal están conectadas a computadoras de las cuales se obtienen varios indicadores del movimiento espermático como: velocidad, tipo de movimiento, trayectoria recorrida, desplazamiento angular, etc. Son técnicas conocidas como sistemas de análisis espermático asistido por computadora, **CASA** (computer-assisted semen analysis). (15)

4.5.2.2 Aglutinaciones

La aglutinación espermática es el acúmulo de espermatozoides que puede ser observado al momento del examen microscópico, tanto en el eyaculado fresco como en el semen diluido y se realiza al mismo tiempo que la evaluación de la motilidad. Las aglutinaciones pueden contener espermatozoides vivos o muertos que pueden estar adheridos a células epiteliales o bien unidos cabeza con cabeza o cola con cola. Las aglutinaciones suelen medirse en grados de 0 a 3, donde el grado 3 significa más de un 30-40% de espermatozoides aglutinados, pero también pueden medirse utilizando sistemas de puntuación de 1 a 5, o con adjetivos (leve, media, alta). (16)

Posibles causas de la aglutinación

- Presencia de restos de gel procedentes de las glándulas bulbouretrales: filtrado ineficaz, tapioca muy fluida.
- Concentración muy elevada del eyaculado.
- Mala calidad espermática: espermatozoides muertos o con baja vitalidad.
- Shock térmico por manipulación inadecuada del semen.
- Contaminación bacteriana del eyaculado.
- Presencia de gran cantidad de células epiteliales, descamaciones.
- Cambios en el pH del plasma seminal. (16)

Cómo reducir la aglutinación.

- Mantener la temperatura del eyaculado 37°C.

- Aumentar el filtrado del eyaculado al momento de la colecta con doble gasa estéril.
- Utilizar diluyente de alta calidad.
- Utilizar agua purificada para la preparación del diluyente.
- Tratar con vitamina C, para prevenir la aglutinación espermática mediante la activación de la antiaglutinina. (16)

4.5.2.2.3 Concentración

Es la determinación del número de espermatozoides por unidad de volumen en el eyaculado. La valoración de este parámetro es fundamental, ya que junto con el volumen del eyaculado sirve para determinar el número de dosis seminales. Se emplean varios métodos para la determinación, siendo los más usuales el recuento en las cámaras de Burker, Neubauer o Thomaney y la fotolorimetría.

El recuento en cámara es el método más recomendado en los centros de I.A. por su sencillez y exactitud. Esta técnica de recuento directo consiste en la utilización de un hematocitómetro (cámara de Neubauer) y una pipeta para glóbulos rojos. La solución utilizada para la inmovilización de los espermatozoides está compuesta de citrato de sodio y formol al 3% en diluciones con el esperma de 1:200 ó 1:100. El conteo se realiza directamente en el microscopio contando los espermatozoides de cinco cuadros grandes del rayado de la cámara en ambos lados.

El total de espermatozoides contados se multiplican por 5,000 que es un factor constante internacional. (2,17)

4.5.2.2.4 Porcentaje de vivos y muertos

Para observar el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos se hace un frotis de semen con eosina. Se observan bajo el microscopio, con el objetivo 40X, de 15 a 20 campos contando un total de 200 células. De ellas se saca el número de células vivas y el número de células muertas y se calcula su porcentaje. Se considera un buen ayaculado aquel que presenta por lo menos 80% de espermatozoides vivos. (17)

4.5.2.2.5 Anormalidades

La evaluación morfológica de los espermatozoides a través del microscopio se considera con una excelente contribución a la predicción de la fertilidad de los verracos. Un eyaculado normal no debe contener más de un 10% de espermatozoides con alguna anomalía, lo cual debe ser valorado después de la colecta y antes de preparar las dosis para IA, para ello se emplean técnicas de tinción que nos permiten observar el aspecto general de los espermatozoides. (2)

La tinción de una muestra de semen con una solución de eosina-nigrosina en tampón de citrato sódico, vista bajo el microscopio, nos permite determinar el porcentaje de anomalías y también la relación de vivos y muertos. Dentro de las anomalías se pueden encontrar:

- Presencia de gota citoplasmática proximal.
- Presencia de gota citoplasmática distal.
- Colas en látigo.
- Colas en ovillo.
- Otras alteraciones (de la cabeza y colas, cabezas sueltas y colas dobles, etc) (3)

4.5.3 Preparación de dosis seminales

Luego de evaluar la calidad del semen, el siguiente paso en la IA es la preparación de las dosis seminales. El cálculo se realiza utilizando los datos de la concentración espermática y del volumen del eyaculado, pudiendo hacer uso de los extensores o diluyentes de semen que permiten alcanzar una mayor difusión de la capacidad fertilizante de un macho de la que sería posible a través del servicio natural. (9)

4.5.3.1 Diluyente

El diluyente o extensor de semen no es más que una solución acuosa que permite aumentar el volumen del eyaculado y preservar la viabilidad de los espermatozoides por más tiempo, ya que un semen sin diluir tiene una viabilidad entre 2 y 24 horas después de la eyaculación, pero mediante la adición de los diluyentes esas cifras se pueden elevar considerablemente. (4, 8,13)

4.5.3.1.1 Ingredientes y funciones del diluyente

Básicamente los diluyentes proveen una fuente adecuada de nutrientes, un ambiente que protege a los espermatozoides contra la disminución de la temperatura, electrolitos para mantener una adecuada presión osmótica, sustancias buffer que protege al semen contra cambios extremos de pH y antibióticos que inhiben el crecimiento bacteriano. (13)

4.5.3.1.2 Nutrientes

El espermatozoide tiene la capacidad de producir la energía necesaria para mantener su metabolismo celular y generar movimiento del flagelo, principalmente a través de las vías glicolíticas. La mayoría de los diluyentes contienen glucosa como principal fuente de energía, aunque otras fuentes como galactosa, fructosa, ribosa y trealosa han sido utilizadas sin tener muchas ventajas sobre la glucosa. (4)

4.5.3.1.3 Buffers

El pH de la fracción rica del semen es de 6.8 a 7.4, por debajo de este rango, la motilidad y el metabolismo del espermatozoide se reducen de manera gradual y considerable. (1)

Los espermatozoides y las bacterias contenidas en el semen producen algunos metabolitos como ácido láctico, por lo que las sustancias buffer son necesarias para la conservación del semen. Buffers simples como el bicarbonato de sodio tienen una acción limitada mientras que sustancias como el ácido 3N-Morfolino propanesulfónico (MOPS) o el ácido N-2-hidroxietil piperazin-N-2-entanosulfónico (HEPES) tienen una mejor acción. (1,13)

El pH de los diluyentes normalmente utilizados oscila entre 6.8 y 7.2, pero con la consideración que el pH de estos medios no se estabiliza hasta pasado unos 60-90

minutos del inicio de la dilución en agua y que los distintos diluyentes presentan un diferente patrón de cambio de su pH a lo largo del tiempo. (4)

4.5.3.1.4 Electrolitos

Se utilizan para regular la presión osmótica, el espermatozoide porcino presenta una presión osmótica de 290-300 mOsm y es capaz de tolerar presiones de 240-380 mOsm. Varios estudios han concluido que ni la motilidad ni la viabilidad espermática se ven afectadas por la presión osmótica en rangos comprendidos entre 250 y 290 mOsm, mientras que cuando se reduce por debajo de 200 mOsm se detecta una reducción significativa de la motilidad. (4)

Los diluyentes isotónicos (300 mOsm) o ligeramente hipertónicos son los que mejores resultados han dado, utilizándose principalmente sales de iones inorgánicos como el cloruro de sodio y el cloruro de potasio. (13)

4.5.3.1.5 Antibióticos

Los antibióticos más utilizados actualmente son la gentamicina, lincomicina, neomicina y espectinomicina, los cuales sirven para inhibir el crecimiento bacteriano. (13)

4.5.3.1.6 Estabilizadores de membrana

Se adicionan con el fin de prevenir o retardar alteraciones no deseadas en la estructura y la función de las membranas de los espermatozoides. Las principales sustancias utilizadas son seroalbúmina bovina (BSA), hidroxitolueno butilado (BTH), etilén disódico diamino tetraacético (EDTA), polivinil pirrolidona (PVP-40) y alcohol polivinílico. (13)

4.5.3.1.7 Clasificación de los diluyentes

Los diluyentes han sido clasificados, dependiendo del tiempo de conservación:

- Diluyentes de corta duración: conservan la calidad del semen durante 1-3 días.
- Diluyentes de media duración: conservan el semen por 4 días.
- Diluyentes de larga duración: son más complejos en su composición y preservan el semen hasta por 6 días.

Algunos de los factores a considerar en la elección del diluyente es el precio y la calidad, la época del año y el tiempo de transporte del semen, así como el tiempo que pasa entre la colecta del semen y la inseminación, aunque la vida media del semen también se ve afectada por factores como la calidad de semen, frecuencia de la colecta, tasa de dilución y qué fracciones del semen se colectan. (6,13)

4.5.3.2 Cálculos para la preparación de dosis seminales

Se puede considerar que la dosis mínima recomendada tiene una concentración de 3×10^9 espermatozoides, sin embargo la de uso más corriente es de 5×10^9 espermatozoides para semen de buena calidad espermática. (17)

Fórmula para la determinación del número de dosis seminales

$$N = \frac{(A)(VE)}{C}$$

- N** = Número de dosis
- A** = Número total de espermatozoides en el eyaculado (concentración)
- VE** = Volumen del eyaculado
- C** = Concentración de espermatozoides que deseamos por dosis

Luego de la determinación de dosis, se debe calcular la cantidad de diluyente necesario para la preparación de las dosis seminales,

Fórmula para la determinación del volumen total

$$VT=(N)(CB)$$

- VT** = Volumen Total (Volumen diluyente + Volumen eyaculado)
- N** = Número de dosis
- CB** = Capacidad en ml de la botella

Por último se debe determinar la cantidad de extensor a mezclar con el eyaculado.

Fórmula para la determinación de la cantidad de extensor a utilizar

$$D= VT- VE$$

- D** = Volumen del extensor a utilizar
- VT** = Volumen total
- VE** = Volumen eyaculado

Con todos los datos calculados se realiza la extensión del eyaculado, con la opción de poder almacenarlo o de utilizarlo para inseminar hembras en celo. (17)

4.5.4 Procedimiento de inseminación

La técnica descrita por Glossop (1991) incluye como primer paso la introducción del catéter de inseminación en la vagina a través de los labios de la vulva, la punta del catéter debe lubricarse antes de introducirlo. El catéter debe dirigirse hacia arriba y hacia delante en dirección al cérvix, una vez en contacto con el cérvix, el catéter se gira en sentido contrario a las agujas del reloj para que se fije. Se conecta la botella conteniendo el semen al catéter y se presiona con suavidad para que el semen llegue al útero. Por último se gira el catéter a favor de las agujas del reloj y es retirado suavemente. (7)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

5.1.1 Recursos humanos

- Estudiante
- Tres asesores
- Personal de la granja experimental

5.1.2 De laboratorio

- Microscopio de contraste de fases
- Láminas porta objetos
- Láminas cubre objetos
- Baño María
- Balanza
- Platina térmica
- Cámara de conservación
- Contador
- Agitador magnético
- Toallas de papel desechable
- Botellas de inseminación artificial porcina de 100 ml de capacidad
- Pipetas descartables
- Cámara de Neubauer
- Termómetro
- Papel indicador de pH
- Agua destilada
- Colorante de eosina
- Cloruro de sodio
- Leche descremada en polvo
- Agua desmineralizada

5.1.3 De campo

- Termo colector
- Hielera
- Gasa
- Potro
- Alfombra de hule
- Guantes

5.1.4 Biológicos

- Verracos

5.1.5 Centros de referencia

- Instituto de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
- Documentos de internet

5.2 Metodología

5.2.1 Colecta de semen

La colecta de semen se realizó en la granja experimental de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, la cual se encuentra dentro de la zona de vida “Bosque húmedo subtropical templado” a una altura de 1,551.5., con temperaturas de 20 a 26 °C y una precipitación pluvial que oscila entre 1,100 a 1345 mm/año. Utilizando para ello el método de fijación manual, se colectó únicamente la porción rica del eyaculado en un termo colector limpio y estéril, el cual contenía gasa en la boca para filtrar el eyaculado y no coleccionar la porción de gel o tapioca. Inmediatamente de la colecta, la muestra se llevó al laboratorio.

5.2.2 Evaluación de la muestra

El eyaculado se evaluó a través de un espermograma, realizando un examen macroscópico en el cual se evaluaron las siguientes variantes:

- Volumen
- Color y consistencia
- Olor

- pH
- Impurezas

Luego de esta evaluación se realizó el examen microscópico, en el cual se evaluaron las siguientes variables:

- Porcentaje de vivos y muertos
- Aglutinación
- Movimiento individual y grupal
- Anormalidades
- Concentración

5.2.3 Preparación de dosis seminales

- Se procedió a preparar el extensor leche descremada en polvo en diferentes concentraciones. Se pesaron 50, 75 y 100 gr. de leche en polvo, los cuales se diluyeron en un litro de agua destilada a 37°C respectivamente.
- Se añadió amoxicilina como antibiótico a cada una de las diferentes concentraciones del extensor.
- Se dividió la muestra de semen en 3 porciones iguales, identificándolas como A, B y C.
- Se calculó la cantidad de diluyente necesario para cada porción, a modo de obtener una dosis seminal con una concentración de 5×10^9 espermatozoides.
- Se realizó la dilución de cada muestra de la siguiente manera:

Muestra	Extensor leche descremada en polvo
A	50 gr
B	75 gr
C	100 gr

5.2.4 Conservación de las muestras

- Luego de diluidas las muestras, se almacenaron a 16°C dentro de la cámara de conservación en pачas de 100 cc.
- En cada una de las muestras se evaluó el porcentaje de vivos y muertos, aglutinaciones y movimientos de los espermatozoides, cada 12 horas, hasta que la muestra no era apta para usarse en una inseminación.

5.2.5 Unidad experimental

La unidad experimental fue el semen de verraco y el extensor en sus diferentes concentraciones, contenidos en la botella de inseminación artificial.

5.2.6 Diseño y análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar, con 3 tratamientos y 3 repeticiones.

Para el análisis de los datos se realizaron las siguientes pruebas:

- La variable % de vivos y muertos se analizaron en diferencia de proporciones.
- Las variables movimiento individual y la variable aglutinación se analizaron en la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.
- Los datos se presentaron en gráficas y tablas.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según la prueba de Kruskal Wallis para la variable de movimiento individual estadísticamente no existe diferencia entre los 3 tratamientos en las diferentes horas de evaluación. Sin embargo el **Cuadro 2 y Gráfica 2** nos muestran que el diluyente en concentración de 50 gr no se puede utilizar como extensor de semen pasadas 12 horas de la dilución debido a que el tipo de movimiento individual de los espermatozoides es menor a 3 y ya no sirve para la inseminación de hembras.

Observamos en la **Gráfica 2** que los valores para la variable movimiento individual en los tratamientos de 75 y 100 gr se encuentran cercanos a 3, pasadas 24 horas lo que nos indica que el tiempo máximo de extensión para estas dos concentraciones es de 24 horas.

A través de la prueba de Kruskal Wallis para la variable aglutinación se determinó que no existe diferencia significativa entre los 3 tratamientos y que no se incrementó la misma de manera abrupta en ninguno de los muestreos en los diferentes tratamientos.

La variable porcentaje de vivos se determinó a través de promedios a las 0 y 12 horas. Los 3 tratamientos son efectivos como extensores de semen debido a que el porcentaje de espermatozoides vivos se encuentra por arriba de 70% (**ver Grafica 3**). A las 0 horas podemos ver una leve diferencia entre el tratamiento de 50 gr que tiene un promedio de vivos de 84% mientras que los otros dos tratamientos están iguales con un 90% de espermatozoides vivos, esto nos sugiere que a menor concentración de leche, donde hay menor cantidad de nutrientes, existe la tendencia a que mueran más espermatozoides desde el momento de la dilución.

A las 12 horas los 3 tratamientos son aptos como extensores de semen pues los porcentajes de espermatozoides vivos son mayores a 70% a las 24 horas el tratamiento de 50 gr tiene un porcentaje de espermatozoides vivos de 63% por lo que ya no sirve como extensor, esto se debe a la baja concentración de nutrientes en el diluyente provocando la muerte espermática y disminuyendo las posibilidades de fecundación de los óvulos.

Los tratamientos de 75 y 100 gramos a las 24 horas presentaron porcentajes de espermatozoides vivos arriba del 70% y pueden ser empleados en la industria porcina como extensores de semen por un máximo de 24 horas.

VII. CONCLUSIONES

- 7.1 La leche descremada en polvo puede ser utilizada como extensor de semen dentro de la industria porcina.
- 7.2 Después de 12 horas de efectuada la extensión seminal con el tratamiento de 50 gramos de leche descremada en polvo, se ve afectada la motilidad individual y el porcentaje de espermatozoides vivos se encuentra por debajo de 70%, lo que limita la posibilidad de ser utilizada para inseminación artificial.
- 7.3 La leche descremada en polvo en concentraciones de 75 y 100 gramos por litro de agua, permite una extensión seminal máxima de 24 horas, ya que encuentran vivos más del 70% de los espermatozoides a ese tiempo.
- 7.4 Estadísticamente no existe diferencia significativa entre los 3 tratamientos a las 0 y 12 horas posteriores a la dilución.

VIII. RECOMENDACIONES

- 8.1** Usar la leche descremada en polvo como extensor de semen porcino.
- 8.2** Considerar el tiempo máximo de viabilidad espermática que proporciona cada una de las diferentes concentraciones de leche descremada en polvo al momento de utilizarla como extensor de semen porcino en un programa de inseminación artificial.
- 8.3** Evaluar la incidencia que tiene la leche descremada en polvo al ser usada como extensor de semen porcino, sobre parámetros reproductivos como porcentaje de preñez, total de nacidos.
- 8.4** Se recomienda utilizar la concentración de 100 gr para extender e inseminar hembras en granjas porcinas ya con ella se obtuvieron los mejores resultados.
- 8.5** Realizar un estudio posterior utilizando concentraciones más altas de leche descremada en polvo.

IX. RESUMEN

Este estudio fue realizado con el fin de determinar la eficacia de la leche descremada en polvo en diferentes concentraciones (50, 75 y 100 gramos) como extensor de semen porcino.

Se utilizaron tres tratamientos con tres repeticiones de cada uno, para lo cual se colectó semen de cerdo en la granja experimental de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia a través del método de fijación manual, la muestra fue llevada de inmediato al laboratorio para realizarle un espermiograma, para luego dividirla en 3 partes iguales.

Se prepararon los diferentes diluyentes y se les añadió amoxicilina como antibiótico a razón de 450 mg por litro de leche para el control microbiológico de las muestras.

La leche descremada en polvo a concentraciones de 75 y 100 gr proporcionan una extensión seminal de hasta 24 horas, mientras que la concentración de leche descremada en polvo a 50 gr permite un tiempo máximo de extensión de 12 horas porque pasado estos tiempos el porcentaje de espermatozoides vivos se encuentra debajo del 70% y el movimiento individual de los espermatozoides es menor a 3, lo que hace no viable la muestra para ser utilizada en un programa de inseminación artificial.

X. BIBLIOGRAFIA

1. Cordova, A. 2004. Efecto del ph en la conservación del semen fresco de verraco diluido. (en línea). Consultado 5 jul. 2005. Disponible en <http://www.visionveterinaria.-com/art180.htm>
2. Córdoba, I. 2004. Características del semen de verraco y su evaluación práctica. (en línea). Consultado 17 nov. 2005. Disponible en <http://www.porcicultura.com/-articulos/ia/articulo.php?tema=iar021>
3. Gadea, J. 2000 Evaluación microscópica de la morfología espermática. (en línea). Consultado 6 mar. 2005. Disponible en <http://www.veterinaria.org/asociaciones/-aevedi/00131cv.htm>
4. _____. 2003. Los diluyentes de inseminación artificial porcina. (en línea). Consultado 17 may. 2005. Disponible en <http://www.porcicultura.com/articulos/ia/-articulo.php?tema=iar15>
5. _____. 2004. El uso de semen porcino congelado. (en línea). Consultado 5 jul 2005. Disponible en <http://www.visionveterinaria.com/art177.htm>
6. González, C. 2002. Influencia de la calidad seminal. (en línea). Consultado 7 jul. 2005. Disponible en <http://www.degesa.com/b8.htm>
7. Gordon, I. 1997. Reproducción controlada del cerdo. Trad. Antonio Callén Mora. Zaragoza, Es., Acribia. 267 p.
8. Hughes, PE.; Varley, MA. 1984. Reproducción del cerdo. Trad. Mariano Illera Martin. Zaragoza, Es. 253 p.
9. Hunter, R. 1987. Reproducción de los animales de granja. Trad. Pedro Ducar Malvenda. Zaragoza, Es. Acribia. 200p.
10. _____. 1992. Fisiología y tecnología de la reproducción de la hembra de los animales domésticos. Trad. Juan Manuel Ibeas. Zaragoza, Es. Acribia. 362 p.
11. Luce, W.; Selk. GE. s.f. Manejo y nutrición de las cerdas y lechonas servidas. (en línea). Consultado 5 jul. 2005. Disponible en <http://www.pcca.com.ve/vp/articulos/-vp44p7.html>
12. Mazzarri, G. 1984. Control de la reproducción e inseminación artificial en cerdos. (en línea). Consultado 25 ene. 2005. Disponible en <http://www.ceniap.gov.ve/bdigital/-fdiul/fd15/texto/control.htm>
13. Pig Improvement Company. 2004. Conservación del semen: diluyentes, empaque, temperatura y transporte. (en línea). Consultado 17 oct. 2005. Disponible en <http://www.porcicultura.com/articulos/ia/articulo.php?tema=iar07>

14. Producción de cerdos. (en línea). Consultado 5 jul. 2005. Disponible en <http://html.rincondelvago.com/produccion-de-cerdos.html>
15. Singleton, WL. 2000. Guía básica para la recolección del semen porcino: evaluación y procesamiento. (en línea). Consultado 5 jul. 2005. Disponible en <http://www.a-campo.com.ar/espanol/porcinos/porcinos7.htm>
16. Tinoco, P. sf. Aglutinación espermática. (en línea). Consultado 17 nov. 2005. Disponible en <http://www.porcicultura.com/articulos/ia/articulo.php?tema=iar022>
17. Veliz, Y; González, L. 2004. Manual de inseminación artificial en porcinos. Guatemala, Gt. 10p.

XI. ANEXOS

CUADRO 1. EVALUACION DE LA MUESTRA DE SEMEN ANTES DE DILUIR

MACROSCOPICA

EVALUACIÓN	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3
Volumen	100 ml	150 ml	125 ml
Color/ Consistencia	Blanco lechoso	Blanco lechoso	Blanco lechoso
Olor	Suigeneris	Suigeneris	Suigeneris
Temperatura	37 °C	37 °C	37 °C
pH	8	8	9

MICROSCOPICA

EVALUACIÓN	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3
Concentración	0.42 X 10 ⁹	0.6 X 10 ⁹	0.48 10 ⁹
Motilidad general	95%	90%	95%
Motilidad individual	5	5	5
Aglutinación	+	+	+
Vivos / Muertos	97/3	92/8	90/10
Anormalidades	7%	6%	3%

7.2 CUADRO No. 2

Evaluaciones del diluyente leche descremada en polvo 50 gramos

Movimiento individual	0 HORAS	12 HORAS	24 HORAS
Muestreo 1	5	3	1
Muestreo 2	4	3	1
Muestreo 3	5	4	2
Aglutinaciones			
Muestreo 1	+	++	++++
Muestreo 2	++	++	+++
Muestreo 3	++	++	+++
Porcentaje de vivos			
Muestreo 1	88	77	60
Muestreo 2	85	72	56
Muestreo 3	87	82	72

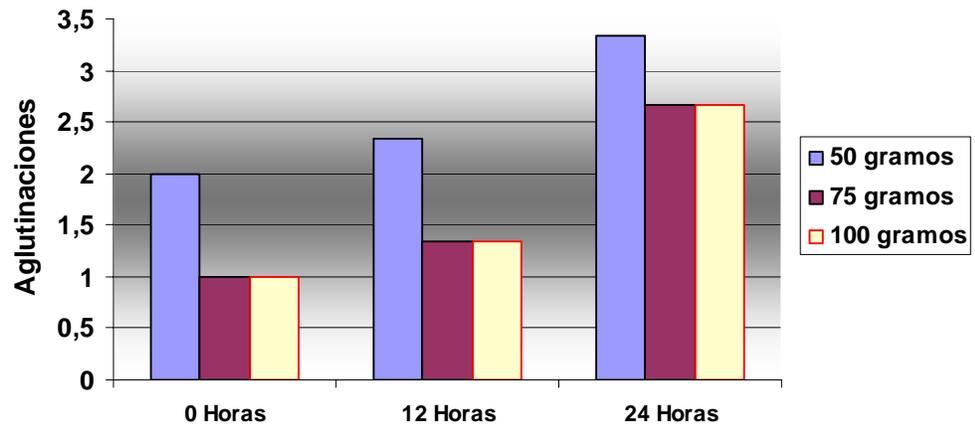
CUADRO No. 3
Evaluaciones del diluyente leche descremada en polvo 75 gramos

Movimiento individual	0 HORAS	12 HORAS	24 HORAS
Muestreo 1	5	5	3
Muestreo 2	5	3	2
Muestreo 3	5	5	3
Aglutinaciones			
Muestreo 1	+	++	+++
Muestreo 2	+	+	++
Muestreo 3	+	+	++
Porcentaje de vivos			
Muestreo 1	96	81	72
Muestreo 2	90	83	68
Muestreo 3	89	84	75

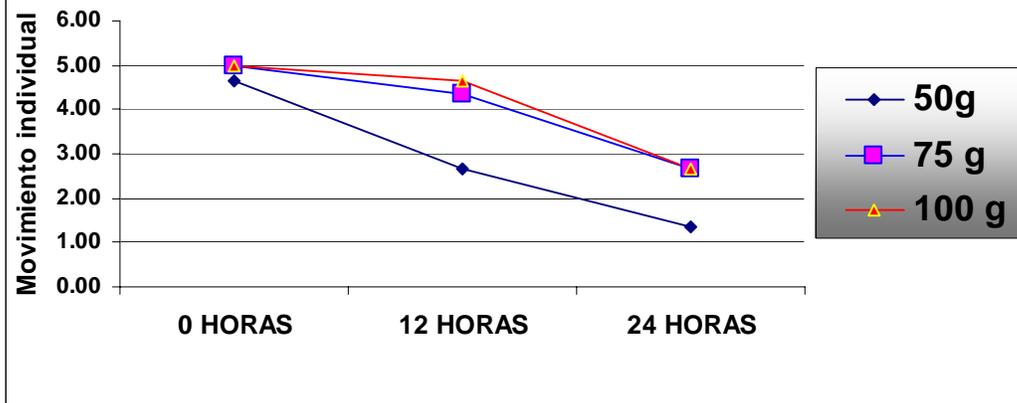
CUADRO No. 4
Evaluaciones del diluyente leche descremada en polvo 100 gramos

Movimiento individual	0 HORAS	12 HORAS	24 HORAS
Muestreo 1	5	4	2
Muestreo 2	5	5	3
Muestreo 3	5	5	3
Aglutinaciones			
Muestreo 1	+	++	++
Muestreo 2	+	+	+
Muestreo 3	+	+	++
Porcentaje de vivos			
Muestreo 1	95	79	70
Muestreo 2	91	87	75
Muestreo 3	90	85	77

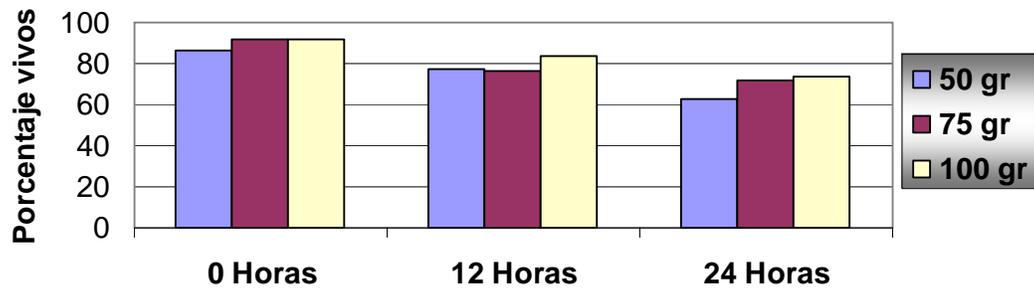
GRAFICA No. 1
Promedio de las aglutinaciones de los 3 tratamientos



GRAFICA No. 2
Promedio del movimiento individual de los 3 tratamientos



Grafica No. 3
Porcentaje de espermatozoides vivos



Br. EDDY ESTUARDO GONZÁLEZ COJULUN

Asesor principal Dr. YERI VELIZ PORRAS

Asesora Dra. LIGIA ANAITÉ GONZÁLEZ

Asesor Dr. GUSTAVO TARACENA

IMPRIMASE: _____
Decano: Lic. MARCO VINICIO DE LA ROSA