

# **SEMEN CONGELADO PORCINO**

- 1. Reseña Histórica**
- 2. Congelamiento de la esperma del Verraco**
- 3. Ventajas de la Inseminación Artificial**
- 4. Recuentos del uso del semen congelado**
- 5. Justificación del costo**
- 6. Técnicas de descongelación**

- 1. Reseña Histórica**

En el año 1949 el equipo del Dr. C. Polge en Cambridge (Reino Unido) usa por primera vez con éxito el glicerol como agente crioprotector para congelar espermatozoides. Este hecho supuso un espectacular desarrollo de los sistemas de congelación de todos los tipos de células y la paulatina implantación del uso de semen congelado en la inseminación artificial bovina. Técnicamente la congelación de semen bovino se ha mantenido básicamente en condiciones muy parecidas a las iniciales hasta nuestros días y ha sido la base para las grandes mejoras productivas en las razas lecheras como herramienta fundamental en la difusión genética de los caracteres productivos.

Por el contrario, en la especie porcina la aplicación inicial de las técnicas de congelación espermática no se obtuvo el éxito esperado. Y no es hasta 20 años después, en 1970 también en Cambridge, cuando obtienen las primeras camadas a partir de semen congelado mediante la deposición del mismo a nivel uterino mediante una intervención quirúrgica (laparotomía) (Polge et al., 1970). En estos trabajos está implicado el mismo Polge, junto a Salomon e Ian Wilmut (que posteriormente se hará mundialmente famoso como creador de la oveja clónica Dolly). Un año después, en 1971 se obtienen las primeras camadas con inseminación cervical mediante el uso de catéteres de inseminación en diferentes laboratorios (Crabo y Einarsson, 1971; Pursel y Johnson, 1971; Graham et al., 1971).

Se produce un cambio radical cuando en el mismo año 1975, en Estados Unidos (Pursel y Johnson, 1975) y en Alemania (Westerndorf et al., 1975) se desarrollan dos métodos de congelación que pueden ser aplicados a nivel comercial y que en esencia son los que se continúan utilizando hoy en día. Ambos métodos utilizan diluyentes que están basados en la utilización de la yema de huevo y glicerol como agentes crioprotectores, una concentración elevada de azúcares y la adición de un agente detergente (Orvus et paste).

El método alemán (Westerndorf et al., 1975) utiliza un medio que consta de lactosa (11%) y yema de huevo (20%) y envasa las muestras seminales en pajuelas de 5 ml. Mientras que el método americano Beltsville descrito por Pursel y Johnson (1975) utiliza el medio denominado BF-5 (Beltsville freezing – 5), en cuya composición se incluye glucosa, yema de huevo y Tris como agente regulador del pH, y las muestras seminales se colocan sobre nieve carbónica para congelarse en forma de píldoras (pellets) de un centenar de microlitros.

El método alemán es el que ha perdurado con ciertas modificaciones como el uso de pajuelas de menor volumen (0.5 ml) o ajustes en las condiciones de adición del glicerol y es el más frecuentemente empleado en la actualidad.

## **2. Congelamiento de la esperma del verraco**

Durante la década de los 90 se mejoraron las condiciones del proceso de congelación con el estudio de nuevos envases, curvas de congelación, etc. En este periodo la Facultad de Veterinaria de la universidad de Liege (Bélgica), junto con el CIAP desarrollaron con éxito el proceso de congelación del semen porcino mediante la utilización de pajillas francesas(IMV) de 0.5 ml.

Inspirados en los resultados de las últimas décadas se elaboró la técnica de congelamiento en pajillas medianas efectuándose por una inmersión de estas en un baño de María a 55 grados centígrados durante 12 segundos para llegar lo más rápidamente posible a la temperatura de 38 grados centígrados. Esta forma de actuar permite suprimir al máximo el estancamiento de la temperatura durante el periodo de fusión y evitar así el fenómeno de la recristalización. Transcurrido este tiempo, el contenido de las pajillas es vertido en el diluyente BTS (95 ml. para una dosis, medio de descongelamiento) a 38 grados. La inseminación se realiza entonces lo más rápidamente posible luego del descongelamiento y durante el periodo de inmovilidad de la cerda.

Este proceso de descongelamiento es relativamente pesado y fastidioso pues necesita un cronometraje preciso del tiempo de la inmersión y la presencia de 2 niveles diferentes de temperatura en el mismo momento (55 grados para la temperatura del baño de María y 38 grados para la del BTS).

Finalmente se perfeccionó la técnica, mediante la utilización de pajillas finas de 0.25 ml. De capacidad como nuevo acondicionamiento. El descongelamiento del semen se facilita pues estas pajuelas permiten un descongelamiento bastante rápido en el baño de María a 38 grados durante un tiempo indeterminado (sobre 10 segundos) sin el riesgo de dar una temperatura excesiva al semen (como es el caso con las pajillas medianas de 0.5 ml. Si se procede durante un tiempo de inmersión demasiado largo).

Por tanto fue necesario buscar la eficacia del acondicionamiento del semen en pajillas finas que simplifica el protocolo de descongelamiento, asegurando así una penetración más rápida del uso del semen congelado en el seno de las explotaciones.

Se presentan interesantes perspectivas en la utilización de pajillas finas consideradas los buenos resultados ya adquiridos in situ.

En el futuro, habrá que determinar el número ideal de espermatozoides necesarios por dosis de inseminación. La utilización sistemática del analizador de imágenes que aporta datos objetivos (con la condición de establecer parámetros que reflejan aun mejor la realidad) nos ayudara ciertamente a finalizar este objetivo.

### **3. Ventajas de la inseminación artificial**

La inseminación artificial como técnica reproductiva aporta una serie de ventajas, entre las que se encuentran:

- La amplia difusión del material genético del verraco seleccionado que alcanza para inseminar un mayor número de hembras.
- Mejoras sanitarias en la explotación, al evitar el contacto directo macho-hembras por lo que se impide la transmisión de enfermedades por vía venérea y por contacto.
- Se evalúa continuamente la capacidad de producir espermatozoides de calidad suficiente para asegurar la fecundación.

- Supone de forma indirecta mejorar el control de los resultados reproductivos de la explotación.
- Reducción en el número de verracos por hembra, con la consiguiente reducción en costos de adquisición, alojamiento, alimentación, etc. Ese dinero ahorrado puede ser destinado a la compra de verracos de mejor calidad genética.

Pero la utilización de semen congelado en el sistema de inseminación puede ofrecer unas ventajas adicionales:

- Permite el intercambio de material genético de última generación a larga distancia y durante un periodo muy largo (años) delimitando con precisión el efecto del semen congelado en cuanto al número de lechones nacidos (método de evaluación BLUP-Best linear Unbiased Predictor). Este periodo de tiempo puede ser crucial para efectuar un control sanitario o genético del semen del verraco antes de su uso. Eso es posible hoy con el diagnóstico de enfermedades infecciosas basado en el estudio de la presencia de ADN del agente infeccioso mediante técnicas de PCR (Reacción de polimerasa en cadena) y el desarrollo de marcadores genéticos asociados a la producción es un proceso creciente.
- Creación de bancos genéticos. De interés evidente en el caso de la conservación de razas en peligro de extinción y de grandes posibilidades para la conservación de líneas o extirpes de especial interés.
- Estos bancos de genes también pueden ser importantes a nivel comercial por ejemplo para asegurar la conservación de líneas genéticas valiosas ante posibles situaciones desfavorables (epizootía, incapacidad para recogida, infertilidad/subfertilidad por altas temperaturas, etc.).
- A nivel práctico permite el introducir material genético de alto valor sin los riesgos derivados de la introducción de nuevos animales en la explotación. Especialmente aplicable a la líneas puras (abuelas).
- Poder tener en Colombia material proveniente de países libres de fiebre aftosa sin vacunación, enfermedad vesicular del cerdo, enfermedad de Teschen, estomatitis vesicular y peste porcina clásica.
- Los centros de inseminación artificial donde se produce el semen congelado están debidamente autorizados y cumplen con las normas sanitarias recomendadas y actualizadas por la O.I.E. para la exportación-
- Los centros tienen que ser libres de la enfermedad de Aujeszky y no usan vacuna para esta enfermedad.
- Los animales residentes en los centros de producción del semen congelado son sometidos a inspección permanente de salud por los médicos veterinarios y estos certifican que no se haya presentado sintomatología clínica de enfermedades contagiosas durante un periodo de doce meses anteriores a las primeras colecciones con destino a Colombia y 30 días posteriores a la última.
- Todos los genitores deben dar resultado negativo a las pruebas diagnósticas de acuerdo con los estándares del país de orígenes efectuados con una periodicidad de al menos cada doce meses en: Leptospirosis, Brucelosis, gastroenteritis transmisible, PRRS, tuberculosis y encefalitis por enterovirus.

- Las diluciones del semen se debe realizar con diluyentes estériles a los cuales se les ha agregado antibióticos en cantidades adecuadas de acuerdo a los estándares internacionales de la O.I.E. No se debe utilizar proteína de rumiantes y el producto deberá ser exento de gérmenes patógenos o ser esterilizado.
- Finalmente se demuestra que no existe ninguna diferencia de importancia en cuanto a la fertilidad luego de la utilización de semen fresco o congelado cuando se practican dos inseminaciones sucesivas. Por el contrario, esta disminuye cuando solo se procede a una inseminación con semen congelado. La segunda inseminación es necesaria, en especial en el caso de las cerdas viejas para cubrir de la mejor manera el momento de la ovulación. Los resultados menos buenos registrados durante una inseminación simple se puede explicar en parte por una intervención demasiado tardía(o por el hecho de que algunos animales presenten un celo más corto)- por el contrario, las cerdas fecundadas, inseminadas con una o dos dosis, dieron nacimiento al mismo número de lechones (CIAP 1996). Resulta entonces probable que los espermatozoides congelados tengan una supervivencia más reducida (9 horas vs. 18 horas frescos) y que por consiguiente, el plazo entre la inseminación y la ovulación sea más corto que cuando se utiliza semen fresco. El proceso de congelamiento y descongelamiento dañan en parte la membrana y los componentes celulares, perturbando así el metabolismo, y de este modo, la duración de la capacidad fecundadora de los espermatozoides. Si el momento de la ovulación es bien confirmado, se puede reducir el número de espermatozoides que se utilicen.

#### **4. Recuentos del uso del semen congelado**

El proceso de congelación/descongelación provoca lesiones en cualquier tipo de célula, pero los espermatozoides son especialmente sensibles a las bajas temperaturas, sufriendo el proceso que se denomina “choque por frío”. Las particularidades que presenta el espermatozoide porcino hacen que sea muy sensible al choque por frío (Pursel et al., 1973), que produce una alteración de funcionalidad de la membrana espermática y la viabilidad celular se ve comprometida. Estas alteraciones del espermatozoide suponen que la vida media del mismo se ve acortada, es decir, se reduce el tiempo en el cual el espermatozoide puede ser fértil. De tal manera que al usarse en inseminación artificial se obtenían resultados inferiores a los obtenidos con semen refrigerado como el clásico trabajo de Johnson et al. De 1985. En él, se concluía que la fertilidad del semen congelado era sensiblemente menor a la obtenida con semen refrigerado y que podría estimarse en una reducción media del 20% en la tasa de partos.

La reducción en el rendimiento reproductivo ha sido el gran limitante de esta técnica. Sin embargo, en los últimos años se ha realizado un gran esfuerzo para mejorar la fertilidad del semen congelado en inseminación artificial obteniéndose resultados a nivel comercial muy prometedores (Thilmant 1998, Gadea et al., 2001; Ericksson et al., 2002; Ruiz et al., 2002; Sellés et al., 2003) que suponen tasas de partos por encima del 70% y para algunos machos por encima del 80%. Por tanto, hoy en día con estos resultados sería conveniente evaluar si es rentable comercialmente el uso del semen congelado para determinadas aplicaciones, como el uso para las razas en pureza. En cualquier caso debemos desterrar la idea muy difundida entre el sector que afirma que los espermatozoides porcinos no se pueden congelar de forma adecuada y su uso no

permite unos rendimientos reproductivos adecuados porque, sencillamente, no es cierta. Esta misma idea incierta se difunde en sentido contrario cuando hacemos referencia al semen congelado en el ganado vacuno de leche, donde la mayor parte de la inseminación artificial se realiza con semen congelado, cuando la fertilidad obtenida no supera en el mejor de los casos el 70%.

La utilidad fundamental de esta técnica está asociada a la incorporación de genética de alto valor a nuestra explotación (para razas en pureza, abuelas y bisabuelas). Por tanto los rendimientos reproductivos obtenidos, sin dejar de ser importantes, son secundarios a la consecución del objetivo primario que es la mejora genética de nuestra explotación porcina. Desgraciadamente este uso tan claramente rentable en la actualidad no se está aprovechando quizás debido a un problema en la transferencia de la tecnología al sector.

Téngase en consideración que si existiera una red de distribución de semen congelado adecuado, que produjera dosis seminales congeladas procedentes de animales de valor genético de excelencia y de calidad seminal suficiente. El ganadero únicamente debería mantener su dosis en un tanque de nitrógeno líquido (tal como hace el ganadero de vacuno lechero) y en el momento adecuado descongelar la muestra sobre un diluyente simple (por ejemplo BTS) y proceder a la inseminación en unas condiciones similares a las del semen refrigerado. El coste adicional de este proceso (en ningún caso elevado) sería fácilmente contrarrestado por las mejoras productivas consecuencia de la introducción en la explotación de material genético mejorante, y no directamente de la fertilidad obtenida en la utilización del semen congelado.

En cualquier caso es posible mejorar los rendimientos reproductivos con semen congelado, permitiendo ampliar su uso a distintas situaciones donde el rendimiento y ventajas superen a las limitaciones. Las vías de mejora han ido dirigidas a optimizar los sistemas de congelación para obtener una calidad seminal aceptable tras la descongelación (nuevos procedimientos de congelación, diluyentes, aditivos, envases, etc.). Pero todavía hay algunos aspectos que pueden mejorar sensiblemente.

La selección de verracos ha sido basada hasta el momento en los rendimientos productivos que éstos ofrecen en la descendencia (índices de crecimiento y conversión, conformación, calidad de canal), cubriendo unos mínimos de calidad seminal que aseguren un rendimiento reproductivo adecuado. Sin embargo, hasta el momento no se ha realizado una verdadera selección de reproductores por su capacidad de congelación como previamente se ha realizado en el vacuno de leche.

En numerosos estudios se han descrito grandes diferencias en la capacidad de congelación que presentan los espermatozoides de machos diferentes (revisado por Johnson, 1985), que afectan tanto a la viabilidad de los espermatozoides tras la descongelación como a la fertilidad in vivo (Johnson et al., 1981). De manera tradicional los machos han sido clasificados como “buenos congeladores” o “malos congeladores” (Medrano et al., 2002). Hasta hace muy poco no se sabía nada sobre las posibles causas de esta variabilidad, de manera que la única solución viable es la de optimizar los procesos de congelación para reducir al máximo la variabilidad y descartar aquellos machos realmente malos congeladores (Gadea y cols, 2003). Recientemente se han encontrado los principios de una base genética que justifique estas diferencias (Thurston et al.,

2002). Un apasionante nuevo campo de estudio se abre para los próximos años, cuando sea posible detectar mediante el uso de un marcador genético aquellos verracos con mayor capacidad de congelación espermática.

## 5. Justificación del costo

Uno de los problemas a solucionar es el mayor coste que presentan las muestras seminales congeladas. Esto es debido a diversas causas:

- a. El número de espermatozoides por dosis es sensiblemente mayor en el caso de semen congelado frente al refrigerado para asegurar unos buenos resultados reproductivos. Se usan dosis de  $5-6 \times 10^9$  espermatozoides cuando en refrigerado es de  $2-3 \times 10^9$ . De esta manera, de un eyaculado sólo podemos producir la mitad de dosis que en el uso común.
- b. La producción de las dosis es más costosa en tiempo y materiales. Además requiere un equipamiento sofisticado y costoso que sólo es rentable si la producción de dosis congeladas es elevada.
- c. El mantenimiento de las dosis en tanques de nitrógeno líquido de las muestras seminales es costoso ya que se necesitan varias pajuelas por inseminación, de manera que el consumo de nitrógeno líquido es importante.

En la actualidad, se está haciendo un esfuerzo en reducir el número de espermatozoides por dosis, que así mismo supondría reducir significativamente el coste de producción y mantenimiento, para ello hay abiertas diversas líneas de actuación:

Mejorar los procesos de congelación, para que haya una proporción mayor de espermatozoides viables en el momento de la inseminación.

Sincronizar mejor el momento de la ovulación de la cerda con el momento de inseminación de tal manera que aseguremos el encuentro del mayor número de espermatozoides viables con los ovocitos recién ovulados (Larson, 1976). Esto implica, o bien, el empleo de diagnósticos de ovulación mediante el uso de ecografía por vía rectal o transabdominal (Knox y Zas, 2001), o bien, la utilización de protocolos de sincronización de la ovulación con tratamientos hormonales (de Rensis et al., 2003).

Utilización de inseminaciones intrauterinas profundas que permitan reducir el número de espermatozoides por dosis (Roca et al., 2003).

Igualmente se puso a punto la técnica de fecundación in vitro con espermatozoides congelados (Gadea et al., 1998<sup>a</sup> y 1998<sup>b</sup>; Matás et al., 2002), que por una parte

permite producir embriones in Vitro que tras la correspondiente transferencia permita el nacimiento de lechones (Coy et al., 2001). Por otra parte la fecundación in Vitro es el sistema más preciso para evaluar la capacidad fertilizante del semen congelado (Selles et al., 2003).

Se han estudiado diversos factores que pueden mejorar la eficiencia de la técnica: la curva de congelación con sistemas automatizados o biocongeladores (Murgas et al., 2001; Ruiz et al., 2002), las condiciones óptimas para la descongelación (Sellés et al., 2003), las diferencias en la capacidad de congelación de las diversas fracciones del eyaculado (Sellés et al., 2001), las condiciones en las que se produce la inseminación (Ruiz et al., 2003), así como el efecto de la estación, la línea genética y el verraco en la capacidad de congelación (Gadea et al., 2003). Los resultados de fertilidad del semen congelado a nivel comercial parecen muy prometedores obteniendo tasas de partos superiores al 70% ya alcanzando para algunos verracos más del 80% (Gadea et al., 2001; Ruiz et al., 2002 y 2003; Selles et al., 2003).

En los últimos tiempos nos hemos centrado en el estudio de las alteraciones que produce la congelación en la célula espermática y, especialmente, en la desestabilización que se produce durante la congelación del sistema antioxidante del espermatozoide. Esta información sobre los procesos básicos puede ser vital para posteriormente aplicarla en el diseño de nuevos protocolos y diluyentes que permitan minimizar el daño espermático. El contenido de glutatión (principal agente antioxidante no enzimático) se reduce durante el proceso de congelación (Gadea et al., 2004), así como se alteran las proteínas de la membrana espermática (Gadea et al., 2004). La adición de este glutatión en los diluyentes hasta el momento no tiene un efecto claro, la aplicación en el medio de congelación no parece tener un efecto positivo (Sellés et al., 2003; Matás et al., 2004). Sin embargo, si hay una mejora al añadir este compuesto en el medio de descongelación (Gadea et al., 2000 y 2004). Igualmente estamos estudiando como se modifican las proteínas de la membrana de los espermatozoides por el proceso de congelación (Marco y Gadea, 2003; Gadea et al., 2004b) información que nos permitirá evaluar si los nuevos procesos son más eficientes.

## 6. Técnicas de descongelación

El uso de semen porcino congelado, es de reciente utilización en Colombia y los países latinoamericanos, en tanto su validación como opción tecnológica solo hasta la primera mitad de la década de los años 90 del siglo pasado, se hizo disponible gracias a la paciente investigación del CIAP (Centro Interprofesional Para El Mejoramiento Y Promoción Animales), la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Lieja y el apoyo del Ministerio de la región de Valonia, en Bélgica.

A Colombia, el semen congelado porcino fue introducido hacia el año 2003 y desde entonces la porcicultura americana viene haciendo uso de un avance biotecnológico que le permite acceder a la oferta genética de los reproductores de mejor referenciación técnica de Europa.

Previo a este avance, la inseminación artificial porcina se desarrolló con el uso de semen fresco, lo cual fue un importante avance en el proceso de mejoramiento genético de las piaras localizadas en una zona bajo la influencia de un grupo de reproductores considerados élitos. Sin embargo, con el paso del tiempo, los recursos genéticos, manejados de esta manera, inician un proceso de saturación que incluye eventos frecuentes de cruzamientos consanguíneos. Para resolver situaciones como esta y ampliar el acceso a animales certificados de alta calidad, el uso de semen congelado se convierte en la herramienta de elección.

En atención a que su manejo dispone de pocos antecedentes en la explotación porcina, se presenta a continuación una guía básica para el proceso de descongelamiento y aplicación del semen porcino.

### **1. Materiales.**

Los materiales dispuestos para hacer un buen procedimiento de descongelación, son los siguientes:

- a. *Semen congelado.* Se trata del producto importado, el cual debe estar almacenado en termo de Nitrógeno líquido, dispuesto en pajillas de 0.25 m.l., a razón de 10 unidades/dosis (Una dosis es la cantidad de semen destinada para servir una cerda durante su calor). Las pajillas son unos pequeños tubos capilares de unos 10 cm. de largo con uno de sus extremos sellados al calor. En su interior se encuentra el semen y unos tapones que posteriormente servirán de émbolos para empujar el semen.
- b. *Diluyentes.* Los diluyentes son los compuestos que vehiculizan y protegen las células espermáticas una vez se realiza el descongelamiento. Se recomienda el uso de *BTS-TOP*, el cual proporciona un medio muy favorable a las células espermáticas que garantizan su supervivencia, sin afectar su calidad. Se presenta en sobres de 52.5 g, para diluir en un litro de agua estéril, bidestilada o deionizada.
- c. *Agua deionizada, bidestilada.* Con el objetivo de hacer una adecuada solución que sirva de vehículo al material seminal descongelado, se requiere de agua como diluyente universal. Pero, debe tenerse mucho cuidado en el sentido de seleccionar ofertas comerciales que garanticen que esta agua cumpla con las siguientes condiciones: estéril (es decir, que no contenga microorganismos que afecten el esperma o la salud de la cerda); destilada, preferiblemente bidestilada, para la eliminación de gérmenes y deionizada, es decir que no contenga elementos cargados eléctricamente, los cuales pueden afectar la eficiencia espermática.
- d. *Frasco dispensador.* De plástico, no reciclado, estéril, de unos 100 c.c. de capacidad.
- e. *Baño de María.* Se trata de un recipiente con agua a temperatura de 38°C. Existen en el mercado sofisticados equipos que cumplen esta función. Con sentido práctico se puede usar un recipiente doméstico que permita recibir el agua y otro recipiente flotante que reciba a su vez el material que se quiere conservar a tal temperatura.

- f. *Pistola de Inseminación*. Es un instrumento metálico desarrollado por la industria de equipos de inseminación. Se recomienda, por su calidad, el uso de una pistola alemana “Universal”, útil para pajillas de 0.25 y 0.50 c.c.
- g. *Fundas*. Son pitillos protectores, de material plástico, que se utilizan para conducir y asegurar la pajilla y conservarla en adecuadas condiciones higiénicas.
- h. *Catéter*. Es el conductor final del semen hacia el útero. De material plástico, debe ser estéril. Su extremo terminal tiene la forma del glande del verraco, con el fin de fijarlo en el cérvix de la cerda. Se recomienda, reiteradamente, que estos materiales no sean de plásticos reciclados.
- i. *Tijeras*

## 2. Método.

- a. **Preparación de la solución diluyente.** Disponga de un sobre de *BTS-TOP*, y dilúyalo en 1 litro de *AGUA ESTÉRIL, DEIONIZADA Y BIDEUTILADA*. Una vez conformada esa solución, llene uno de los frascos de inseminación con aproximadamente 80 a 100 c.c. y llévelo al “Baño María”. Como se ha preparado un volumen mayor de la solución diluyente, es posible que sea del interés del productor conservarla para nuevos eventos. En condiciones de refrigeración en nevera común, de 4 a 7°C, la solución se conserva viable por 8 días, cuando debe descartarse definitivamente.
- b. **El Baño de María.** Inicialmente, se buscan temperaturas de 40°C en el agua dispuesta en un recipiente, lo suficientemente ancho como para que pueda alojar el frasco donde se ha preparado la solución diluyente. Mediante el termómetro disponible (digital en lo posible), se monitorea la temperatura hasta alcanzar los 38°C.
- c. **Introducción de las pajillas.** Las pajillas a utilizar, se sumergen en el Baño de María, 38°C, durante 15-20 segundos y se retiran, se secan una a una con destino al corte y luego a la pistola de inseminación.
- d. **Corte de la pajilla.** En el extremo sellado, utilizando las tijeras, realice un corte para posibilitar el drenaje del contenido de la pajilla.
- e. **Acople la pajilla** a la pistola de inseminación. Por el lado contrario al corte (donde se observan los tapones), se acopla al émbolo de la pistola.
- f. **Acople una funda de inseminación a la pistola**, que ya debe contener la pajilla. Guíe la pistola asegurándose que llegue hasta el fondo de la funda.
- g. **Destape el frasco de inseminación**, sobre el que se drena el semen contenido en la pistola. Se extrae la funda, luego la pajilla vacía y se seca la pistola, antes de introducir una nueva pajilla.

- h. **Repita la operación.** Hasta este punto, la operación se repite por cada pajilla, drenando al mismo frasco, hasta completar la cantidad de semen que se vaya a insuflar en una sola aplicación (3, 4 o 5 pajillas), dependiendo del procedimiento establecido en cada granja. Este frasco, con su contenido, debe conservarse, en adelante, a 38°C y hasta cuando el material sea introducido a la cerda.
- i. **Homogenización.** Una vez se tiene el contenido de las pajillas en el frasco de inseminación, se homogeniza, con movimientos circulares muy suaves. Es recomendable, destapar el frasco, sacar el aire y volver a tapar, con el fin de reducir riesgos de contaminación.
- j. **Manejo del Frasco de inseminación.** Una vez preparada la dilución del semen, el operario debe dirigirse a la cerda objeto de la inseminación. Si el animal se encuentra relativamente lejos, el frasco debe mantenerse abrigado para conservar la temperatura, por ejemplo del cuerpo del inseminador (en la mano o en la axila). También se puede disponer de un termo doméstico de los utilizados para café, en el que se dispone agua del “Baño de María”. Sobre este contenido se pone el frasco con el semen.
- k. **Inseminación.** Cuando ya se dispone a inseminar, en el frasco de inseminación, que tiene una tapa que se proyecta en punta a manera de dispensador, se hace un “despique”, separando una porción de aquella punta con las tijeras. En estas condiciones, el frasco se adapta al catéter, que ya debe estar instalado en la cerda y se exprime, dejando todo el contenido directamente en el útero.

### 3. NOTAS SOBRE ASPECTOS DE LA FISIOLOGÍA DEL CELO DE LA CERDA.

- ◆ Aparición del calor pos- destete: 5- 7 días.
- ◆ Signos de calor: Coloración y dilatación de la vulva.
- ◆ Punto de elección para el servicio (Inseminación): La cerda está lista para la recepción del semen, cuando se deja poner la mano en los cuartos posteriores.
  - ⊃ Si corresponde al 4° posparto, después de los signos se inicia una observación permanente. Si se detecta “dispuesta”, se realiza el primer servicio a las 24 horas. El segundo servicio, 12 horas después.
  - ⊃ Si está dispuesta entre los 5-7 días posparto, se realiza el primer servicio a las 12 horas y se repite 12 horas después del primero.
  - ⊃ Si el animal está dispuesto al final de 7° día posparto o al inicio del 8°, se insemina inmediatamente y se repite a las 12 horas.
  - ⊃ Si se dispone después del 8° día, NO SE INSEMINA ¡! Se espera el próximo calor.
- ◆ Es posible que una dosis completa -10 pajillas- se divida en tres (3) aplicaciones, cada 8 horas, dependiendo del manejo en cada granja.
- ◆ Con las PRIMERIZAS:
  - ⊃ Se recomienda usar las 2 aplicaciones de semen en 24 horas:
    - 1ª. 0 horas después de estar dispuesta, 6 pajillas.
    - 2ª. 8 horas después de la primera, 4 pajillas.

- ↯ Por lo menos, se deben haber observado tres (3) celos previos normales
- ↯ Su peso debe ser mayor a los 145 kg.
- ↯ Su condición sanitaria debe ser óptima.

El tamaño de la camada al primer parto cumpliendo todos los parámetros descritos, debe ser mayor que el promedio de la granja.

## **Referencias Bibliograficas**

- COURTENS J.L, PAQUIGNOM M.,First Int. Conf. Deep Freezing Board Semen.
- HAMMIT D.G., MARTIN P.A., Theriogenology.
- POLGE C., SALAMON S., WILMUT I.
- P. THILMANT (CIAP).
- ERGOMIX (Reseña historica)
- PROTOCOLO DE DESCONGELACION, GENAGRO INTERNATIONAL LTDA
- CERTIFICADO SANITARIO PARA LA EXPORTACION DE SEMEN PORCINO COLOMBIA (Reino de Bélgica)