

2012



# Sperm Notes

Edición especial sobre manejo de la temperatura en semen porcino

- |  |            |
|--|------------|
| ¿Por qué es tan importante una temperatura idéntica al coleccionar y al examinar un eyaculado? | Página 2   |
| Manejo práctico de la temperatura durante la colección y dilución del semen                    | Página 3-4 |
| Manejo de la temperatura en la producción de semen: movimientos lentos son mejores movimientos | Página 5   |
| ¿Podemos manejar el semen porcino bajo el paradigma de los +17°C?                              | Página 6-7 |
| Desafío: transporte de semen a temperatura ambiente alta y baja                                | Página 8   |

Minitube International AG  
Hauptstrasse 41  
84184 Tiefenbach – Alemania  
Telefon: +49 (0) 8709 9229 0  
Fax: +49 (0) 8709 9229 39  
E-Mail: [minitube@minitube.de](mailto:minitube@minitube.de)



# ¿Por qué es tan importante una temperatura idéntica al coleccionar y al examinar un eyaculado?

Las células espermáticas porcinas de un eyaculado recién coleccionado son altamente sensibles al enfriamiento y una dilución rápida. Especialmente durante los primeros 15 minutos después de la colecciona del semen, los espermatozoides se enfrentan a la adaptación a un nuevo entorno, el plasma seminal. Todo cambio de temperatura durante este lapso de tiempo puede ser negativo para su capacidad fecundante, aún cuando una disminución de la motilidad o integridad de la membrana pueda visualizarse sólo después de algunos días de conservación.

## ¿Qué sucede durante los primeros 15 minutos, durante los cuales se debe ser tan cuidadoso con la temperatura?

Durante la eyaculación, las células espermáticas epididimarias experimentan su primera dilución al entrar en contacto con las secreciones de las glándulas sexuales, las que en el verraco representan un gran volumen. Aparte del estrés de la dilución, las células espermáticas epididimarias deben soportar el primer cambio de temperatura, al mezclarse la fracción rica en espermios epididimarios, de una temperatura menor a la corporal, con las secreciones de las glándulas sexuales de una temperatura mayor.

Las células espermáticas del eyaculado también están expuestas a docenas de componentes del plasma seminal, que estimulan la motilidad y las preparan para la carrera hasta el ovocito. Durante este proceso los espermatozoides epididimarios, hasta entonces inmóviles, se someten a una cascada de reacciones estimulantes de la motilidad, volviéndolos altamente susceptibles a todo estrés adicional. Particularmente, las proteínas del plasma seminal inducen cambios en las membranas espermáticas, con el objetivo de establecer la funcionalidad final de las mismas.

Este proceso de reorganización de la estructura de membranas no debe alterarse y tiene que finalizar antes que las células espermáticas deban soportar situaciones adicionales de estrés, tales como la dilución y los

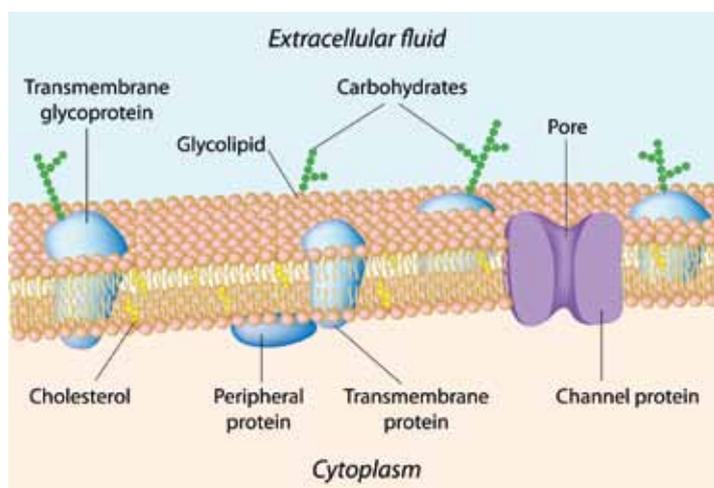


Fig. 1: Esquema de la membrana plasmática

## Recuerde:

- Colecte semen porcino con envases de colecta aislados y precalentados a +38°C
- Prepare las muestras para análisis con diluyente isotérmico
- Deje transcurrir algunos minutos después de preparar la muestra antes de medir la motilidad

cambios de temperatura. Recientes estudios indican que la membrana plasmática del espermatozoide requiere de algunos minutos para reorganizarse después de un estrés provocado por cambios de temperatura o dilución.

Además, es bien conocido que un enfriamiento rápido produce alteraciones en los más diversos aspectos organizativos de la célula espermática, como p.ej., el pH intracelular o el metabolismo energético. Estos disturbios aparecen frecuentemente en eyaculados recién coleccionados y pueden ser observados como alteraciones del equilibrio del  $Ca^{2+}$  en las células vivas.

Además, los cambios de temperatura también alteran la permeabilidad de las membranas para iones como el sodio (Na) y el potasio (K), afectando su mecanismo altamente sensible a la temperatura, la denominada bomba Na/K. Esto conduce a una salida continua de potasio, poniendo en peligro la supervivencia de la célula, debido a la falta de potasio intracelular.

Como consecuencia de los eventos arriba mencionados, durante e inmediatamente después de la eyaculación, las condiciones isotérmicas durante la colecciona y en los primeros 15 minutos después de la eyaculación son fundamentales para preservar la entera capacidad fecundante del semen. Es la razón, por la cual el semen porcino debe ser coleccionado en envases aislantes, precalentados a +38°C. Una vez que el eyaculado ha ingresado al laboratorio, la preparación de muestras para el análisis del semen debe efectuarse con un diluyente isotérmico. En este paso, la célula espermática sufre su segundo shock de dilución, el cual se hace más visible a tasas de dilución crecientes. Por ello, es aconsejable dejar transcurrir algunos minutos antes de medir la motilidad, a fin de visualizar el completo potencial de la muestra.

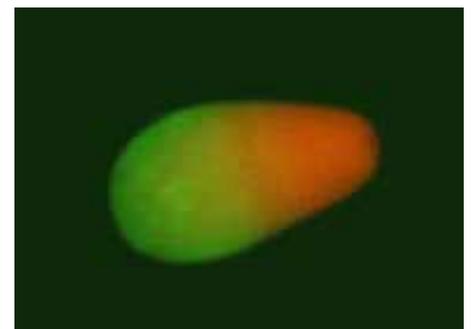


Fig. 2: Célula espermática con membrana plasmática y acrosoma defectuosos (tinción con PI-FTC-PNA)

# Manejo práctico de la temperatura durante la colección y dilución del semen

## Introducción

El éxito de la inseminación artificial (IA) depende principalmente de la calidad del semen y el procedimiento de inseminación. La calidad de la dosis de semen está basada en:

1. Uso exclusivo de verracos sanos
2. La capacidad fecundante del semen
3. Procedimientos utilizados para la producción de dosis seminales

Debido a la particular composición de lípidos de la membrana celular del espermatozoide porcino, el semen de verraco es especialmente sensible a los cambios de temperatura. La exposición a bajas temperaturas causan un incremento de la permeabilidad de la membrana, conduciendo al deterioro de la funcionalidad espermática.

*¿Cómo debiéramos trabajar en la práctica para mantener la viabilidad espermática durante la producción del semen?*

## Temperatura durante la colecta del semen

Para garantizar los resultados de la IA, la calidad inicial del semen debe cumplir o superar los estándares mínimos. Al coleccionar, procesar y almacenar el semen, es importante evitar fluctuaciones de temperatura.

Durante la colecta del semen, deben tomarse medidas para asegurar que, tanto el material de colecta, como también el eyaculado mismo, se mantengan dentro de límites seguros. Una temperatura ambiente baja o disturbios durante la colecta del semen, pueden causar el llamado shock térmico. Si analizamos una muestra de este semen bajo el microscopio, es típico observar un alto porcentaje de células espermáticas con la cola alrededor o bajo la cabeza (colas enrolladas) (Fig 1).

Durante la colección, el semen debe entrar en contacto solo con material isotérmico. La viabilidad y longevidad espermática se ven afectadas por cambios de temperatura de  $\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Por ello, es recomendable utilizar vasos aislados y precalentados a  $+38^{\circ}\text{C}$ . Teniendo en cuenta que el 50% de las células espermáticas de un eyaculado se encuentran en los primeros 20 ml de la fracción rica en espermatozoides, el precalentamiento de los envases de colección es de gran importancia, por ser el primer contacto del semen con el nuevo entorno.



Fig. 1: Células espermáticas con colas enrolladas

La duración de la eyaculación es asociada con una buena libido, pero

## Recuerde:

- El uso de diluyente en el vaso de colecta representa un riesgo para la calidad del semen
- Conozca su perfil de temperatura de trabajo e implemente la tasa de enfriamiento correcta
- Aplique la tasa de predilución 1:1 cuando la dilución inmediata no sea posible
- La dilución del eyaculado en dos pasos permite un despacho más temprano de dosis de semen en días de alto volumen de producción

no necesariamente con una buena calidad del semen. Mientras más tiempo requiera la colecta del semen, más tiempo se expondrán las células espermáticas a fluctuaciones de temperatura y contaminación bacteriana desde el medio ambiente. Los sistemas de colecta automática, como el BoarMatic (Fig. 2), minimizan el impacto de estas causas potenciales de pérdida de calidad, proporcionando un sistema cerrado de colecta de semen con una bolsa plástica que aísla el semen de su entorno.



Fig. 2: Detalle de la protección del pene y del eyaculado durante la colecta con BoarMatic

No es recomendable utilizar diluyente dentro del vaso de colecta. Esta práctica trata de mitigar la caída de temperatura del semen durante la eyaculación y de proveer un primer contacto con antibióticos para detener el crecimiento bacteriano. Sin embargo, en la práctica la temperatura del diluyente en el vaso de colección no se mantiene a  $+38^{\circ}\text{C}$ , causando el shock térmico, particularmente a los primeros chorros de la fracción rica en espermatozoides. Además, el uso de antibióticos en esta área puede conducir al desarrollo de bacterias resistentes, facilitando la aparición de cepas multiresistentes, precisamente en la misma nave de los verracos.

## Paso del eyaculado desde el área de colecta al laboratorio

Una vez que el semen se ha colectado, el eyaculado pasa al laboratorio, tomando en cuenta higiene y temperatura. Sólo la bolsa de colecta entra al laboratorio, dejando el vaso y el filtro en el área de colecta. La bolsa con el eyaculado es depositada en un contenedor isotérmico, utilizado para mantener el semen hasta su procesamiento (Fig. 3). Otra alternativa es la utilización de platinas templadas provistas con soportes, en donde se coloca la bolsa con el eyaculado para mantener la temperatura (Fig. 4).



Fig. 3: El eyaculado en el laboratorio en el interior del contenedor isotérmico



Fig. 4: Soportes para bolsas de semen sobre las platinas templadas

## Dilución del Semen

El procesamiento del semen debe seguir siempre dos principios básicos del manejo del semen: control de higiene y temperatura. Ambos factores influyen en la funcionalidad de los espermatozoides después de la eyaculación y durante la conservación del semen.

En la práctica, la primera dilución con diluyente isotérmico debe efectuarse entre 10 a 15 minutos después de la colecta, tomando en cuenta la duración de la colecta y el transporte hasta el laboratorio. En este contexto, el término „isotérmico“ se refiere al concepto de igualdad de temperatura entre semen y diluyente, y no a una temperatura específica.

Si la sala de colecta y el laboratorio estuvieran separados por una distancia que tomara un tiempo de 30 a 60 minutos, hay que prestar especial atención a la temperatura y tasa de predilución (mínima 1:1) para proteger el semen hasta su procesamiento.

El protocolo tradicional de dilución utilizado es la dilución en un paso, con diluyente calentado a +30°C hasta +32°C. La tasa de enfriamiento adecuada para semen porcino es de 1°C /10 minutos, correspondiente a un período de equilibrado de 1 a 2 horas a temperatura de laboratorio, antes de ingresar a la temperatura de almacenamiento (+17°C) para alcanzar la temperatura final.

Hay que tener en cuenta, que la exposición del semen a temperaturas fisiológicas puede afectar la integridad de la membrana y con ello la calidad del semen. Por tal razón, no es recomendable mantener el semen en baño maría a +37°C.

Actualmente, muchos centros de verracos adaptan el protocolo de producción a las necesidades de sus clientes, siendo la dilución en dos pasos el método de procesamiento ampliamente utilizado.

El procedimiento de dilución en dos pasos permite varias alternativas para cubrir los requerimientos específicos del centro de inseminación, exponiendo siempre el semen en el primer paso a un diluyente isotérmico 10 a 15 minutos después de la colecta.

1. **Transporte del semen** cuando el área de colecta está lejos del laboratorio. Cuando se necesite transportar el semen desde uno o más sitios al laboratorio, hay que diluir el semen en proporción 1:1 inmediatamente después de la colecta. Esto protegerá a las células espermáticas por un período de hasta una hora; períodos más largos de transporte requieren tasas de dilución mayores. Es recomendable controlar la temperatura del semen a su llegada al laboratorio, para ajustar la temperatura del diluyente a la dilución final, generalmente entre +25°C y +30°C, dependiendo de la estación del año.
2. **Cuellos de botella** en la línea de procesamiento. A veces, hasta que se valora el semen, el eyaculado recién colectado debe esperar por más de 15 minutos antes de ser diluido. Para prevenir daños al eyaculado, una dilución inicial de 1:1 proporciona durante una hora un buffer en la línea de proceso. Una segunda dilución dentro de una hora con diluyente isotérmico es ideal para realizar la dilución final del semen.

3. Utilizando una segunda estación de llenado en la máquina de envasado de tubos (Fig. 5). En esos laboratorios el semen es diluido con un diluyente isotérmico hasta el 50% de su volumen final. Los tubos son llenados en la primera estación de llenado hasta la primera mitad del volumen



Fig. 5: Dilución en dos pasos

final de la dosis. La segunda estación de llenado completa el 100% de la dilución con diluyente isotérmico. En algunos casos, la dilución final es efectuada a temperatura ambiente, otorgando una tasa de enfriamiento más rápida y produciendo dosis de semen entre +23°C hasta +25°C. Este procedimiento eleva la velocidad de trabajo del laboratorio, ahorrando tiempo durante la dilución del eyaculado y el llenado de tubos.

Sea cual sea el procedimiento de dilución escogido, debe cumplir con tres requerimientos básicos para una buena práctica:

1. Control de la temperatura del semen al llegar al laboratorio, para ajustar la temperatura del diluyente.
2. Adición cuidadosa del diluyente, evitando el chorro directo al semen.
3. Respetar la tasa ideal de enfriamiento durante el procesamiento del semen, para entregar un producto con la mejor calidad posible. Las dosis de semen pueden ser enfriadas a +17°C durante el transporte al plantel, o en el centro de destino, si no hubiera tiempo suficiente para este último paso en el plantel de verracos.

# Manejo de la temperatura en la producción de semen: movimientos lentos son mejores movimientos

Los centros de verracos trabajan bajo una enorme presión. Considerando que un gran número de eyaculados deben ser procesados bajo condiciones prácticas en pocas horas, el poco tiempo permitido en el laboratorio para procesar cada eyaculado, se transforma en un factor crítico en el centro de verracos. La automatización optimizada del laboratorio y los esquemas de flujo del trabajo son esenciales para alcanzar una velocidad de proceso de hasta 50 eyaculados por hora, pero el semen no acepta ser apurado a través de la cadena de procesamiento. El manejo de la temperatura de los eyaculados es uno de los obstáculos que requiere consideración.

El conflicto se sitúa entre la necesidad de dilución isotérmica del eyaculado recién colectado y el deseo de apurar la producción, para llevar las dosis de semen a temperaturas de almacenamiento a los planteles de destino. Por tal motivo, se ha desarrollado el procedimiento de dilución denominado en dos pasos, que ya inicia el descenso de temperatura durante el proceso de dilución.

El semen es prediluido a una tasa de 1:1 con diluyente isotérmico, típicamente a +30°C hasta +32°C, siendo la dilución final efectuada al menos 15 minutos más tarde con diluyente a temperatura ambiente (+21°C). El efecto deseado es un descenso mucho más rápido de temperatura en el semen diluido, que permite a las dosis de semen alcanzar con mayor rapidez la temperatura deseada de +17°C a +20°C para su entrega al ganadero. La ventaja del procedimiento en dos pasos es clara, las dosis de semen pueden ser distribuidas más temprano en el día de su producción.

En contraste, la dilución completa del eyaculado en un solo paso con diluyente isotérmico a +30°C hasta +32°C requiere de mayor tiempo para que las dosis de semen, antes de su distribución, alcancen la temperatura de transporte deseada en la cámara de enfriamiento.

Los resultados de diferentes ensayos de inseminación, bajo condiciones de campo, han confirmado la viabilidad del método de dilución en dos pasos, sin mostrar diferencias en fertilidad comparados con las dosis de semen procesadas convencionalmente, de acuerdo al procedimiento de dilución en un paso. Sin embargo, es importante tener presente que estos ensayos fueron efectuados con dosis de semen de almacenamiento corto y un número relativamente alto de espermios. Estas condiciones pudieron haber enmascarado un efecto posiblemente negativo del enfriamiento rápido.

Los resultados de ensayos obtenidos bajo condiciones experimentales estrictas muestran un cuadro diferente. Estos datos sugieren que la probabilidad de dañar células espermáticas hasta un grado relevante para su capacidad fecundante, se eleva significativamente cuando el semen recién colectado y prediluido es rápidamente enfriado mediante la adición del volumen final a temperatura de laboratorio.

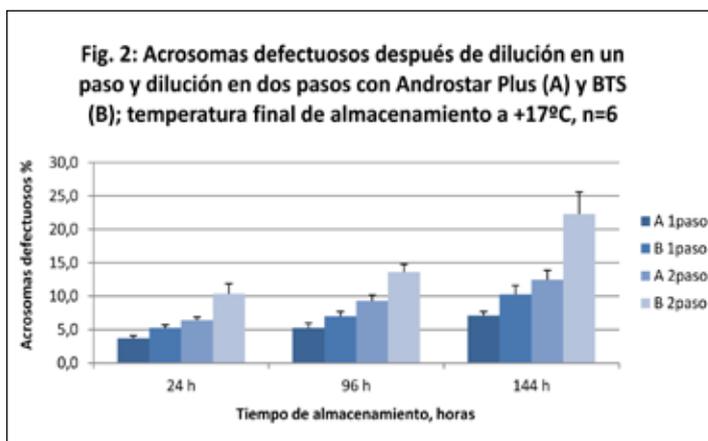
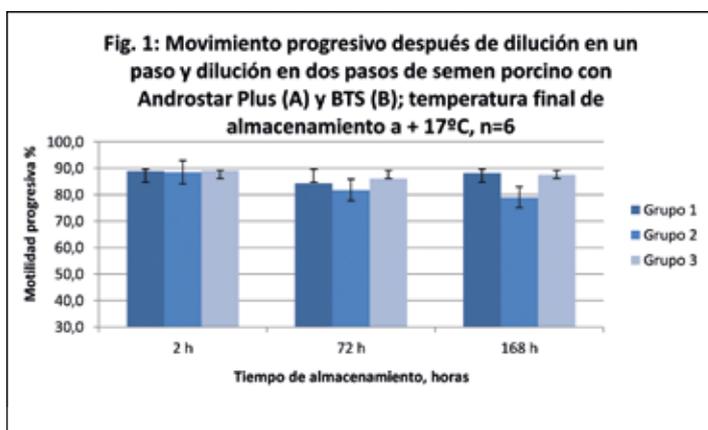
El experimento comparó el procedimiento de dilución en dos pasos, como está descrito para el método de un paso, donde la muestra prediluida (+32°C) fue finalmente diluida con diluyente isotérmico a +32°C. Las Fig. 1 y 2 muestran los datos de motilidad mediante el sistema CASA y el porcentaje de células espermáticas con defectos de acrosoma después del almacenamiento a +17°C durante 24, 72 y 144 horas. Para estudiar el posible efecto protector

## Recuerde:

- El enfriamiento rápido de semen porcino resulta bajo buenas condiciones de IA.
- Momento subóptimo de IA y/o concentraciones reducidas de espermios por dosis requieren de un manejo más cuidadoso de la temperatura.

del diluyente contra el shock térmico, se compararon muestras divididas („split sample“) diluidas con Androstar Plus y BTS.

Los resultados indican que el procedimiento de dilución en dos pasos,



utilizando diluyente a +21°C para la dilución final del semen, mostraron un efecto significativamente negativo sobre la motilidad e integridad de las membranas. Este efecto fue observado con ambos diluyentes utilizados, pero AndrostarPlus otorgó una protección significativamente mejor, comparado con BTS.

En base a los resultados presentados y datos experimentales adicionales, debe concluirse que el enfriamiento rápido durante el proceso de dilución soporta el riesgo de cambios detrimentales de los espermatozoides, los cuales pueden obstaculizar el éxito de la IA, especialmente bajo manejo subóptimo de la IA y al inseminar con bajo número de espermios.

El envío y almacenamiento de semen porcino líquido preservado es sinónimo

# ¿Podemos manejar semen porcino fuera del paradigma de los +17°C?

de esfuerzo por mantener la temperatura correcta. Existen pocas situaciones que pueden exponer el semen porcino a temperaturas bajas de +10°C o menos. Ejemplos populares son las condiciones de envío inadecuadas en tiempo de invierno, o unidades de almacenamiento que no trabajan correctamente. Por otro lado, los climas calurosos plantean el desafío de mantener al semen frío durante el transporte.

Sin embargo, hay siempre caminos para ayudar a las células espermáticas a adaptarse a entornos más extremos que el estándar recomendado de +17°C. Los elementos claves son el manejo de la temperatura adecuada y la elección del diluyente.

## Caída accidental de la temperatura de transporte

El siguiente experimento (Fig. 1 y 2) simula el escenario de la temperatura de dosis de semen enviadas durante la noche y bajando la temperatura a +10°C por un período de 12 horas antes de ser almacenadas a +17°C en la granja. El grupo experimental difirió únicamente en el manejo de la temperatura entre la dilución del semen hasta alcanzar la temperatura final de almacenamiento. El Grupo 1 (25 10 17) se sometió a un procedimiento de enfriamiento adaptado, consistente en una incubación compensatoria de 6 h a +25°C, antes de un enfriamiento experimental a +10°C de la noche a la mañana, a la vez que el Grupo 2 (10 17) fue enfriado a +10°C, con 1 h de equilibrado a temperatura ambiente, seguido de 1 h a +17°C. El Grupo 3 (17) sirvió de control con una temperatura de equilibrado estándar a +17°C durante el tiempo completo. Todas las muestras fueron diluidas como „split samples“ con Androstar Plus a  $2,5 \times 10^6$  células espermáticas/80 ml, utilizando el procedimiento de dilución de un paso con diluyente isotérmico a +32°C. Se valoraron la motilidad progresiva y el daño de acrosomas como parámetros para la calidad seminal in vitro e indicadores para la conservación de la capacidad fecundante.

El experimento 1 muestra el efecto protector significativo de una incubación compensatoria a +25°C, antes del enfriamiento nocturno a +10°C y el almacenamiento subsecuente a +17°C, en comparación con el enfriamiento inmediato a +10°C. Las muestras con un período de incubación compensatorio a +25°C no mostraron diferencias con los controles almacenados todo el tiempo a la temperatura estándar de +17°C.

Las muestras sin período de incubación compensatorio antes de su enfriamiento a +10° son ligeramente, pero no significativamente, inferiores después de 72 h de almacenamiento. Sin embargo, una disminución posterior de la calidad del semen pudo observarse después de 168 horas de almacenamiento, haciendo más evidentes los efectos deteriorantes del enfriamiento rápido.

Considerando los resultados del experimento 1, se efectuó un segundo ensayo con el objetivo de investigar el efecto del diluyente en las muestras sometidas a un período de incubación compensatorio de 6 h a +25°C.

## Recuerde:

- Androstar Plus protege el semen porcino hasta los +10°C
- El semen porcino conservado en BTS no debe exponerse a +10°C
- El período de incubación compensatorio a +25°C es beneficioso para el semen
- El semen se puede transportar a +25°C
- Androstar Plus elimina la necesidad de la habitación fría en los centros de inseminación.

Fig. 1: Motilidad progresiva de semen porcino diluido en Androstar Plus antes del enfriamiento nocturno a +10°C, n=6

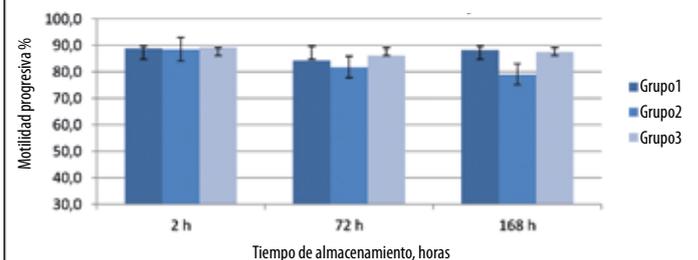
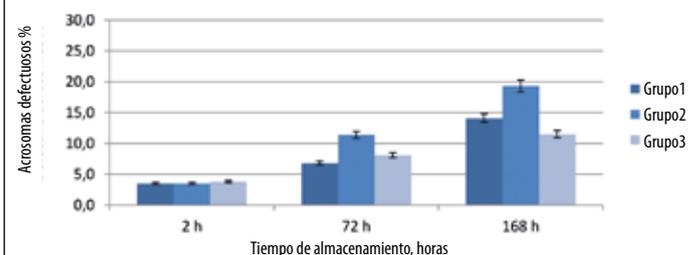
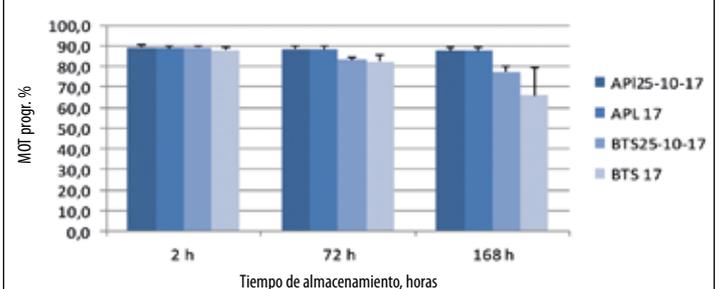


Fig. 2: Acrosomas defectuosos en semen porcino diluido en Androstar Plus antes del enfriamiento nocturno a +10°C, n=6

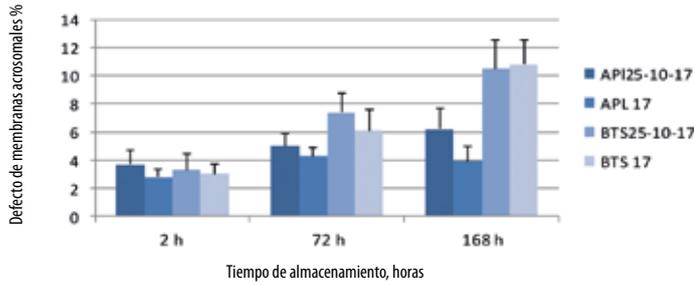


En el experimento 2 (Fig. 3 y 4) se prepararon „split samples“ con Androstar Plus y BTS, utilizando para los grupos 1 y 2 de cada diluyente el mismo procedimiento de preparación del semen que en el experimento 1 para los grupos 1 y 3.

Fig. 3: MOT progresiva % de semen porcino diluido en Androstar Plus y BTS, simulando enfriamiento de nocturno a +10°C, tras una pre-incubación a +25°C, n=6



**Fig. 4: Defecto de membranas acrosomales de semen porcino diluido en Androstar Plus y BTS, simulando un enfriamiento nocturno a +10°C después de una incubación a +25°C, n=6**

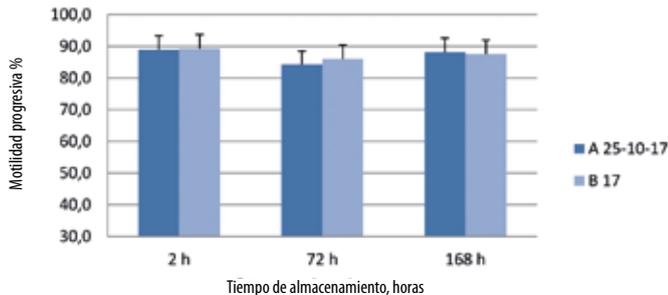


La motilidad progresiva y el porcentaje de acrosomas intactos fue significativamente mayor en las muestras de Androstar Plus, comparados con BTS. En el caso de Androstar Plus no se observó diferencias entre el grupo 1, enfriado a +10°C tras el período de incubación compensatorio a +25°C y almacenado por una noche a +10°C, con el grupo control mantenido a +17°C durante el período completo de almacenamiento.

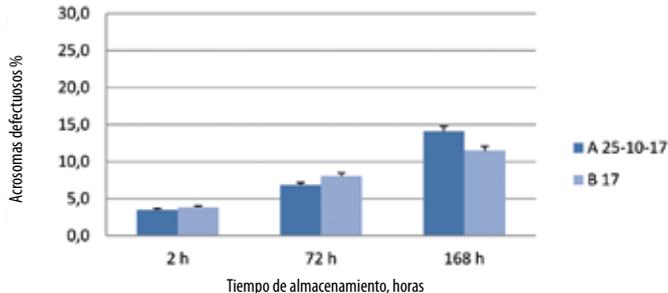
### Transporte de semen porcino en climas calurosos

Debido a los buenos resultados mostrados por el período de incubación compensatorio de 6 horas, se efectuaron experimentos adicionales destinados a investigar los efectos de una exposición mas extensa a +25°C sobre el semen de verraco, como sucede algunas veces durante el transporte. En el experimento 3, repitió el procedimiento del experimento 2, pero el semen se mantuvo durante 24 horas a +25°C.

**Fig. 5: Motilidad progresiva de semen porcino diluido en Androstar Plus y expuesto a +25°C por 24 horas, seguido de un período de 24 horas a +10°C, n=6**

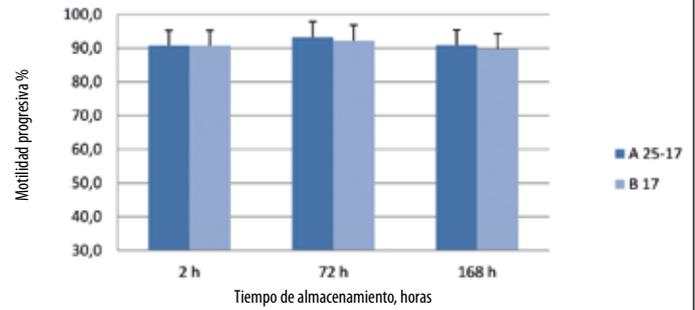


**Fig. 6: Acrosomas defectuosos de semen porcino diluido en Androstar Plus, expuesto a +25°C por 24 horas, seguido de un período de 24 horas a +10°C, n=6**

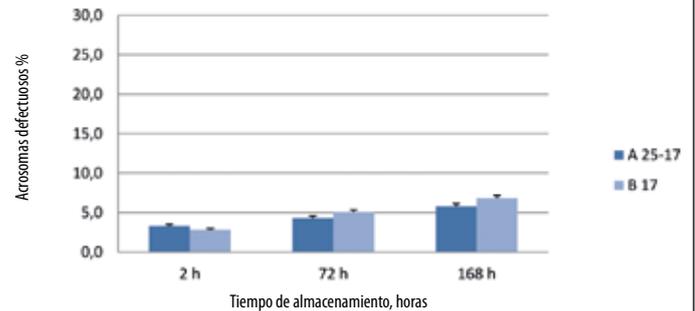


Finalmente, en el experimento 4 se conservó el semen a +25°C durante dos días antes de el descenso de temperatura a +17°C.

**Fig. 7: Motilidad progresiva de semen porcino diluido en Androstar Plus y expuesto a +25°C por 2 días antes de la temperatura final de almacenamiento de +17°C, n=6**



**Fig. 8: Acrosomas defectuosos de semen porcino diluido en Androstar Plus, expuesto a +25°C por 2 días antes de la temperatura de almacenamiento final a +17°C, n=6**



Como se muestra en las Fig. 5 a 8, Androstar Plus cumple un trabajo excelente, cuando las condiciones de transporte requieren de la exposición del semen a +25°C, incluso durante 2 días.

### Conclusiones

La conclusión final de esta serie de experimentos, es que Androstar Plus con el agente de protección al frío CSP, en combinación con un período de incubación compensatorio, puede prevenir completamente el efecto detrimento del enfriamiento del semen a +10°C, como ocurre durante el transporte en climas fríos.

El semen diluido en BTS muestra un descenso de calidad en cuánto a motilidad y daño de acrosomas, al ser expuesto a +10°C, incluso después de un período de incubación compensatorio (a +25°C).

La conservación de semen diluido con Androstar Plus a +25°C durante 48 horas, ofrece resultados similares al manejo estándar de temperatura a +17°C, aún en combinación con un enfriamiento nocturno a +10°C.

Por lo tanto, Androstar Plus abre una ventana de +10°C a +25°C para el transporte de semen porcino, al combinar el efecto protector de CSP con un período de incubación compensatorio a +25°C durante al menos 6 horas.

La práctica ampliamente utilizada, de enfriar el semen lo más rápidamente posible hasta la temperatura final de almacenamiento de +17°C, es detrimento para la calidad del semen. Androstar Plus ofrece un amplio rango de temperaturas de transporte y de almacenamiento de corto plazo eliminando, por lo tanto, la necesidad de una cámara fría en los centros de verracos y ofreciendo un producto más seguro al usuario.

# Desafío: transporte de semen a temperatura ambiente alta y baja

Temperatura ambiente alta y fuerte radiación solar de verano, como también temperaturas muy bajas en invierno, son desafíos para el mantenimiento de un rango óptimo de temperatura durante el transporte y almacenamiento de semen porcino. El semen debiera ser enfriado lenta y progresivamente después de la dilución, y almacenarse a una temperatura estable de aproximadamente +17°C hasta la inseminación.

Si la temperatura del semen porcino diluido excede +40°C, las proteínas coagulan en el espermio y las células mueren. Pero también las variaciones de temperatura dentro de un rango más bajo reducen la capacidad fecundante. El almacenamiento dentro del rango fisiológico (+30°C a +35°C) no dañan la célula espermática, pero reducen en forma significativa su vida útil.

## Temperatura ambiente alta

En verano, la temperatura en el interior de los vehículos, dejados sin protección contra el sol, puede alcanzar hasta los +90°C. Una caja de estireno expandido constituye la protección mínima requerida para el transporte de semen; mejor son las cajas de aire acondicionado o los vehículos de transporte con aire acondicionado, siempre que la temperatura esté ajustada correctamente. En condiciones ideales, el semen de verraco es transferido directamente en la caja de transporte refrigerada, desde el vehículo con aire acondicionado del distribuidor, a la unidad pre-enfriada y de temperatura controlada para el almacenamiento de semen, o la caja de aire acondicionado del usuario receptor.

Sin embargo, en la práctica lo ideal no siempre puede implementarse y el semen rápidamente se deteriora por las altas temperaturas. Donde existen estos riesgos, el centro de inseminación puede tomar medidas preventivas, utilizando diluyentes de semen porcino con factor protector de membranas. Estos diluyentes reducen la sensibilidad de las células espermáticas frente a las variaciones de temperatura, y a las temperaturas demasiado altas o bajas.

La radiación ultravioleta (UV) del sol causa la formación de radicales de oxígeno en el semen porcino diluido. Estos radicales de oxígeno alteran los lípidos de la membrana espermática, lo que da lugar a la reducción de la fertilidad, debido a que los espermios no pueden fecundar al ovocito, fallando por ello la inseminación. Además, la radiación UV daña el ADN de las células espermáticas, impide el crecimiento embrionario o causa la muerte embrionaria prematura. Por esta razón, el contacto con el sol u otra radiación UV debe evitarse. Una protección contra el contacto accidental con la luz solar son los tubos de semen porcino con protección UV, los cuales filtran la radiación UV.

## Ambientes de baja temperatura

En invierno, en países fríos, el riesgo de shock térmico es muy peligroso para las células espermáticas. Si la temperatura del semen de verraco disminuye bajo cierto límite, las células espermáticas sufren una alteración de la fluidez de las membranas (flexibilidad) y ciertos elementos del espermio son dañados irreversiblemente. Mediante el uso del factor protector de enfriamiento, presente en los diluyentes de semen porcino de primera calidad, las células espermáticas se protegen de las bajas temperaturas hasta +5°C.

El uso de embalaje aislante, p.ej., cajas de estireno expandido, es particularmente importante. Elementos térmicos adicionales ayudan a mantener el semen a una temperatura estable durante el transporte. **Nota: ¡Muchas cajas de aire acondicionado sólo proveen una función refrigerante!** Al transferir semen al usuario debe evitarse el shock térmico. La transferencia directa desde una caja de aire acondicionado a otra es lo ideal. Si el semen porcino debe ser transportado entre edificios de un centro de IA, también es recomendable utilizar cajas pre-temperadas o de aire acondicionado. Al utilizar diluyentes con factor de protección de enfriamiento, el centro puede también reducir el riesgo potencial de temperatura ambiente demasiado baja. Temperatura ambiente muy alta o muy baja es un desafío para el transporte y almacenamiento de semen porcino. Sin embargo, es relativamente fácil enfrentar este desafío, utilizando equipos apropiados, tales como cajas de aire acondicionado y diluyentes de semen de alta calidad.

## Transporte de semen porcino en tubos: ejemplo de buena práctica

### Temperatura ambiente muy alta:

#### SABOR Artificial Breeding Centre, Clare SA, Australia

El Centro Reproductor SABOR atiende a los planteles de hembras porcinas de su entorno con dos furgones de reparto con un espacio de almacenamiento equipado con aire acondicionado, en donde se mantiene un rango de temperatura de +16°C a +18°C. Se utilizan cajas de estireno expandido y de paredes gruesas. SABOR utiliza exclusivamente diluyente Androstar Plus. De este modo, es posible hacer entregas hasta dos días sin que se afecte la calidad seminal.



Foto de Graham Reu, SABOR Artificial Breeding Centre, Clare SA, Australia

### Temperatura ambiente muy baja:

#### Finnpig OY, Seinäjoki, Finland

Finnpig OY coopera con una empresa externa de logística, la cual se encarga de la producción de tubos de semen a primera hora de la tarde. El semen porcino se empaqueta, en cajas de aire acondicionado de un grosor de pared mínimo de 5 cm. Si la entrega es de pocos tubos, se adiciona una bolsa temperada. Esta bolsa temperada es producida por la misma empresa Finnpig, con objeto de proteger el semen porcino del descenso de temperatura durante el transporte. La empresa logística entrega el semen porcino durante la noche a los centros distribuidores de todo el país en un furgón equipado con aire acondicionado. Finnpig también trabaja con diluyente Androstar Plus, con el objetivo de proteger de forma eficaz el semen porcino de las bajas temperaturas.