

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN ANIMAL



**Factores que Afectan el Comportamiento Reproductivo de
Cerdas Híbridas Inseminadas Cervical o Post-cervicalmente**

Por:

RODOLFO TIBURCIO PANTALEÓN

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

Saltillo, Coahuila, México

Febrero de 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

DIVISIÓN CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN ANIMAL

**FACTORES QUE AFECTAN EL COMPORTAMIENTO
REPRODUCTIVO DE CERDAS HÍBRIDAS INSEMINADAS
CERVICAL O POST-CERVICALMENTE**

Por:

RODOLFO TIBURCIO PANTALEÓN

TESIS

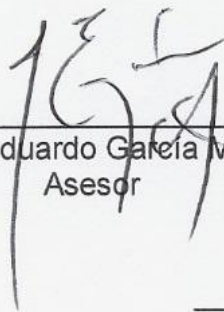
Que Somete a Consideración del H. Jurado Examinador como Requisito
Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

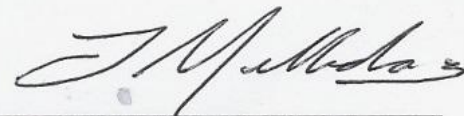
APROBADA



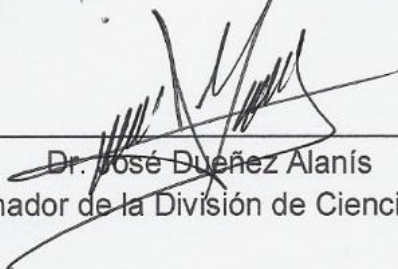
Dr. Miguel Ángel Mellado Bosque
Presidente del H. Jurado



Dr. J. Eduardo García Martínez
Asesor



Dr. Jesús A. Mellado Bosque
Asesor



Dr. José Dueñez Alanís
Coordinador de la División de Ciencia Animal



Buenvista, Saltillo, Coahuila, México

Febrero de 2015

DEDICATORIAS

A mis padres:

Sr. Santa cruz Tiburcio Pastor y la Sra. Margarita Pantaleón Bautista por traerme a la vida y darme la oportunidad de crecer y desarrollarme dentro de la sociedad, así mismo por otorgarme siempre su apoyo incondicional ayer en cada emprendimiento que realizo, los amo.

A mis queridos hermanos:

Eugenia, Francisca, Gregorio, Filiberto, Lucina, Basilisa, Saturnino y Jazmín por estar siempre conmigo y darme su apoyo, los quiero mucho.

AGRADECIMIENTOS

A Dios: *Por darme siempre fuerza, salud e inteligencia para poder llevar adelante un desafío tan importante como la de una carrera.*

A mi bondadosa Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. *Por darme la oportunidad de llevar a cabo un sueño como mi carrera y brindarme suficiente apoyo para concluirlo.*

Al Dr. Miguel Mellado del Bosque. *Por confiar en mí y así ofrecerme la oportunidad de trabajar en esta tesis dándome siempre su apoyo y buena disposición en los momentos de consultar cualquier duda.*

Al Dr. Eduardo García Martínez *por su respaldo de asesoría con los temas que de su conocimiento requerían.*

Al Dr. Jesús Mellado del Bosque *por formar parte de este trabajo de tesis y apoyarme con su conocimiento.*

Al M.C. Ernesto Torres García *por su preocupación por mí, y conseguir contacto para realizar mi práctica profesional.*

Al Grupo Nu-3 *por concederme la oportunidad de realizar mi práctica profesional en su granja El Topete y realizar este trabajo.*

ÍNDICE DE CONTENIDO

CONTENIDO

PAGINA

DEDICATORIAS	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
INTRODUCCIÓN	1
RESUMEN	2
Objetivos	3
Hipótesis	3
REVISION DE LITERATURA	4
MATERIALES Y METODOS	17
Descripción del sitio de estudio	17
Manejo de los animales	17
Análisis estadísticos	19
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
CONCLUSIÓN	23
LITERATURA CITADA	24

INTRODUCCIÓN

En la región del Bajío de México, lo que corresponde específicamente la región de La Piedad, Michoacán y Santa Ana Pacueco, Guanajuato, cuentan con antecedentes de que en cierta época prevalecieron los sistemas de producción porcina tradicionales de pequeña escala. En la actualidad la mayor parte de la producción de cerdos en esta zona proviene de granjas medianas y grandes de cría intensiva, para satisfacer la demanda de la carne de cerdo, tanto a nivel regional como nacional. Entre 1990 y 2005, la producción porcina en México incrementó en 50% y para el año 2009 se criaban y sacrificaban más de 15 millones de cerdos anualmente para el consumo humano (Batres-Marquez et al., 2007). Estas explotaciones han venido mejorando continuamente con sofisticadas tecnología de punta, buscando las mejores técnicas de manejo de reproducción avanzada, adoptando así la inseminación artificial con los métodos cervical y post-cervical, esta última permite la deposición del semen en un sitio más cercano al lugar de la fertilización, optimizando el alto potencial genético de la granja, con fines de incrementar y hacer más eficiente la producción porcícola.

En muchas de las granjas porcinas intensivas de México se utiliza la inseminación artificial con semen refrigerado. En estas granjas no existe un consenso sobre el número de inseminaciones que deben aplicarse a las cerdas, de tal forma que pueden utilizarse 2 o 3, sin que existan bases científicas sólidas para apoyar el beneficio de 3 inseminaciones.

Este estudio se llevó a cabo con el objetivo de conocer el efecto del método de inseminación artificial así como el número de inseminaciones sobre el comportamiento reproductivo de cerdas híbridas comerciales en diferentes categorías (primíparas o multíparas), después de la detección de celo dos veces por día, en explotación de cría intensiva comercial de una zona subtropical.

RESUMEN

Este estudio se realizó con el objetivo de evaluar el efecto que tiene el número de inseminación/ estro (una, dos y tres), tipo de inseminación (cervical o intrauterina), categoría de animales (primíparas o multíparas) sobre el desempeño reproductivo de cerdas híbridas en un sistema de cría intensiva comercial. Se registró el porcentaje de preñez, número de lechones nacidos vivos, muertos y momias/ camadas de las cerdas de paridades de 1 hasta más de 8, inseminadas a las 24 horas después de la detección del celo cuando se usó una sola dosis y cuando se usaron dos dosis de semen, las inseminaciones se realizaban en la mañana o por la tarde 24 y 48 h después de detectado el estro. Con tres inseminaciones, éstas eran efectuadas a las 12, 24 y 36 horas después de la detección del celo. La detección de estros se realizaba dos veces al día por medio de un semental. Se inseminó con 3×10^9 espermatozoides/100 ml de volumen de semen refrigerado en el periodo de julio de 2013 a junio de 2014. Los resultados muestran que el porcentaje de preñez fue más alto ($P < 0.05$) en las cerdas inseminadas 2 veces en comparación con las cerdas inseminadas una o tres veces. Con dos inseminaciones la última inseminación estuvo más cerca al momento de la ovulación y esto parece explicar el mejor resultado con dos inseminaciones. El número de inseminaciones no tuvo ningún efecto en el número de lechones vivos ($P < 0.10$). El método de inseminación no influyó sobre la tasa de preñez de las cerdas. La inseminación convencional sería la más indicada si se utiliza la misma cantidad de espermatozoides en comparación con la técnica post-cervical, que implica mayores costos, pero si esta es utilizada con un menor número de espermatozoides, entonces la técnica post-cervical sería la indicada. La conclusión de este estudio es que, cuando se utilizan 3×10^9 espermatozoides por inseminación, la deposición del semen post-cervical no mejora el comportamiento reproductivo de las cerdas, por lo que, si no se

reduce la concentración de espermatozoides por dosis, se aconseja utilizar el método de inseminación artificial tradicional en cerdas.

Correo electrónico: rtiburciop.uaaan@hotmail.com

Palabras Clave. Comportamiento reproductivo, Cerdas híbridas, cervical, post-cervical.

Objetivos

Determinar el efecto del tipo de inseminación (cervical o intrauterina), número de inseminaciones, categoría de animales (primíparas o multíparas) sobre el desempeño reproductivo de cerdas híbridas en un sistema intensivo y en una zona subtropical.

Hipótesis

- El comportamiento reproductivo de las cerdas inseminadas 3 veces/estro es mejor que el comportamiento reproductivo las cerdas inseminadas 1 y 2 veces/estro.
- El comportamiento reproductivo de las cerdas inseminadas post-cervicalmente es mejor que el comportamiento reproductivo de las cerdas inseminadas cervicalmente con 3×10^9 espermatozoides/dosis de 100 ml.
- El comportamiento reproductivo de las cerdas multíparas es mejor que el comportamiento reproductivo de las cerdas primíparas.

REVISIÓN DE LITERATURA

En un estudio de Roberts y Bilkei (2005) se evaluaron los efectos de la inseminación artificial post-cervical (intrauterina) en el clima continental del este de Europa, con cerdas multíparas en dos grupos con diferentes técnicas de inseminación artificial (cervical y post-cervical). Se utilizaron también dos concentraciones de espermatozoides por dosis (3×10^9 y 1×10^9). El intervalo entre destete-estro, duración del estro, la tasa de preñez a los 24 días, las tasas de parición y lechones nacidos totales fueron evaluados. Los intervalos destete - estro (cervical $114.3 \pm 4,1$ h; post-cervical 115.2 ± 5.2 h), la duración del estro (cervical 64.1 ± 4.1 h; post-cervical 65.0 ± 5.2 h) no difirieron entre tratamientos. La tasa de preñez a los 24 días (cervical 90.2 ± 1.7 %; post-cervical 89.3 ± 1.8 %) y las tasas de parición (cervical 88.1 ± 2.3 %; post-cervical $87.8 \pm 2,9$ %) no difirieron entre la inseminación artificial cervical y post-cervical, pero en número total de lechones nacidos fue mayor con la inseminación cervical (12.3 ± 1.1) comparado con la inseminación post-cervical (10.2 ± 0.9).

En un estudio de Watson y Bejan (2002) se demostró que en la inseminación artificial en cerdas se requieren de 2 a 3 mil millones de espermatozoides para alcanzar consistentemente una alta fertilidad. Con la práctica actual de la inseminación post-cervical, donde se evaluaron diferente concentración de espermatozoides (3, 2 y 1 mil millones de espermatozoides) en 80 ml con métodos que incluyeron inseminación artificial post-cervical e intrauterina profunda, se utilizaron cerdas de dos genotipos diferentes y de paridades que iban de 2 a 11, las cuales fueron seleccionadas únicamente sobre la base de intervalo destete - estro (4-6 días) con dos inseminaciones con un intervalo de 24 horas en cada cerda. La tasa preñez se determinó a los 35 días por ecografía, y los partos y tamaño de la camada fueron registrados. Los datos de preñez y de partos

fueron muy similares, las tasas de parición fueron 91.1, 91.8 y 65.8 % para la inseminación post-cervical con 3, 2 y 1 mil millones de espermatozoides, respectivamente, mientras que la inseminación intrauterina profunda dieron tasas de 90.5, 90.5 y 86.9 %. Sólo la dosis de 1 mil millones con inseminación post-cervical fue significativamente diferente del control de dosis alta. Del mismo modo, los tamaños medios de camada con inseminación post-cervical fueron 12.5, 12.6 y 10.3 y con la inseminación intrauterina profunda 12.3, 12.3 y 12.1. Sólo la dosis de 1 mil millones con inseminación post-cervical y fue significativamente menor. Ninguna de las covariables difirió significativamente y no hubo interacciones significativas con el tratamiento; se concluyó que la inseminación post-cervical en cerdas es simple, eficaz y segura, y permite que la dosis de semen se reduzca a 1 billón de espermatozoides.

En el trabajo de Wongtawan et al. (2006) se evaluó la fertilidad lograda después de la inseminación artificial intrauterina simple o doble por celo, con atención especial al intervalo entre la inseminación y la ovulación espontánea. El semen de dos verracos de fertilidad probada fue congelado en pajillas (MS) o MiniFlatPack (MFP) con una concentración de espermatozoides totales de 1×10^9 . Se utilizaron 42 cerdas mestizas de 2 a 5 partos que se le detectó el celo después del destete y la ovulación espontánea fue comprobada con la ecografía transrectal (TUS) para establecer el intervalo medio entre el inicio del estro (OO) y la ovulación, lo que se encontró que era cuando aproximadamente 2/3 del período de celo había pasado. Las cerdas que fueron al siguiente inicio de celo fueron sometidas a IA intrauterina, usando semen descongelado ya sea de MS (n = 20) o MFP (n = 22). Las cerdas fueron asignadas aleatoriamente a uno de tres grupos: (1) una sola inseminación intrauterina 8 h antes de la ovulación esperada (grupo de control, n = 19); (2) una sola inseminación intrauterina 4 h antes de la ovulación esperada (grupo de tratamiento S, n = 15); y (3) doble inseminación intrauterina 12 y 4 h antes de la ovulación esperada (grupo de tratamiento D, n = 8). La aparición de la ovulación espontánea fue confirmada por TUS, utilizado durante el primer período de celo para

determinar el intervalo real de inseminación intrauterina y la ovulación. La preñez también fue confirmada por TUS 28 días después del inicio de celo; estas cerdas fueron sacrificadas a los 30-45 días de gestación, y lo que se encontraba en el aparato reproductor, como los ovarios, el número de fetos vivos y muertos, de los lugares de implantación y del cuerpo lúteo (CL) fue registrado. Las cerdas (n= 9) que repitieron celo (abiertas) fueron re-inseminadas (ya sea una vez [n = 4] o dos veces [n = 5]) en el siguiente estro, ya sea con MFP (n = 5) o MS (n = 4) y sacrificados 12-14 horas después de la ovulación para la recuperación de los ovocitos de las trompas y de los espermatozoides de las uniones uterotubárica (reservorio de espermatozoides), para evaluar el grado de eficacia del transporte de los espermatozoides. Después de la descongelación del semen, la motilidad espermática fue 44.3 ± 3.21 % en el MFP y 42.8 ± 0.72 % para la EM (LSmean \pm SEM), y no cambió significativamente de la descongelación a la inseminación. La IA post-cervical se pudo realizar en todas las cerdas, pero era difícil la inserción (> 5 min) en 5/42 cerdas; cuatro de estas cerdas repitieron celo. La tasa de preñez promedió 35% (grupo D: 25%, grupo S: 40%, control: 36%). El intervalo entre IA post-cervical y la ovulación espontánea varió marcadamente, desde -13 hasta -3 h para el grupo C, para el grupo S -11-3 h y para el grupo D -17-4 h. Las tasas de preñez se asoció con el intervalo de inseminación y la ovulación, siendo la más alta (60%, 12/20) cuando la inseminación se realizó entre 8 y 4 h antes de la ovulación espontánea (no esperado). El número de sitios de implantación osciló de 6 a 22 entre los grupos, y el número de fetos vivos de 2 a 11 entre los grupos. La tasa de implantación (número total de implantes/CL) varió de 48.0 a 69.7%, siendo la más alta en el grupo D. El examen de las cerdas sacrificadas (abiertas) de 12 a 14 horas después de la ovulación reveló pocos ovocitos recuperados que fueron fertilizados (aproximadamente 10 %). Sólo el 40 % de los ovocitos tenían espermatozoides unidos a la zona pelúcida, no más de dos espermatozoides por ovocito. Por otra parte, los números bajos de espermatozoides (aproximadamente 4,000) se encontraron en los depósitos de espermatozoides (UTJs), con

independencia del uso individual o doble inseminación artificial intrauterina. Se registraron los valores más altos para estas variables cuando la inseminación artificial intrauterina (simple o doble [segunda AI]) se realizó 4-8 h antes de la ovulación, especialmente cuando se utilizó semen MFP. Estos autores concluyeron que: (1) la IA intrauterina se puede realizar fácilmente en la mayoría de las cerdas; (2) la preñez se puede obtener por la IA intrauterina de bajos volúmenes de semen porcino congelado-descongelado muy concentrados, una o dos veces durante el celo, pero la fecundidad sigue siendo baja, probablemente debido a un transporte de espermatozoides insatisfactoria, y (3) la fertilidad está relacionado con el intervalo de inseminación y la ovulación que debe ser de 8 a 4 h antes de la ovulación espontánea. Los resultados subrayan la necesidad de una cuidadosa y frecuente control de signos de celo de las cerdas.

En el trabajo de Casas et al. (2010) se comparó los resultados de campo referentes a la fertilidad, con el uso de espermatozoides congelados-descongelados (FT) con eyaculados de diferente capacidad de congelación (bueno, GFE / pobres, PFE) usando pruebas de fiabilidad de la inseminación artificial post- cervical (IA post-cervical) en esperma FT. El ensayo se llevó a cabo por más de ocho meses con 86 cerdas destetadas e inseminadas por el método post-cervical. Un total de 26 eyaculado de 15 verracos Pietrain se dividieron en semen refrigerado (FS; tratamiento de control) y otra parte criopreservados (espermatozoides FT), y los eyaculados fueron a su vez clasificadas como GFE o PFE en función de los espermatozoides de movilidad progresiva y viabilidad a 240 min después de la descongelación. Como resultado, uno de cuatro tratamientos posibles se le dio al azar a cada cerda: FS- GFE, FS- PFE, FT- GFE y FT- PFE. El número de cerdas gestantes y que parieron con FT- GFE no difirió significativamente de los tratamientos de control FS. Por el contrario, las probabilidades de preñez fueron dos veces más baja después de las inseminaciones con FT- PFE en comparación con el FT- GFE, lo que indica que los eyaculados con espermatozoides de alta motilidad progresiva y viabilidad después de la descongelación tienen más probabilidades de resultar en preñez que

aquellas con malas características de los espermatozoides in vitro. No hubo diferencias en el tamaño de camada o el riesgo de flujo de retorno entre los tratamientos. Estos investigadores mencionan que se necesitan ensayos adicionales para determinar el volumen óptimo y la concentración de espermatozoides en FT con IA post-cervical para obtener un método más fiable para los productores interesados en la inseminación de sus cerdas con espermatozoides criopreservados.

Yamaguchi et al. (2009) en su trabajo con la adición de cafeína y CaCl_2 al diluyente de semen para la inseminación artificial (IA) con semen congelado-descongelado demostraron que estos aditivos reducen el reclutamiento de leucocitos polimorfonucleares (PMN) en el útero, además de la actividad de la fagocitosis. Se demostró que la adición de cafeína y CaCl_2 mejora la fertilidad del semen porcino congelado-descongelado con los siguientes ensayos. En el experimento 1, las cerdas primerizas fueron inseminadas cervicalmente dos veces con espermatozoides porcinos congelado-descongelado (25×10^8 células por dosis) suspendidos en solución Módena (n= 7) o la solución de descongelación Beltsville modificado complementado con cafeína y CaCl_2 (BCC, n= 7). Las cerdas jóvenes se sacrificaron 4 horas después, y sus oviductos y cuernos uterinos más el cuerpo del útero eran recuperados para determinar los leucocitos PMN y espermatozoides no fagocitados. Como resultados no hubo diferencia en el número total de PMNs uterinos entre cerdas inseminadas con solución de Modena y las inseminadas con BCC (3.8×10^8 vs. 1.5×10^8 células, respectivamente). Sin embargo, el número total de espermatozoides en el útero fue mayor cuando las cerdas primerizas fueron inseminadas con BCC (40.6×10^6 células) en comparación con las inseminadas con solución Módena (1.4×10^6 células). En el experimento 2, las cerdas jóvenes y adultas fueron sometidas a inseminación intrauterina dos veces con espermatozoides congelados-descongelados suspendido (25×10^8 espermatozoides por dosis) en una solución Módena (n = 21) o BCC (n = 21). Los resultados de la tasa general de preñez y de parto fueron mayores en las cerdas inseminadas con BCC (71.4 y 61.9%, respectivamente), en

comparación con las inseminadas con solución de Módena (38.1 y 28.6 %, respectivamente). Sin embargo, no se observó ninguna diferencia significativa en el tamaño de camada de lechones entre tratamientos (7.2 ± 1.6 lechones para solución Modena y 8.2 ± 0.9 lechones para solución BCC). Estos autores concluyeron que con su estudio se demostró que el uso de la solución de BCC para semen porcino congelados-descongelados produjo mejores tasa de preñez y de parto que la inseminación con solución de Módena, lo cual probablemente fue por la reducción de la fagocitosis de los espermatozoides en el canal reproductivo.

Vigo et al. (2009) mostraron en su trabajo que las cápsulas de liberación controlada que contiene los espermatozoides de verracos extendieron el tiempo de conservación de los espermatozoides y maximizaron la eficiencia de una sola inseminación artificial. Un gran ensayo (4,245 cerdas) se realizó con estas cápsulas utilizando triple o doble inseminación artificial convencional como control. El efecto del tratamiento sobre el diagnóstico de gestación, el parto y los lechones nacidos fue investigado, teniendo en cuenta la cantidad de espermatozoides, y el intervalo destete-estro como fuentes de variación. Las mismas tasa de preñez y prolificidad fueron obtenidos por dos técnicas de inseminación, y una frecuencia más alta del parto se alcanzó con las cápsulas. Por consiguiente, el rendimiento reproductivo en cerdos ha sido optimizado por una sola inseminación artificial con las cápsulas de liberación controlada.

En un estudio de Mezalira et al. (2005) se evaluaron los efectos de la dosis de semen y concentración de células espermáticas sobre la tasa de preñez y el número de embriones de cerdas inseminadas una vez en 0-24 h antes de la ovulación, utilizando una técnica de inseminación artificial intrauterina o post-cervical. Se analizaron los resultados de un total de 211 cerdas asignadas a tres grupos inseminadas con dosis de 0.25×10^9 (T1), 0.5×10^9 (T2) y 1.0×10^9 (T3) espermatozoides. El reflujo de semen se observó en el 95% de las hembras (143/151) que se evaluaron para este propósito. El porcentaje de reflujo del semen fue cerca de los dos tercios del volumen y el porcentaje de espermatozoides es de alrededor de 15 % de la

dosis del espermatozoide depositado en el útero. La inseminación intrauterina puede ser realizada con éxito a condición de que al menos 0.5 billones (0.5×10^9) de espermatozoide se depositen en el útero en un intervalo de 0 a 24 h antes de la ovulación.

En un estudio de Martínez et al. (2006) se evaluó mediante dos experimentos el comportamiento reproductivo de aplicar 20 veces diferentes número de espermatozoides por dosis de inseminación utilizando inseminación intrauterina profunda (DUI) o inseminación artificial estándar (AI) en cerdas espontáneamente ovulando. En el experimento 1, la inseminación se aplicó a las cerdas mestizas a los 12, 24 y 36 h después del inicio del estro espontáneo utilizando uno de los dos regímenes siguientes: (i) DUI (tratamiento) con $0,15 \times 10^9$ espermatozoides fresco de cerdo en 5 ml de Beltsville descongelado con solución (BTS) extensor ($n = 95$), y (ii) AI cervical (control) con $2,85 \times 10^9$ espermatozoides frescos en 95 ml de BTS extensor ($n= 95$). Las tasas de parición de los dos grupos de cerdas fueron estadísticamente similar. Sin embargo, se observó una disminución en el tamaño de la camada y el número total de lechones nacidos vivos en cerdas inseminadas con el procedimiento de DUI. En el experimento 2, 42 cerdas que se le detectaron signos de celo después del destete fueron inseminadas siguiendo el mismo diseño descrito para el experimento 1 durante el celo espontáneo. En el día 6 después de la aparición del celo, el segmento proximal de los cuernos uterinos de las cerdas se sonrojó bajo cirugía para recuperar los embriones eventuales y evaluar el éxito de la fertilización por cuernos. Los embriones recuperados se evaluaron para la escisión y el número de espermatozoides accesorios. Aunque las tasas de preñez en general fueron idénticos en los dos grupos de inseminación, el porcentaje de cerdas con la fertilización bilateral parcial y la fertilización unilateral fue notablemente mayor ($p < 0,05$) en el grupo de DUI (35 %) en comparación con el grupo control (IA estándar) (5%), con un menor porcentaje consecuente de embriones tempranamente viables después de DUI. El número de espermatozoides accesorios en la zona pelúcida de los embriones fue muy variable, pero mayor en los animales del grupo control

que en DUI. No hay espermatozoides accesorios que fueron encontrados en ovocitos recuperados de cerdas que representan la fertilización unilateral. En conclusión, la DUI en ovulación espontáneamente de las cerdas con $0,15 \times 10^9$ espermatozoides hace que los índices de parto sean similares pero un tamaño inferior en comparación con el uso de la norma de inseminación artificial con una dosis 20 veces mayor de esperma. El tamaño menor de dosis debe estar relacionado con una disminución de la distribución de los espermatozoides después de la inseminación intrauterina profunda que conduce a una mayor incidencia de la fertilización bilateral y unilateral parcial.

En el trabajo de Saravia et al, (2005) se evaluaron la concentración (2×10^9 espermatozoides/ml) de semen porcino congelado envasado en pajillas de plástico de 0,5 ml de volumen o una FlatPack múltiple (MFP) (cuatro segmentos de volumen de 0.7 ml de una sola FlatPack [SFP]) que se pretende ser dosis para la inseminación intrauterina. Se utilizó un único protocolo de congelación, con un FlatPack convencional (SFP 0.5×10^9 espermatozoides/ 5 ml de volumen) como control. La viabilidad de los espermatozoides después de la descongelación se controló como la motilidad de los mismos, como integridad de la membrana plasmática (PMI). La motilidad de espermatozoides no difirió estadísticamente entre paquetes de prueba y control, ni en términos de movilidad general de espermatozoides (alcance medio: 37-46%), ni la velocidad de los espermatozoides. Los porcentajes de espermatozoides móviles linealmente fueron significativamente más alto en los controles (SFP) que en los paquetes de prueba. Los espermatozoides congelados en la SFP (control) y MFP representa el más alto PMI (54 y 49%, respectivamente) en comparación con MS (38%) cuando se evaluó con citometría de flujo. En números absolutos de espermatozoides más viables después de la descongelación estaban presentes en la dosis MFP que en el MS ($P < 0,05$). La variación entre verracos estaba presente, aunque sólo sea significativa para MS (motilidad de los espermatozoides) y SFP (PMI). En conclusión, los

resultados indicaron que los espermatozoides de cerdo se pueden congelar con éxito cuando se concentra en un pequeño volumen.

Alm et al. (2006) evaluaron la fertilidad en cerdas fecundadas con técnicas de inseminación artificial. Se utilizaron 50 verracos para un total de 10,773 inseminaciones, con semen homospérmico a una dosis de 2 mil millones de espermatozoides. Además, se utilizaron 96 verracos cuyo semen fue utilizado a una dosis de 3 mil millones de espermatozoides por 34,789 homospérmicas de primera inseminaciones. La fertilidad se determinó a 60 días (TR %) de la primera inseminación. El tamaño de la camada fue registrado, considerando el número total de lechones nacidos por separado en partos de cerdas primíparas y multíparas. En promedio, cada una las cerdas fueron inseminadas 1.5 veces. Se observó una disminución significativa en los tres parámetros de fertilidad (TR %, tamaño de la camada de los dos partos primíparas y multíparas) con una dosis de 2 mil millones de espermatozoides en comparación con una dosis de 3 mil millones de espermatozoides. El TR % fue 75.8 % y 84,0 %, el tamaño de la camada en cerdas primíparas fue de 10.1 y 10.7 y el tamaño de la camada media de partos en cerdas multíparas fue de 1.7 y de 12.1 para 2 y 3 millones de espermatozoides/dosis, respectivamente. La proporción de espermatozoides normales en el análisis de la morfología espermática se correlacionó significativamente con %TR en ambos regímenes de inseminación: $r = 0.60$ y $r = 0.22$ para 2 y 3 mil millones de espermatozoides/dosis, respectivamente. Estos resultados confirman que la cantidad de células espermáticas puede compensar, al menos en parte, por la pobre calidad del semen. Cuando los verracos con < 70 % de espermatozoides normales en la evaluación de la morfología fueron excluidos de los datos, no hubo una correlación importante entre la morfología de los espermatozoides y %TR. Sin embargo, la diferencia entre el %TR y el tamaño de la camada se mantuvo estadísticamente significativa a favor de la dosis de inseminación más elevada. Estos investigadores concluyeron que una disminución de la dosis de semen de 3 a 2 billón de espermatozoides en granjas comerciales disminuye severamente la

prolificidad, al menos en condiciones de campo, donde una cerda es inseminada en promedio 1.5 veces / celo, y el semen se utilizó normalmente dentro de 3 días después su colección.

En un estudio de Mozo-Martín et al. (2012) se evaluó un nuevo sistema de inseminación en cerdas denominado doble inseminación deposición uterina (DUDI), que combina aspectos de ambos IIU y IIUD. Este método utiliza un catéter más corto y más flexible, más delgado que los utilizados para DIUI y dio como resultado la deposición de semen post-cervical, aproximadamente a medio camino a lo largo del cuerno uterino, por tanto, potencialmente sin pasar por la amenaza de la inseminación o preñez unilateral cuando se utiliza el semen de baja concentración. El experimento se llevó a cabo durante 8 semanas en un grupo de 166 cerdas, las cuales se dividieron en siete grupos, inseminadas con semen de concentración variable, usando el sistema convencional (grupo control). No hubo diferencias significativas en la fertilidad al día 35 después de la inseminación entre las cerdas del grupo control y los diferentes subgrupos de DUDI. Sólo cerdas inseminadas con 500 millones de espermatozoides viables en un total de 30 ml de líquido utilizando el sistema DUDI demostraron disminución del tamaño total de camadas en comparación con la inseminación convencional. Mientras que la inseminación convencional normalmente utiliza desde 2.5 hasta 3.5 mil millones de espermatozoides, los hallazgos de este estudio sugieren que DUDI se puede utilizar en condiciones de campo con concentraciones de espermatozoides tan bajas como 750 millones de espermatozoides en 50 a 30 ml de diluyente, sin ningún efecto perjudicial sobre la fertilidad o prolificidad. La DUDI puede proporcionar una alternativa viable a la robusta IIU y DIUI, y tiene el potencial para incorporarse en los sistemas de inseminación en las granjas comerciales.

En un trabajo de Panzardi et al. (2010) se comparó el rendimiento reproductivo de cerdas sometidas a inseminación intrauterina e inseminación intracervical utilizando muestras heterospérmicas de semen en condiciones de campo, y la rutina a través de la prueba de paternidad. Cada método de inseminación se llevó a cabo en dos grupos de 150 cerdas. La concentración

de espermatozoides fue de 3.0×10^9 / 85 ml para la IA cervical y 1.5×10^9 / 60 ml para la IA post- cervical. Las tasas de concepción y de parto para la IA post- cervical (90.7 y 85.3%, respectivamente) fueron menores que para la IA cervical (98.7 y 94.7%, respectivamente). El tamaño total de la camada no difirió para la inseminación post- cervical (12.8 ± 0.3) y la IA cervical (13.5 ± 0.3), pero fue mayor para las hembras de segundo parto que para las que tenían 3 a 5 partos.

Buranaamnuay et al. (2010) evaluaron la tasa de no retorno (NR), la tasa de partos (FR), y el número de total de lechones nacidos/camada (TB) de cerdas destetadas después de la inseminación intrauterina (IIU) con un bajo número de espermatozoides congelados-descongelados (FT). Semen de 6 verracos fue criopreservado individualmente en pajillas de 0.5 ml, a una concentración de 1×10^9 espermatozoides/ ml. Se incluyeron en el estudio un total de 40 cerdas multíparas con un intervalo de 3 a 7 días del destete-estro. Se detectaron las cerdas en celo dos veces al día y aleatoriamente fueron asignados a dos grupos: I) la ovulación espontánea ($n = 20$) y II) la ovulación inducidas ($n = 20$), para lo cual se les aplicó a las cerdas 750 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) inmediatamente a la detección del celo. La ovulación se determinó cada 12 h utilizando la ecografía transrectal. Semen FT conteniendo 1×10^9 espermatozoides móviles/dosis se utilizó para la inseminación intrauterina. En el grupo I las cerdas fueron inseminadas a las 24 h después de la detección del celo y se repitió cada 12 h hasta la ovulación. En el grupo II las cerdas fueron inseminadas a las 36, 42 y/o 48 horas después del tratamiento con hCG. Los resultados mostraron que el intervalo del inicio del estro a la ovulación (EOI) difirió significativamente entre el grupo I (40.2 h) y el grupo II (35.6 h). La variación del EOI entre las cerdas dentro de cada grupo pareció ser menor en el grupo II (4.5 h SD) que en el grupo I (5.5 h SD). El número de IIU por cerda fue de 2.9 ± 0.6 veces en el grupo I y fue de 2.4 ± 0.5 veces en el grupo II. No hubo diferencias significativas en la NR (80 vs 85%), la tasa de partos (60 vs 65%) y el número total de lechones nacidos/camada (8.0 ± 2.8 vs 9.4 ± 3.7) entre los grupos. Los resultados de estos autores indican que las dosis múltiples

de la IUI con un bajo número de espermatozoides FT resultan en buenas NR, y FR, y en un buen número total de lechones nacidos/camada, tanto en cerdas ovulando espontáneos e inducidas hormonalmente. El número de inseminaciones necesarias para lograr la fertilidad aceptable tendió a ser menor en las cerdas destetadas con ovulación inducida.

En el estudio de García et al, (2010) se examinaron los efectos de la incubación de los espermatozoides de cerdo descongelado en el plasma seminal (SP) sobre la integridad de la membrana espermática (viabilidad), y la motilidad in vitro (experimento 1), y la fertilidad in vivo (experimento 2). Para el experimento 1, semen congelado-descongelado de cinco verracos individuales y una piscina de esperma de verracos estos se descongelaron y se incubaron durante 4 h en medios que contenían 0, 10, o 50% de plasma autólogo seminal (verracos individuales) o plasma seminal agrupadas (mezcla de esperma). Se examinaron las poblaciones de espermatozoides para la viabilidad y la motilidad en 10 min. (0 h) y de nuevo a 1, 2, 3, y 4 h. Cada variable disminuyó progresivamente durante el período de incubación. La incubación en 50% PS aumentó el porcentaje de espermatozoides vivos y la motilidad de espermatozoides en todos los puntos de tiempo en comparación con cualquiera de la incubación en 0 o 10% SP. Para el experimento 2, cerdas multíparas Large x Landrace blanco (n = 82) recibieron cada una 900 UI eCG al destete y 750 UI de hCG 80 h después de controlar el tiempo de la ovulación. Las cerdas fueron asignadas considerando el número de partos para ser inseminadas con semen con o sin PS de los verracos utilizados en el experimento 1. Las cerdas recibieron 3×10^9 espermatozoides recién procesados (n = 30) o semen congelado-descongelado en 80 ml de diluyente BTS (n = 26) o 3×10^9 espermatozoides congelado-descongelado en 80 ml que contenían BTS 50% SP (FT-PS; n = 26). Las cerdas fueron inseminadas a las 36, y 42 h después de la inyección con hCG. En comparación con las otras cerdas éstas recibieron semen fresco. La tasa de preñez en las cerdas inseminadas con semen FT tendió a ser menor con el grupo FT- PS que fue intermedio. Las tasas de parto no fueron diferentes (83.3, 69.2 y 65.4% para semen fresco, FT, y FT-PS,

respectivamente). Las inseminaciones con semen FT se asociaron con una reducción en tamaño de la camada, que no era evidente en el grupo de FT-PS. En conjunto, estos datos confirman un efecto adverso de la inseminación con semen congelado-descongelado en la calidad del esperma y la tasa de fertilidad; lo anterior sugiere que los espermatozoides FT con 50% PS puede disminuir, en parte, estos efectos adversos.

Kaeoket et al. (2010) evaluaron el efecto de la inseminación intrauterina (IIU), dosis y volumen, y la inseminación a tiempo fijo (es decir, el uso de la correlación del intervalo destete-estro con la duración de ovulación) en la fertilidad de las cerdas inseminadas con semen porcino congelado. 34 cerdas fueron asignadas a los siguientes grupos experimentales: Experimento I (n = 8), las cerdas fueron divididas en 2 grupos, el grupo IA, cerdas (n = 4) fueron inseminadas con semen congelado con una dosis de 1×10^9 espermatozoides, utilizando 20 ml de diluyente ModenaTM. En el grupo IB las cerdas (n= 4) fueron inseminadas con semen congelado al mismo volumen pero utilizando una dosis de 2×10^9 espermatozoides. En el experimento II (n= 26), las cerdas fueron divididas en 3 grupos de la siguiente manera: las cerdas del grupo A (control, n = 10) fueron subdivididas en grupos AI (catéter punta espiral, n = 5) y el grupo A- II (catéter IIU, n= 5) que fueron inseminadas con semen fresco dos veces (a las 24 y 36 h después del inicio de celo) con una dosis de 4×10^9 espermatozoides, y diluido con 80 ml de BTS. Las cerdas del grupo B (n = 8), se subdividieron a su vez en el grupo BI (diluido con 40 ml de ModenaTM) y B -II (diluido con 60 ml de ModenaTM) que fueron inseminadas con semen congelado dos veces (es decir, en función al intervalo de destete-estro, WOI) con una dosis de 1×10^9 espermatozoides. En el grupo C las cerdas (n= 8) se dividieron en grupo CI (diluido con 40 ml de ModenaTM) y C -II (diluido con 60 ml de ModenaTM) que fueron inseminadas con semen congelado dos veces (dependiendo de WOI) con una dosis de 2×10^9 espermatozoides. La tasa de preñez (PR), la tasa de partos (FR) y el número total de lechones nacidos (TNB) se registraron. En el experimento I, la tasa de preñez fue de 0 a 25 % y ninguna cerda parió en

este experimento. En el Experimento II, la mayor tasa de preñez y parto se observó en grupos de CI y la N- II que los grupos BI y B- AI comparado las dosis (1 frente a 2 mil millones de espermatozoides); se observó una tendencia hacia un alto TNB cuando las cerdas fueron inseminadas con 2 mil millones de espermatozoides. No se encontraron diferencias significativas para el efecto de volumen utilizado para la inseminación. Estos investigadores concluyeron que el semen porcino congelado puede utilizarse con éxito mediante el uso de catéter de inseminación intrauterina (por ejemplo, a una dosis de 2×10^9 espermatozoides, en 60 ml de diluyente de semen) junto con AI de tiempo fijo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del sitio de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en la granja comercial “El Topete” del Grupo Nu-3 de Santa Ana Pacueco, municipio de Pénjamo, Guanajuato, México. La granja está ubicada a lado izquierdo de la carretera La Piedad, Michoacán- Manuel Doblado, Guanajuato con coordenadas de 102° 0' 18" longitud oeste 20° 24' 49" latitud norte (gaia.inegi.org.mx) con una altitud de 1,670 msnm. La región es plana, el clima es templado, y en la sierra es frío. La temperatura máxima es de 34°C y la mínima es de 4.6 °C, la media anual es de 20.2°C. La precipitación pluvial es de 670 mm anuales. En el municipio predomina un clima semicálido, tendiendo a ser más seco que húmedo.

Manejo de los animales

Todas las cerdas estuvieron sujetas al mismo régimen de alimentación y manejo. La ración alimenticia consistió en 2.2 a 3.5 kg de alimento con 14% de proteína cruda por animal por día dependiendo su etapa de gestación y categoría de animales. Las cerdas eran alojadas en jaulas de gestación con un servicio de alimentación de forma manual; el alimento se servía a las 7:00 am.

Las cerdas inseminadas artificialmente (convencional o intrauterina o post-cervical) se seleccionaron de acuerdo a sus indicadores reproductivos y por estar sanas. Las cerdas jóvenes eran animales que alcanzaban la madurez sexual a una edad mínima de 240 días y un peso corporal de 130 kg aproximadamente, con un buen estado de salud.

Se utilizaron cerdas híbridas Yorkshire x Landrace incluyendo primíparas y múltiparas de paridades que iban de 1 a más de 8 (destetadas, repetidoras de celo y abortadas). Las cerdas eran inseminadas por el método cervical y post-cervical con intervalo de 12 y 24 horas después del inicio de celo con una, dos y tres inseminación/celo con 3×10^9 espermatozoides/100 ml de volumen de semen refrigerado en el periodo de julio de 2013 a junio de 2014.

La detección de estros se realizaba dos veces al día (9:00 y 16:00 h aproximadamente) por medio de un semental, el cual se colocaba en el corral donde estaban las cerdas primerizas o adultas para estimularlas a que manifestaran el celo. En el corral de las cerdas una persona se encargaba de presionar el lomo de las cerdas con signos de estro (reflejo de inmovilidad), las cuales eran marcadas y llevadas a las jaulas para posteriormente ser inseminadas. Cuando se usaban dos dosis de semen, las inseminaciones se realizaban en la mañana o por la tarde 24 y 48 h después de detectado el estro. Cuando sólo se inseminaba una vez, las cerdas eran inseminadas a las 24 horas después de la detección del celo. Con tres inseminaciones, éstas eran efectuadas a las 12, 24 y 36 horas aproximadamente después de la detección del celo.

Sólo se utilizó semen con motilidad arriba del 70% y menos del 20% de anomalías. Las inseminaciones fueron realizadas por personal capacitado y con varios años de experiencia utilizando esta técnica.

El material requerido para la inseminación intrauterina y tradicional consistió en una cánula y catéter guía post-cervical Soft Quick® (Imporvet (España)). Dicha cánula tiene un diámetro externo de 3.5 mm y una longitud de 72 cm, con un orificio en su cabeza que permiten la salida del semen por la cánula, gel lubricante no espermicida y envases de plástico para dosis de 100 ml por cerda con 3×10^9 espermatozoides tanto para la IA convencional como la IA intrauterina. Los partos fueron sincronizados por medio de la aplicación de Porciprost (Prostaglandina sintética inyectable) a los 113 de gestación de las cerdas con atención personalizada. Las variables medidas fueron: lechones nacidos totales, lechones nacidos vivos, lechones nacidos muertos y lechones nacidos momificados.

Análisis estadísticos

El porcentaje de cerdas preñadas (número de cerdas preñadas/número de cerdas inseminadas x 100) se analizaron como datos binomiales con la función LOGIT de PROC GENMOD de SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). El modelo estadístico utilizado incluyó los efectos fijos de tipo de inseminación (cervical o post-cervical), el número de parto de la cerda y el número de inseminaciones. El número de lechones vivos, muertos y el número de lechones momificados fue analizado usando el procedimiento NPAR1WAY de SAS para datos no paramétricos.

Se llevó a cabo un análisis de correlación (PROC CORR, SAS) para determinar la asociación entre el número total de lechones nacidos y el número de lechones momificados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El porcentaje de partos y el tamaño de la camada es similar o mejor que muchos estudios donde se ha utilizado la inseminación artificial con semen refrigerado y con diferentes técnicas de inseminación artificial (Watson and Bejan, 2002; Roca et al., 2006). Lo anterior se atribuye a la calidad del semen utilizado, el cual mostraba motilidad >70% y a la cantidad de células espermáticas usadas por inseminación (3×10^9).

El porcentaje de preñez fue más alto ($P < 0.05$) en las cerdas inseminadas 2 veces en comparación con las cerdas inseminadas una o tres veces. Estudios previos indican que la máxima tasa de preñez en cerdas se logra con inseminaciones entre las 24 horas antes de la ovulación y 8 horas posteriores a las ovulaciones (Nissen et al., 1997; Correa et al., 2002). Con

dos inseminaciones la última inseminación estuvo más cerca al momento de la ovulación y esto parece explicar el mejor resultado con dos inseminaciones. Posiblemente con dos inseminaciones se logró establecer una mayor cantidad de espermatozoides en el istmo del oviducto, condición para lograr altas tasas de preñez (Hunter, 1996).

Cuadro 1.- Comparación del comportamiento reproductivo de las cerdas primíparas o multíparas inseminadas por el método tradicional o post-cervical con una, dos y tres dosis por celo, en una granja comercial en Santa Ana Pacueco, Pénjamo, Guanajuato. Vivos, muertos y momias se refiere a los lechones nacidos.

Variable	Fertilidad (%)	Vivos	Muertos	Momias
Dosis de semen				
1 (n=66)	91.7 ^a	11.5 ± 2.6	1.24 ± 1.31 ^a	0.44 ± 0.68
2 (n= 190)	94.5 ^a	11.1 ± 2.9	1.05 ± 1.23 ^a	0.65 ± 0.99
3 (n= 7857)	89.8 ^b	10.9 ± 3.3	0.92 ± 1.08 ^b	0.77 ± 1.24
Método de inseminación				
Cervical (n=1631)	90.4	11.1 ± 3.3	0.94 ± 1.09	0.96 ± 1.50
Intrauterino (n= 6482)	89.8	10.9 ± 3.3	0.92 ± 1.08	0.72 ± 1.14
Categoría				
Primíparas (n= 1629)	89.8	10.9 ± 3.3	0.92 ± 1.08	0.96 ± 1.50 ^a
Multíparas (n= 6484)	90.4	11.1 ± 3.3	0.94 ± 1.09	0.71 ± 1.14 ^b

En otros estudios un mayor número de servicios naturales incrementa la tasa de pariciones (Xue et al., 1998), pero otros estudios han mostrado que el número de inseminaciones no tiene efecto sobre la tasa de preñez (Xue et al., 1998; Correa et al., 2002).

El número de inseminaciones no tuvo ningún efecto en el número de lechones vivos ($P < 0.10$). Lo anterior es intrigante porque la vida fértil de los óvulos y espermatozoides en el canal reproductivo de la cerda es limitada y para lograr camadas numerosas es necesario que la inseminación se produzca en el momento adecuado (Waterski et al., 1994; Soede et al., 1995; Nissen et al., 1997). Cuando sólo se ha dado un servicio a las cerdas, en comparación con dos, se reduce el total de lechones por camada y el número de lechones vivos al parto (Correa et al., 2002).

En el caso de las cerdas que sólo recibieron una inseminación ésta ocurrió a las 24 horas posteriores al celo, con lo cual se cumplió con el término ideal de la deposición del semen en el útero de las cerdas. El número de lechones muertos fue más alto ($P < 0.05$) con una o dos inseminaciones en comparación con tres inseminaciones. No se tiene una explicación para esta respuesta. Por otro lado, el número de inseminaciones no afectó el número de lechones momificados al nacimiento ($P > 0.10$).

El método de inseminación no influyó sobre la tasa de preñez de las cerdas. El uso de diferentes técnicas de inseminación en cerdas abre el debate sobre cuál de ellas utilizar. En el presente estudio la inseminación convencional sería la más indicada si se utiliza la misma cantidad de espermatozoides en comparación con la técnica post-cervical. La segunda implica mayores costos, pero si esta es utilizada con un menor número de espermatozoides, entonces la técnica post-cervical sería la indicada. En un estudio de Hernández-Caravaca (2009) se muestran iguales tasas de preñez con inseminaciones transcervicales y post-cervicales, solo que en la segunda se utilizó la mitad de espermatozoides. Otros estudios muestran que la inseminación intrauterina e intrauterina profunda aumentan la fecundidad en comparación con la técnica de inseminación convencional (Roca et al., 2006; Vazquez et al., 2008).

Referente al tamaño de la camada, el método de inseminación no influyó sobre esta variable, lo cual concuerda con previos estudios (Watson and Bejan, 2002; Roca et al., 2006). Tanto el número de lechones muertos como el número de lechones momificados no difirió entre cerdas inseminadas con

las dos técnicas de deposición del semen en el canal reproductivo. La presencia de lechones momificados es el resultado fundamentalmente de infecciones virales (Madson et al., 2009), por lo que no se espera que la técnica de inseminación influya sobre esta variable.

Las diferencias encontradas en la tasa de pariciones entre las cerdas primíparas y multíparas no fueron significativas ($P > 0.05$) (Cuadro 1). Los resultados de este estudio difieren a lo encontrado por Dewey et al. (1995) y Correa et al. (2002) quienes observaron que las cerdas multíparas produjeron en promedio 11.4 lechones comparado con 10 lechones en las cerdas primíparas. El número de lechones vivos y muertos no difirieron ($P > 0.10$) entre cerdas multíparas y primíparas, pero el número de lechones momificados se incrementó ($P < 0.05$) en las cerdas primíparas comparado con las cerdas multíparas.

En este estudio no se encontró una asociación entre el número total de lechones por camada con el número de lechones momificados ($r = 0.05$), lo cual difiere de otros estudios que indican lo contrario (Le Cozler et al., 2002).

CONCLUSIÓN

La principal conclusión de este estudio es que, cuando se utilizan 3×10^9 espermatozoides por inseminación, la deposición del semen post-cervical no mejora el comportamiento reproductivo de las cerdas, por lo que, si no se reduce la dosis de espermatozoides, se aconseja utilizar el método tradicional de inseminación artificial en cerdas.

LITERATURA CITADA

- Alm, K., Peltoniemi, O., Koskinen, E. and Andersson, M. 2006, Porcine field fertility with two different insemination doses and the effect of sperm morphology. *Reproduction in Domestic Animals*, 41: 210–213.
- Batres-Marquez, S.P., Clemens, R.L. and Jensen, H.H. 2007, Mexico's changing pork industry: The forces of domestic and international market demand. *Choices*, 22: 7-12.
- Buranaamnuay, K., Tummaruk, P. and Techakumphu, M. 2010, Intra-uterine insemination with low numbers of frozen–thawed boar spermatozoa in

spontaneous and induced ovulating sows under field conditions. *Livestock Science*, 131: 115–118.

Casas, I., Sancho, S., Briz, M., Pinart, E., Bussalleu, E., Yeste, M. and Bonet, S. 2010, Fertility after post-cervical artificial insemination with cryopreserved sperm from boar ejaculates of good and poor freezability. *Anim Reprod Sci*, 118: 69-76.

Correa, M.N., Lucia, T., Afonso, J.A. and Deschamps, J.C. 2002, Reproductive performance of early-weaned female swine according to their estrus profile and frequency of artificial insemination. *Theriogenology*, 58: 103-112.

Dewey, C.E., Martin, S.W. Friendship, R.M., Kennedy, B.W. and Wilson, M.R. 1995, Associations between litter size and specific sow-level management factors in Ontario swine. *Preventive Veterinary Medicine*, 23: 101–110.

Garcia, J., Dominguez, J., Pena, F., Alegre, B., Gonzalez, R., Castro, M., Habing, G. and Kirkwood, R. 2010, Thawing boar semen in the presence of seminal plasma: Effects on sperm quality and fertility. *Animal Reproduction Science*, 119: 160-165.

Hernández-Caravaca, I., Izquierdo-Rico, Matás, M.J. C. and García-Vázquez, F. A. 2009, Post-cervical artificial insemination: profitability at farm, 60: 26-33.

Hunter, R.H. 1996, Ovarian control of very low sperm/egg ratios at the commencement of mammalian fertilisation to avoid polyspermy. *Mol Reprod Dev.*, 44: 417-422.

- Kaeoket, K., Chanapiwat, P., Wongtawan, T. and Kunavongkrit, A. 2010, Successful intrauterine insemination (IUI) with frozen boar semen: Effect of dose, volume and fixed-time AI on fertility. *Thai Journal of Agricultural Science*, 43: 31-37.
- Le Cozler, Y., Guyomarc, C., Pichodo, X., Quinio, P.Y., Pellois, H. 2002, Factors associated with stillborn and mummified piglets in high-prolific sows. *Animal Research*, 51: 261-268.
- Madson, D.M., Patterson, A.R., Ramamoorthy, S., Pal, N., Meng, X.J. and Opriessnig, T. 2009, Reproductive failure experimentally induced in sows via artificial insemination with semen spiked with porcine circovirus type 2. *Vet Pathol*, 46: 707-716.
- Martínez, E.A., Vázquez, J.M., Roca, J., Lucas, X., Gil, M.A., Parrilla, I., Vázquez, J.L. and Day, B.N. 2002, Minimum number of spermatozoa required for normal fertility after deep intrauterine insemination in non-sedated sows. *Reproduction*, 123: 163-170.
- Martinez, E., Vazquez, J., Parrilla, I., Cuello, C., Gil, M., Rodriguez-Martinez, H., Roca, J. and Vazquez, J. 2006, Incidence of unilateral fertilizations after low dose deep intrauterine insemination in spontaneously ovulating sows under field conditions. *Reproduction in Domestic Animals*, 41: 41–47.
- Mezalira, A., Dallanora, D., Bernardi, M., Wentz, I. and Bortolozzo, F. 2005, Influence of sperm cell dose and post-insemination backflow on reproductive performance of intrauterine inseminated sows. *Reproduction in Domestic Animals*, 40: 1–5.
- Mozo-Martín, R., Gil, L., Gómez-Rincón, C., Dahmani, Y., García-Tomás, M., Úbeda, J. and Grandía, J. 2012, Use of a novel double uterine

deposition artificial insemination technique using low concentrations of sperm in pigs. *The Veterinary Journal*, 193: 251–256.

Nissen, A.K., Soede, N.M., Hyttel, P., Schmidt, M. and D'Hoore, L. 1997, The influence of time of insemination relative to time of ovulation on farrowing frequency and litter size in sows, as investigated by ultrasonography. *Theriogenology*, 47: 1571-1582.

Panzardi, A., Dahl, C., Mirapalheta, E., Piassi, L., Collares, R., da Silva, L., Deschamps, J. and Lucia, T. 2010, Genetic paternity test for piglets generated by heterospermic cervical and post-cervical artificial insemination. *Acta Veterinaria Brasilica*, 4: 168-175.

Roberts, P. and Bilkei, G. 2005, Field experiences on post-cervical artificial insemination in the sow. *Reproduction in Domestic Animals*, 40: 489-491.

Roca, J., J. M. Vazquez, M. A. Gil, C. Cuello, I. Parrilla, and E. A. Martínez. 2006, Challenges in pig artificial insemination. *Reprod. Domest. Anim.*, 41: 43-53.

Saravia, F., Wallgren, M., Nagy, S., Johannisson, A. and Rodríguez-Martínez, H. 2005, Deep freezing of concentrated boar semen for intra-uterine insemination: effects on sperm viability. *Theriogenology*, 63: 1320-1333.

Soede, N.M., Wetzels, C.C., Zondag, W., De Koning, M.A. and Kemp, B. 1995, Effects of time of insemination relative to ovulation, as determined by ultrasonography, on fertilization rate and accessory sperm count in sows. *Journal of Reproduction and Fertility*, 104: 99-106.

- Vazquez, J. M., J. Roca, M. A. Gil, C. Cuello, I. Parrilla, J. L. Vazquez, and Martínez, E. A. 2008. New developments in low-dose insemination technology. *Theriogenology*, 70: 1216-1224.
- Vigo, D., Faustini, M., Villani, S., Orsini, F., Bucco, M., Chlapanidas, T., Conte, U., Ellis, K. and Torre, M. 2009, Semen controlled-release capsules allow a single artificial insemination in sows. *Theriogenology*, 72: 439-444.
- Waterski, D., Weitze, K., Gleumes, T., Schwarz, M., Willmen, T. and Petzoldt, R. 1994, Effect of time of insemination relative to ovulation on fertility with liquid and frozen boar semen. *Theriogenology*, 42: 831-840
- Watson, P. and Bejan, J. 2002, Intrauterine insemination of sows with reduced sperm numbers: results of a commercially based field trial. *Theriogenology*, 57: 1683-1693.
- Wongtawan, T., Saravia, F., Wallgren, M., Caballero, I. and Rodríguez-Martínez H. 2006, Fertility after deep intra-uterine artificial insemination of concentrated low-volume boar semen doses. *Theriogenology*, 65: 773-787.
- Xue, J.L., Dial, G.D., Trigg, T., Davies, P.R. and King, V.L. 1998, Influence of mating frequency on sow reproductive performance *Journal of Animal Science*, 76: 2962-2966.
- Xue, J.L., Lucia, T., Koketsu, Y., Dial, G.D. and Marsh, W.E. 1998, Influence of mating frequency and weaning-to-mating interval on sow reproductive performance. *Swine Health Production*, 6: 157–162.

Yamaguchi, S., Funahashi, H. and Murakami, T. 2009, Improved fertility in gilts and sows after artificial insemination of frozen-thawed boar semen by supplementation of semen extender with caffeine and CaCl₂. *Journal of Reproduction and Development*, 55: 645-649.