



EFECTO DE LA FOTOESTIMULACIÓN DE ESPERMA EN LA MEJORA DE LOS PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

Sam Balasch

Responsable del área de I+D de Gepork

sbalasch@gepork.es

Av. Tecnol. porc. XIII (10): xx - xx

INTRODUCCIÓN

El uso de inseminación artificial (IA) con semen fresco es una de las herramientas clave que han establecido la base del crecimiento exponencial en la producción porcina mundial durante los últimos años.

El éxito de la IA se debe básicamente a que es una técnica fácil y de bajo coste para usar en granjas de cerdos de cualquier tamaño. Utilizando la IA, las granjas han podido aumentar su capacidad.

Aun así, hay algunos problemas no resueltos que hacen que la IA no sea óptima para todas las granjas comerciales.

Puede afectar al verraco:

- Valores intrínsecos (edad, raza, tamaño testicular, etc.).
- Valores extrínsecos (manipulación del espermatozoides, nutrición, ritmo de recolección de semen).

Así mismo, también puede afectar a la cerda y a su capacidad de reproducción.

Uno de esos problemas es la presencia de una fuerte estacionalidad que afecta a los resultados de fertilidad y prolificidad. En nuestra zona geográfica, afecta a la reducción de parámetros reproductivos en granjas comerciales durante el verano y principios de otoño.

Estos efectos se han atribuido a:

- La subida de temperatura (afecta a las hembras, pero también a la producción espermática de los verracos).
- La existencia de un ciclo estacional que influye en la producción de semen.

Si se compara la evolución de la fertilidad en granjas comerciales con las temperaturas máximas y mínimas durante el año, se obser-

va que el clima mediterráneo se basa en un invierno frío y seco, y un verano caluroso y lluvioso en determinadas zonas. Los meses más calurosos son en primavera y verano pero, en verano, las lluvias de tarde provocan una mayor diferencia entre las temperaturas máximas y mínimas.

Algunos estudios previos en fotoestimulación de muestras de espermatozoides antes de la IA denotan una correlación entre algunas variaciones en la capacidad reproductiva. Estos estudios previos se han llevado a cabo con ratones, perros, humanos, toros, ovejas y conejos.

La finalidad de este estudio es encontrar una herramienta que minimice los efectos de la estacionalidad en la IA y que aumente los resultados de fertilidad en granjas comerciales usando fotoestimulación.

Para llevar a cabo este estudio, se usaron dosis de semen refrigeradas a 17°C. Previamente, se sometieron las muestras a un procedimiento específico de fotoestimulación *in vitro* utilizando LED rojo en un régimen de 30 minutos.

Posteriormente, se adaptó este procedimiento a una cámara de fotoestimulación, previamente diseñada para llevar a cabo este procedimiento en condiciones *in vivo*.

Finalmente, un total de 9.877 cerdas fueron inseminadas en 9 granjas comerciales entre agosto de 2014 y diciembre de 2015.

ESTRUCTURA DEL ESTUDIO

En primer lugar, se realizó un test espermático de resistencia a la Tª analizando 7 muestras distintas. Se incubaron a 37,5°C y se analizó en distintos tiempos de incubación (0, 15, 30, 60, 90 minutos) la viabilidad, integridad del acrosoma y motilidad total.

Las pruebas *in vitro* se desarrollaron en el Departament de Medicina i Cirurgia Animals de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Los análisis de viabilidad e integridad del acrosoma, se usó citometría de flujo, y la motilidad total se analizó mediante un sistema CASA. El siguiente paso fue diseñar un prototipo de cámara de fotoestimulación para su uso en granjas comerciales. La Compañía IUL, de Barcelona, se encargó del diseño del prototipo, que recibe el nombre de maXipig®. Finalmente, se llevaron a cabo pruebas *in vitro* en granjas comerciales:

a) El estudio se inició probando la cámara maXipig®. Inicialmente se realizó una primera prueba realizada en una granja comercial entre agosto de 2014 y agosto de 2015. El resto de cámaras no se distribuyeron hasta que no se recibieron los primeros resultados de fertilidad y prolificidad.

b) A continuación, la extensión de la prueba durante el

verano y otoño de 2015 en las 8 granjas comerciales restantes.

Con este estudio, intentamos no cambiar el sistema de inseminación usado en cada granja. Así pues, la cámara fue diseñada para adaptarse a cualquier formato de dosis seminal, ya sea convencional en formato tubo o blíster o inseminación post-cervical.

El estudio se realizó en el área geográfica del noreste de España.

En todas las granjas, cada partida de inseminación incluía solo cerdas multíparas en dos grupos:

1. El lote CONTROL, formada por cerdas con IA convencional con semen almacenado a 17°C.
2. El lote LED incluye cerdas que fueron inseminadas con dosis

de semen previamente fotoestimuladas con la cámara maXipig® durante 30 minutos.

Es importante recalcar que La función de la cámara no es almacenar sino activar el esperma. La cámara ha sido diseñada para adaptarse al ritmo de trabajo de las explotaciones comerciales. De esta forma, una vez detectado el celo de las cerdas por la mañana, se introducen las dosis en la cámara maXipig durante 30 minutos, aprovechando la pausa para el desayuno. Una vez finalizada la estimulación, las dosis seminales están listas para ser aplicadas en las cerdas. Para tener el mismo protocolo de trabajo en todas las granjas comerciales que han participado en el proyecto, se recomendó aplicar las dosis acto seguido, una vez finalizada la foto activación.

Finalmente, se analizaron los resultados de fertilidad y prolificidad.

Tabla 1

VIABILIDAD	CONTROL	LED	SIGNIFICACIÓN
0 minutos	93,5±2,0%	92,1±1,6%	NS
15 minutos	92,8±2,4%	93,0±1,1%	NS
30 minutos	92,1±1,9%	93,0±2,1%	NS
60 minutos	66,8±1,0%	90,5±1,9%	*
90 minutos	60,3±1,2%	94,6±2,3%	*

Tabla 2

INTEGRIDAD DEL ACROSOMA	CONTROL	LED	SIGNIFICACIÓN
0 minutos	95,0±2,1%	95,8±2,3%	NS
15 minutos	94,1±2,0%	95,8±2,3%	NS
30 minutos	93,7±1,5%	95,0±1,9%	NS
60 minutos	85,1±1,1%	96,3±2,4%	*
90 minutos	70,7±1,1%	92,8±2,5%	*

Tabla 3

MOTILIDAD TOTAL	CONTROL	LED	SIGNIFICACIÓN
0 minutos	95,2±2,2%	95,8±2,1%	NS
15 minutos	62,1±6,4%	67,9±7,8%	NS
30 minutos	62,8±5,1%	63,0±6,1%	NS
60 minutos	45,9±6,2%	67,9±6,0%	*
90 minutos	41,8±6,7%	79,6±7,0%	*

de los lotes. En la última columna, se muestra la tasa de fertilidad y la mejora del lote LED en relación con el lote CONTROL. En total, se realizaron 9.877 inseminaciones. El resultado global muestra una mejora del +2,327% en la fertilidad de las cerdas inseminadas con dosis seminales estimuladas previamente en la cámara maXipig®.

RESULTADOS

Con la prueba de resistencia térmica del esperma, la incubación del esperma de semen de verraco en un diluyente comercial a 37°C en períodos de incubación distintos, provocó una disminución de la viabilidad espermática en el lote control (de 93,5 a 60,3 en 90 minutos) (Tabla 1). Sin embargo, en las muestras espermáticas fotoestimuladas previamente (lote LED) no se observa la disminución de la viabilidad espermática.

Esta tendencia también se observa con la integridad del acrosoma (Tabla 2). Mientras que en el lote Control, a largos periodos de incubación (a partir de los 60 min) se observa un descenso de los valores de integridad acrosómica, previa fotoestimulación (a partir de los 60 minutos), el lote LED previene este descenso. Finalmente, esta tendencia también se observa en las pruebas de motilidad total (Tabla 3).

Tabla 4

Código granja	Tipo IA	Nº cerdas	Repeticiones	Tasa fertilidad	Incremento
2	Control	285	21	92,632	
2	LED	326	14	95,706	+3,074
3	Control	117	5	95,726	
3	LED	78	2	97,436	+1,730
4	Control	797	22	97,240	
4	LED	77	1	98,701	+1,461
5	Control	1673	165	90,137	
5	LED	1081	83	92,322	+2,185
6	Control	260	29	88,846	
6	LED	116	13	88,793	+0,053
7	Control	993	107	89,225	
7	LED	332	23	93,072	+3,847
7	Control	1338	215	83,931	
7	LED	191	22	88,482	+4,551
8	Control	612	62	89,869	
8	LED	584	51	91,267	+1,398
9	Control	640	29	95,469	
9	LED	143	6	95,804	+0,335
10	Control	118	27	77,119	
10	LED	116	17	85,345	+8,226
Control		6833	682	90,019	
LED		3044	233	92,346	p<0,005

Tabla 5

Rango fertilidad	Nº cerdas control	Nº cerdas LED	% fertilidad control	% fertilidad fertilidad	Incremento lote LED
≤ 80%	128	116	77,119	85,345	+ 8,226
80-85%	1338	191	83,931	88,482	+ 4,551
80-85%	1865	1032	89,383	91,472	+ 2,089
80-85%	1958	1407	90,500	93,105	+ 2,605
≥ 95%	1554	298	96,396	96,979	+ 0,503

RESULTADOS DE FERTILIDAD

En la Tabla 4 pueden observarse los resultados en todas las granjas que han participado en el estudio, teniendo en cuenta las cerdas inseminadas de cada lote (CONTROL y LED) y el número de repeticiones para cada uno.

Tabla 6

Fecha	Nº cerdas CONTROL	Nº cerdas repetidas CONTROL	Fertilidad CONTROL	Nº cerdas LED	Nº cerdas repetidas LED	Fertilidad LED	Mejora lote LED
Verano 2014	328	53	83,841	207	23	88,889	+ 5,048
Otoño 2014	411	42	89,871	278	22	92,086	+ 2,305
Invierno 2014	372	26	93,011	213	11	94,836	+ 1,825
Primavera 2015	483	39	91,925	323	15	95,356	+ 3,431
Verano 2015	2141	187	91,266	910	73	91,978	+ 0,712
Otoño 2015	2836	341	87,976	856	66	92,290	+ 4,314

Si analizamos estos resultados en relación con el rango de fertilidad CONTROL (*Tabla 5*), agrupando y clasificando las cerdas de todas las granjas según el control de fertilidad en 5 rangos distintos (entre menor del 80% y mayor del 95%), se puede observar una correlación positiva: las granjas con una tasa de fertilidad inferior experimentan un mayor incremento de la fertilidad mediante el uso del sistema de fotoestimulación LED. A medida que incrementa la fertilidad, la mejora del valor de fertilidad con el sistema LED es menor. ($p < 0,02$) (*Gráfico 1*).

Finalmente, teniendo en cuenta la fertilidad del total de cerdas que han participado en el estudio (*Tabla 6*), en función de la estación de inseminación (de verano del 2014 al otoño del 2015), se observan diferencias significativas dependiendo de la estación. En cualquier caso, el lote LED obtiene mejores resultados que el lote CONTROL. (*Gráfico 2*).

RESULTADOS DE PROLIFICIDAD

En la *Tabla 6* pueden observarse los resultados de prolificidad (lechones nacidos Totales y lechones nacidos vivos) teniendo en cuenta todos los partos. Un total de alrededor de 6.000 camadas y cerca de 80.000 lechones se incluyen en el estudio. Si obser-

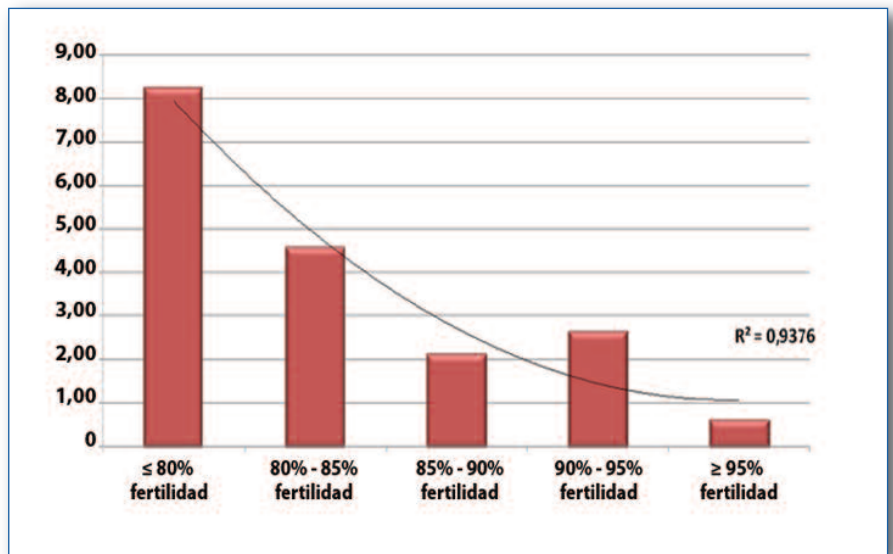


Gráfico 1. Diferencias entre los índices de fertilidad de las granjas agrupadas por rangos.

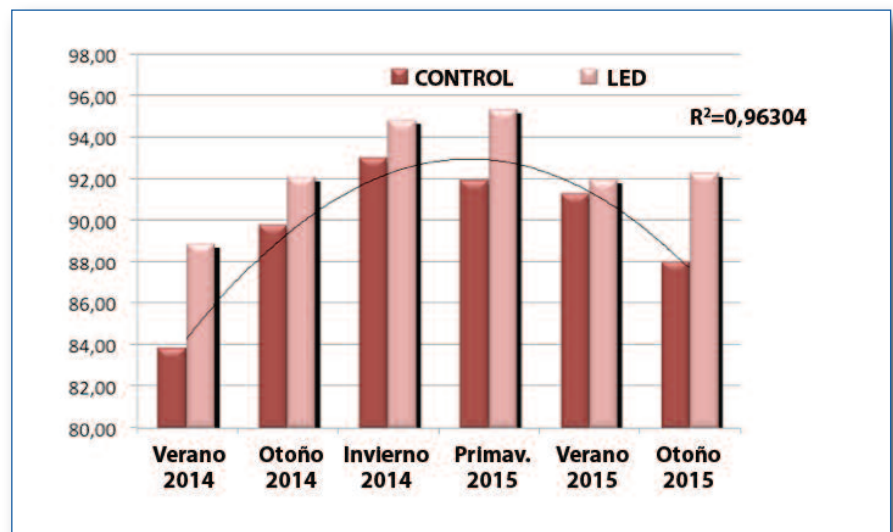


Gráfico 2. Evolución de la fertilidad de ambos grupos.

Tabla 7

Código granja	Tipo IA	Número de camadas	Nacidos total (LN)	Media total (LN)	Mejora lote LED (LN)	Nº total nacidos vivos (NV)	Media total (NV)	Mejora lote LED (NV)
2	Control	213	2.888	13,559		2.637	12,380	
2	LED	234	3.238	13,838	+0,279	2.972	12,701	+0,321
3	Control	117	1.702	14,547		1.603	13,701	
3	LED	78	1.162	14,897	+0,350	1.112	14,256	+0,556
5	Control	1.401	20.891	14,911		19.262	13,749	
5	LED	945	13.835	14,640	-0,271	12.835	13,582	-0,167
6	Control	207	2.988	14,435		2.535	12,246	
6	LED	89	1.268	14,247	-0,188	1.077	12,101	-0,145
7	Control	475	6.069	12,777		5.667	11,931	
7	LED	143	1.860	13,007	+0,230	1.758	12,294	+0,363
7	Control	574	4.081	7,110		3.936	6,857	
7	LED	127	999	7,866	+0,756	947	7,457	+0,321
8	Control	428	6.329	14,787		5.530	12,921	
8	LED	430	6.351	14,770	-0,018	5.678	13,205	+0,284
9	Control	407	5.587	13,727		5.253	12,906	
9	LED	133	1.794	13,488	-0,239	1.627	12,233	-0,673

Tipo IA	Número de camadas	Nacidos total (LN)	Media total (LN)	Mejora lote LED (LN)	Nº total nacidos vivos (NV)	Media total (NV)	Mejora lote LED (NV)
Control	3.822	50.535	13,222		46.423	12,146	
LED	2.179	30.507	14,000	+0,778	28.006	12,853	+0,706

vamos los resultados totales, se observa una mejora substancial, de 0.778 lechones Nacidos Totales y 0.706 lechones nacidos Vivos del lote LED (cerdas inseminadas con dosis fotoestimuladas), en relación al lote Control.

CONCLUSIONES

Los resultados *in vitro* indican claramente un beneficio neto al usar el sistema maXipig® (con un sistema de fotoestimulación con LED rojo). Los resultados indican que este procedimiento resulta efectivo tanto para incrementar la respuesta espermática *in vitro*, como también *in vivo*.

Los resultados *in vivo* en granjas comerciales mostraron una mejora considerable en los datos de fertilidad en todas las granjas así como también en todos los lotes de inseminación. El valor medio de aumento de fertilidad es 2,327%, pero dependiendo de la granja, puede variar entre 0% y +8,226%. Estos resultados se pueden considerar concluyentes, porque el número de cerdas inseminadas es alto (alrededor de 10.000) y los resultados tienen diferencias estadísticas significativas entre los dos grupos (CONTROL vs. LED). (p<0.005).

Además, los efectos más considerables se observaron en aque-

llas granjas en las que los datos de fertilidad eran más bajos al iniciar el estudio.

Este beneficio es evidente no solo en períodos estacionales que afectan la fertilidad (primavera y verano) sino durante todo el año. Dependiendo de la estación, el resultado es muy significativo. (p<0.003).

Finalmente, también se obtiene una mejora substancial en los resultados de prolificidad (total de lechones nacidos y total de lechones nacidos vivos).