

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS



Cambios morfológicos aparentes en espermatozoides porcinos con distinto tiempo de recolección seminal

Por:

FERNANDO SALINAS TORRES

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México

Septiembre 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Cambios morfológicos aparentes en espermatozoides porcinos con distinto tiempo de recolección seminal.

Por:

FERNANDO SALINAS TORRES

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

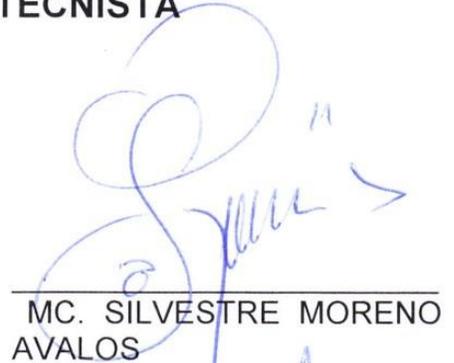
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:



DR. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

Presidente



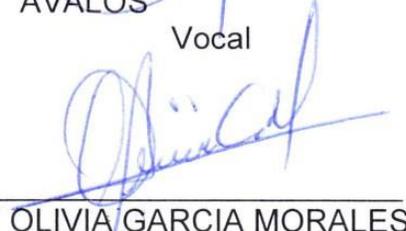
MC. SILVESTRE MORENO AVALOS

Vocal



MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ

Vocal



MC. OLIVIA GARCÍA MORALES

Vocal Suplente

MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Septiembre 2018



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Cambios morfológicos aparentes en espermatozoides porcinos con distinto tiempo de recolección seminal

Por:

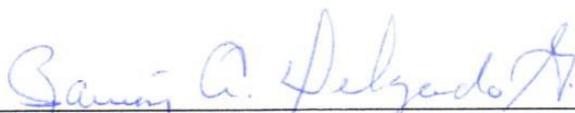
FERNANDO SALINAS TORRES

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



DR. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ
Asesor Principal



MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Septiembre 2018

AGRADECIMIENTOS

A Dios y a la Virgen de Guadalupe por darme sabiduría para poder culminar la carrera.

A mi papa Ladislao Fernando Salinas Arismendi por darme todo el apoyo incondicional creer en mí y por sus consejos.

A mi mama Eva Torres Millán por darme todo el apoyo incondicional y por creer en mi y por sus consejos.

A mis hermanos Oswaldo Alejandro Salinas Torres, María Luisa Salinas Torres, Reinaldo Salinas Torres, Víctor Salinas Torres por el gran apoyo que me brindaron y por sus consejos.

A mi novia Maria Cristina Villagran Rubi por su apoyo incondicional, por sus consejos y por creer en mi.

A mi hija Inna Yamilet Salinas Villagran por alegrarme la vida día a día.

A mis amigos José Guadalupe Razo Tejeda, Luis Enrique Rivera Ochoa por su gran amistad y por ayudarme en el experimento.

Al Dr. Ramon Alfredo Delgado González por ayudarme en tiempo y espacio para la realización de mi tesis.

Al MVZ Silvestre Moreno Avalos por su apoyo incondicional y por ayudarme en tiempo y espacio para la realización de mi tesis.

A mi Alma Terra Mater Universidad Autónoma agraria Antonio Narro Unidad laguna por abrir sus puertas para realizar mis estudios de licenciatura.

DEDICATORIAS

A Dios y a la Virgen de Guadalupe por darme sabiduría y fuerza para perseverar día a día.

A mis padres Ladislao Fernando Salinas Arismendi y Eva Torres Millán por brindarme su apoyo incondicional.

A mis hermanos Oswaldo Alejandro Salinas Torres, María Luisa Salinas Torres, Reinaldo Salinas Torres, Víctor Salinas Torres por el gran apoyo que me brindaron y por sus consejos.

A mi novia María Cristina Villagrán Rubí por su apoyo incondicional, por sus consejos y por creer en mí.

A mi hija Inna Yamilet Salinas Villagrán por alegrarme la vida día a día.

A mis amigos José Guadalupe Razo Tejeda, Luis Enrique Rivera Ochoa por su gran amistad y por ayudarme en el experimento.

RESUMEN

La domesticación del cerdo (*sus scrofa*) y su aprovechamiento por parte del hombre ha tenido una gran relevancia en la historia ya que el cerdo se ha utilizado como una importante fuente de alimento a su vez se ha seleccionado durante muchos años las características deseables dando origen a las distintas razas que existen actualmente y en los últimos años se ha observado un incremento en las tecnologías y técnicas de la reproducción en cerdos y otros animales una de las técnicas más importantes es la inseminación artificial a su vez para llevar a cabo esta importante técnica se debe de realizar un análisis a los espermatozoides conocido como espermograma en el cual se evalúa el color, olor, motilidad, vitalidad y la morfología en este trabajo se identificaron los cambios morfológicos en los meses de noviembre y diciembre de 2017 en 4 cerdos de entre 18 a 24 meses de edad, mediante tinción de azul de metileno los espermatozoides fueron observados a 40x en un microscopio de contraste de fase en el conteo de 100 espermatozoides se realizó en campos libres de aglutinación y se identificó los cambios morfológicos encontrando en su mayoría en el grupo 1 al cual se le realizaban 2 recolecciones a la semana durante 4 semanas y los resultados que se observaron fueron sin cambios morfológicos aparentes un 97.727%, decapitados (solo colas) 0.363%, cabezas sueltas 1.909% y en el grupo 2 al cual se le realizaban 1 recolección a la semana durante 4 semanas y los resultados que se observaron fueron sin cambios morfológicos aparentes un 95.875%, decapitados (solo colas) 3.125%, cabezas sueltas 1%. Cabe mencionar que se observaron menos cambios morfológicos en el grupo 1 que se realizaban las extracciones 2 veces a la semana que los que solo se le realizaba 1 vez a la semana. En algunas extracciones no se obtuvo la muestra esto pudo ser por el estrés térmico ya que en las últimas fechas de extracción se presentó temperaturas bajas en la región ya que se aproximaba el invierno.

Palabras clave: morfología, espermatozoide, espermatogénesis, porcino.

ÍNDICE	
AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
RESUMEN	iii
ÍNDICE DE CUADROS	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
I-INTRODUCCIÓN.....	1
1.1-OBJETIVOS GENERALES	2
1.2-OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	2
II-REVICION DE LITERATURA	2
2.0 Domesticación del cerdo	2
2.1 Características del cerdo.....	4
2.2 Historia del cerdo en américa.....	5
2.3 Anatomía y fisiología del aparato reproductor del cerdo	6
2.4 Espermatogénesis	8
2.5 Espermatozoide.....	9
2.6 Evaluación de la aptitud reproductiva del verraco	10
2.7 El examen clínico.....	12
2.8 Evaluación de la morfología espermática	12
2.9 Colección del semen	22
2.10 Ritmo de colecta.....	24
2.11 Contaminación durante la recolección	24
2.12 Genotipo.....	25
2.13 Registros de fertilidad.....	26
III-MATERIALES Y METODOS.....	26
3.1-Localización del área de estudio	26
3.2 Materiales.....	27
3.3 Método	28
3.4 Técnica utilizada	28iv
IV-RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
4.1 Calendario de extracción seminal	29
4.2 Promedio de resultados	29

Tabla comparativa de promedio individual	29
4.3 Tabla comparativa de promedio por grupos	30
4.4 DISCUSIÓN	31
4.5 Identificación de cambios morfológicos mediante tinción con azul de metileno	32
4.6 Las patologías espermáticas.....	33
4.7 Temperatura del ambiente	36
4.8 Grado de aglutinación.....	37
IV-CONCLUSION	38
V-LITERATURA CITADA	39

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1 Cronología de la domesticación.....	4
Cuadro 2 Anormalidades espermáticas principales I.....	15
Cuadro 3 Anormalidades espermáticas principales II.....	16
Cuadro 4 Rangos y nivel de aceptabilidad para ciertos parámetros del semen de verraco.....	20
Cuadro 5 Tipos y porcentajes promedio de anormalidades.....	20
Cuadro 6 Esquema de la evaluación de la morfología espermática I.....	21
Cuadro 7 Calendario de extracción seminal.....	29
Cuadro 8 Tabla comparativa de promedio individual.....	29
Cuadro 9 Tabla comparativa de promedio por grupos.....	30
Cuadro 10 Esquema para la evaluación morfológica espermática II.....	32

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Partes Externas del Cerdo.....	4
Figura 2 Anatomía del aparato reproductor masculino.....	6
Figura 3 Anatomía y Fisiología del aparato reproductor del macho.....	7
Figura 4 Esquema de las partes de un espermatozoide.....	9
Figura 5 Corte transversal de la cola del espermatozoide.....	10
Figura 6 Espermatozoide con tinción.....	17
Figura 7 Mapa de Torreón.....	26
Figura 8 Anormalidades primarias.....	33
Figura 9 Anormalidades secundarias.....	33

INTRODUCCIÓN

A partir de la década del 60 y 70 se incrementaron de manera notable el uso práctico y comercial de la IA en toda Europa, paralelamente se desarrolló los nuevos y específicos diluyentes, así como también las adecuadas técnicas para la extracción, procesamiento y manejo de semen (González y col. 2004).

Aksoy y colaboradores (2012) mencionan a Kruster y col. (2004): La morfología del espermatozoide es importante para la fertilización exitosa en las diferentes técnicas de inseminación artificial.

En la actualidad, el proceso de evaluación de semen es una herramienta primordial en la aplicación de nuevas biotecnologías, así como en los procesos de valoración de futuros reproductores (Rodríguez Franco y Jiménez 2008)

Pipan y colaboradores (2017) mencionan a Konox y col. (2008): Para mantener la alta calidad del semen para la inseminación artificial es necesaria una evaluación de rutina basada en la concentración, motilidad y la morfología.

González y colaboradores (2008) mencionan “A medida que se ha sofisticado la tecnología para estudiar las características y funciones de los espermatozoides en forma individual, se ha hecho obvio que existe una considerable heterogeneidad. Thurston y col.(2001)”.

Las características de los sementales porcinos y la calidad espermática son factores fundamentales (Del Valle, 2017). Para su selección adecuada como reproductores.

La evaluación morfológica del semen es de enorme valor diagnóstico y requiere de un manejo adecuado de las muestras a analizar, la evaluación morfológica en el laboratorio está basada en la microscopia de contraste de fases de preparados húmedos (espermatozoides fijados) y en la microscopia de luz de frotis coloreados. La evaluación de morfología rutinaria incluye la localización de anomalías presentes en los distintos sectores de cada espermatozoide (cabeza [incluyendo el acrosoma], nuca, pieza media, incluyendo la presencia de gotas citoplasmáticas y cola) (Rodríguez 2013).

Rodríguez (2013) menciona:” Se debe realizar un recuento sobre un número importante de espermatozoides, utilizando contrastación en el frotis delgado, el cual se tiñe (Lagerlöf 1934). La cuantificación debe expresarse sobre todas las anormalidades presentes ya que de esa manera se puede determinar su origen y la magnitud de la patología que las origina (incluyendo anomalías de la espermatogénesis, de la maduración espermática). “

1.1-OBJETIVOS GENERALES

Identificar los posibles cambios morfológicos en espermatozoides en sementales porcinos con distinto tiempo de recolección.

1.2-OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar y comparar cambios en la morfología espermática de 4 sementales porcinos e identificar si el periodo de tiempo entre recolecciones influye sobre la morfología espermática.

II-REVICION DE LITERATURA

2.0 Domesticación del cerdo

Desde su domesticación en torno a unos 7,000 años a.C, el cerdo ha vivido con el hombre hasta la actualidad. (Gasa y Lopez-Verge, 2015).

Benítez y Sanches (2003) mencionan a Pond (1974): los antepasados más remotos de los cerdos se remontan a 40 millones de años y parece como su pariente más lejano queda todavía, en la región del Cabo (*Oricteropus afer*). Este es el orden de los tubulidentados con hocico y orejas alargadas, de hábitos nocturnos que se alimentan de insectos y de raíces. Si bien no existe un consenso unánime al respecto se estipula que la domesticación del cerdo actual inicio en Europa entre 7000 y 3000 a.C., a pesar que investigadores chinos reivindican el origen chino del cerdo domestico actual que habría iniciado en el país en el año 10,000 a.C. Se acepta que la domesticación se realizó de manera lenta y progresiva y que los primeros cerdos eran pequeños y estaban en hatos poco numerosos.

El cerdo domestico (*Sus scrofa*) tiene su origen en el jabalí de Eurasia y se estima su origen en sus formas más ancestrales hace 500,000 años (Giuffray col.2000).

Los cerdos actuales pertenecen al género *Sus* y comprenden los cerdos asiáticos (*Sus vittatus*) de pequeño tamaño; los célticos (*Sus scrofa*) provenientes del jabalí europeo; y los cerdos ibéricos (*Sus mediterraneus*) de origen africano, de mayor tamaño que los anteriores e introducidos en todas las regiones del sur de Europa.

La capacidad de adaptación del cerdo a los diferentes pisos climáticos ha determinado que su explotación se realice en todos los continentes y en casi todos los países de mundo, a excepción de aquellos, en donde por razones de orden cultural y religiosas su existencia está vedada. A su carácter cosmopolita está ligada a su gran capacidad de adaptación a los varios regímenes alimentarios, ya que su calidad de omnívoro le permite transformar diferentes productos y subproductos, y alimentarse con recursos vegetales y animales. Puede ser exportado en forma tradicional con recursos limitados o en forma intensiva, combinando las más sofisticadas técnicas de alimentación, sanidad, reproducción, transformación y comercialización (Benítez y Sánchez 2003).

Año	Género/especie y Especie Originaria	Área de origen de la domesticación
14.000-12.000 a.C.	perro (<i>Canis familiaris</i>)	Norte América Europa, Asia
8.000 a.C.	caprinos (<i>Capra aegagus</i>)	Medio Oriente
7.200 a.C.	ovinos (<i>Ovis orientalis</i>)	Medio Oriente
7.000 a.C.	<i>Bos Taurus</i> y <i>Bos indicus</i> (<i>Bos primigenius</i>)	Grecia - Turquía (Europa), Irán
7.000 a.C.	suinos (<i>Sus vittatus</i> , <i>Sus scrofa</i>)	Asia, Europa
4.000 - 2.000 a.C.	equinos (tarpan, Przewalski)	Ucrania, China, Asia Central
3.000 - 2.000 a.C.	gato (<i>Felis libica</i> , <i>F. Silvestris</i>)	África (Egipto), Europa
2.000 a.C.	gallina (<i>Gallus gallus</i>)	Asia
100 a.C.	conejo (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	Italia
2.000 d.C.	ciervos (<i>Cervidi elaphus</i> , <i>Dama dama</i>)	Nueva Zelandia. Europa (Escocia)

Cuadro 1 Cronología de la domesticación. Fuente: (Mattiello 1998.Traduccion Breton 2013).

2.1 Características del cerdo

Las características de los sementales porcinos y la calidad espermática son factores fundamentales (Del Valle, 2017). Para ser seleccionados como sementales y a su vez para distribuir su descendencia con las características deseables para las unidades de producción porcina.

Li y col. 2014 mencionan a Chen y col. 2007, Groenen y col. 2012: las más de 730 razas o líneas de cerdos (*Sus scrofa*) en todo el mundo han sido sometidas a la selección natural y artificial en varios entornos y produjo altos niveles de diversidad.

2.1 PARTES EXTERNAS DEL CERDO.

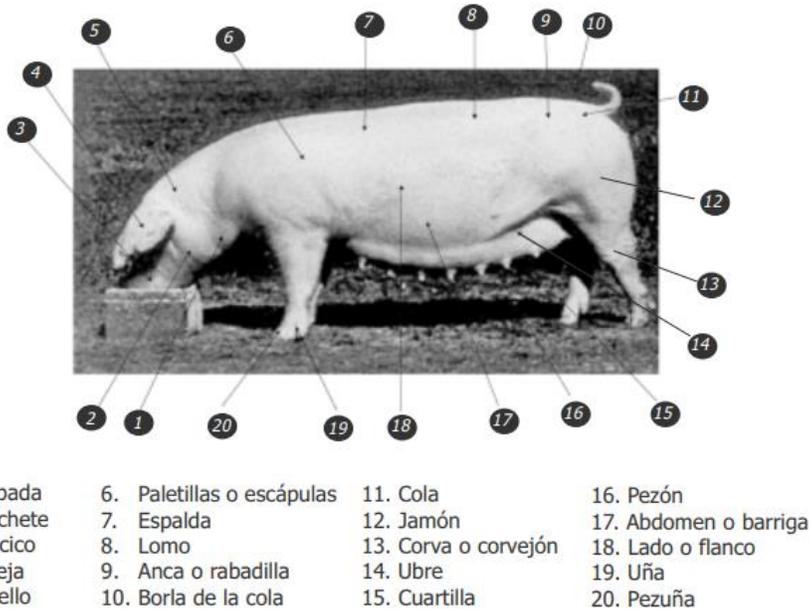


Figura 1 Partes Externas del Cerdo. Fuente: (Carrero y col. 1989. Actualización Espinoza y Castaño 2005).

La madurez sexual del cerdo reproductor es un proceso gradual, algunos pueden servir desde los 5 meses, pero no es nunca aconsejable, se recomienda su uso como reproductor a los 7-8 meses de edad cuando están bien desarrollados y tienen un peso de 110-120kg.

La producción óptima de espermatozoides se alcanza de los 12 a los 15 meses de edad. No es aconsejable utilizar un reproductor dos veces el mismo día (Carrero y col. 1989. Actualización Espinoza y Castaño 2005).

La predicción de la capacidad fecundante de los espermatozoides porcinos sería de gran interés económico para el sector, ya que permitiría utilizar en inseminación aquellos reproductores que aseguren un buen rendimiento reproductivo (Gadea y col. 2001).

2.2 Historia del cerdo en América

La introducción en América del ganado europeo puede decirse que fue el primer eslabón de una compleja historia marcada por la confrontación de dos culturas que en transcurso del tiempo se mezclaría en una combinación de múltiple simbiosis.

El impacto que provocaron las nuevas especies animales en la población indígena fue tan tremendo que los europeos no dudaron en aprovechar para sus propósitos el miedo o el asombro con el que los recibieron aquellos. Con el tiempo, del impacto paso a la asimilación, constituyendo la ganadería como un importante pilar económico, que llego a configurar también una serie de tipos sociales asociados a su explotación (Del rio, 2010).

Del rio (2010) menciona a Cobo (1943): los marranos siguieron las huestes por varias razones. Eran abundantes en las Antillas y, por tanto, muy baratos; el consumo de su carne se había generalizado entre la población española asentada en las grandes islas; en los barcos ocupaban poco espacio y su omnivorismo les permitía alimentarse

con facilidad; podían cebarse conforme caminaban los soldados; se adaptaban a todo tipo de medios y su reproducción era sumamente prodiga.

Se puede decir que los cerdos en de América derivan de múltiples razas existentes en los siglos XV y XVI. Esto puede explicar la gran variedad fenotípica en estos países (Benítez y Sánchez 2003).

2.3 Anatomía y fisiología del aparato reproductor del cerdo

2.1 Anatomía del aparato genital masculino

- 1. Testículo.
- 2. Cabeza del epidídimo.
- 3. Cola del epidídimo.
- 4. Pene.
- 5. Divertículo prepucial.
- 6. Glándula bulbouretral.
- 7. Glándula vesicular.
- 8. Músculo retractor del pene.
- 9. Vejiga.
- 10. Próstata.
- 11. Uretra.

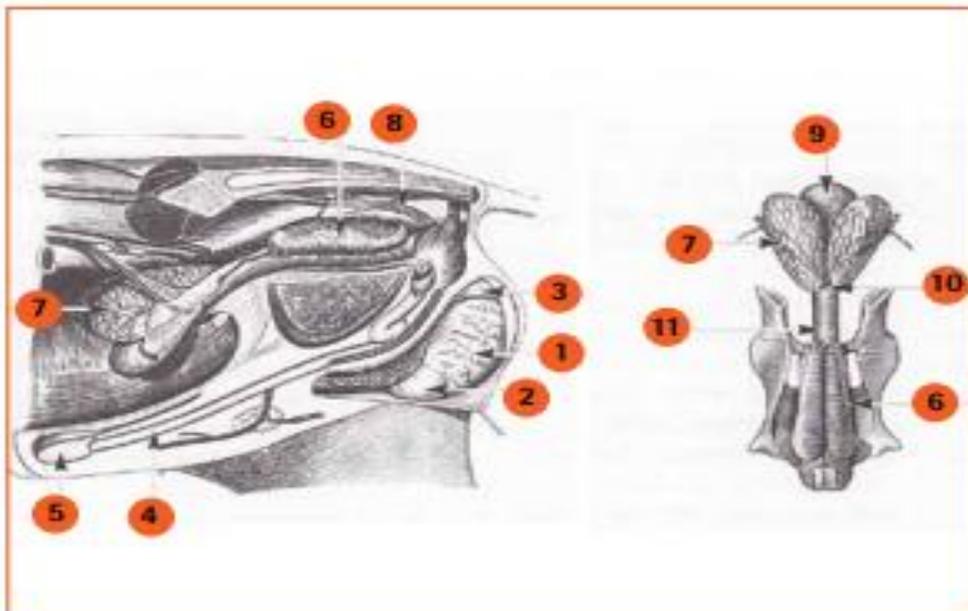
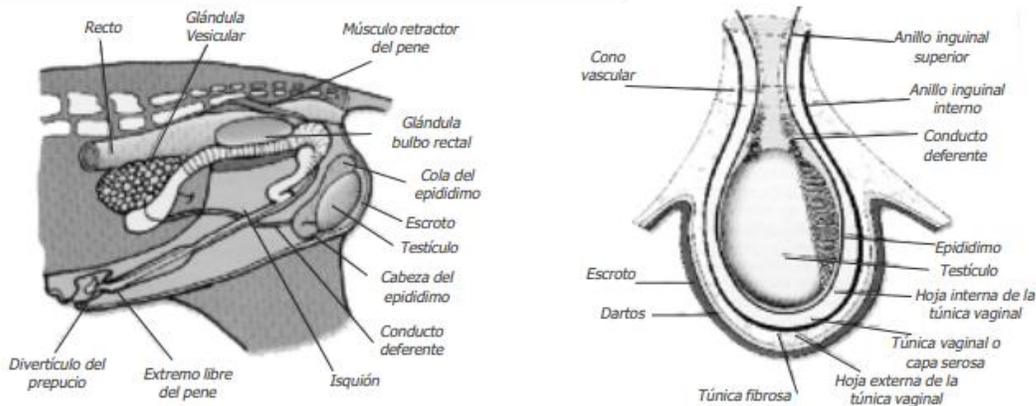


Figura 2 Anatomía del aparato reproductor masculino. Fuente: (KUBUS Manual de Inseminación 2010).

ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DEL MACHO



ORGANO	CARACTERÍSTICAS	FUNCIÓN
Escroto	Desarrollado según la edad	Proteger los testículos contra lesiones mecánicas, regular temperatura
Testículos	Voluminosos	Producción de espermatozoides
Vesícula Seminal	Muy voluminosa y frágil	Producción de líquido seminal
Próstata	Reducida	Producción de líquido seminal
Glándula Cowper	Muy voluminosa	Producción de líquido seminal
Epidídimo	Alargado	Maduración de espermatozoide.
Canal deferente	Largos y flexuosos	Evacuación del semen
Pene		Penetrar en la vagina

Figura 3 Anatomía y Fisiología del aparato reproductor del macho. Fuente: (Carrero y col. 1989. Actualización Espinoza y Castaño 2005).

2.4 Espermatogénesis

La espermatogénesis es el proceso de diferenciación celular por el cual una célula germinal se transforma en espermatozoide con todas sus estructuras (De Mercado, 2011).

Hazmi y col. (2018) Mencionan a Lehmann y col. (2012): Las células madre del testículo son una población única de células madre en un cuerpo adulto, porque además de su doble capacidad de autorrenovarse y dar lugar a células germinales diferenciadoras, ellas pueden pasar la información genética a la descendencia. Entre muchos tipos de células germinales masculinas están presentes desde el periodo fetal a la edad adulta.

De Mercado (2011) menciona a Pinart y col. (2000): Este proceso está controlado endocrinamente por el eje hipófisis-hipotálamo-testículo y en la especie porcina dura de entre 25-26 días.

En contraste según KUBUS S.A. señala que el proceso de desarrollo de una célula germinal en espermatozoide maduro, en el verraco dura aproximadamente 34 días. A continuación, los espermatozoides pasan a través de la red testicular y conductos eferentes al epidídimo donde, experimentan una maduración final durante un periodo de 14 días.

Este proceso dura aproximadamente 48 días en completarse.

La diferenciación de las células germinales a espermatozoide se desarrolla en tres fases: proliferación, meiosis espermiogénesis (De Mercado ,2011).

No se descarta la posibilidad de presentación de un efecto nocivo de la alta temperatura y humedad relativa sobre la espermatogénesis generando un aumento en el porcentaje de anomalías espermáticas (Hena y col. 2004).

La producción de espermatozoides y en consecuencia el número de dosis seminales que pueden obtenerse a partir de un eyaculado está influenciada por un gran número de factores ambientales como la estación, alimentación, ritmo de recogida (Peinado y col. 1998, Bielas y col. 2017).

2.5 Espermatozoide

La célula espermática de porcino está estructurada en cabeza, parte intermedia y cola. La cabeza tiene forma oval, contiene el acrosoma y el núcleo; el acrosoma está situado en la región apical, es una vesícula que contiene enzimas como acrosina., el núcleo ocupa la práctica totalidad de la cabeza y contiene el ADN del espermatozoide, está altamente condensado y es transcripcionalmente inactivo, la compactación que sufre se debe a proteínas específicas llamadas protaminas que se interpone y une a las cadenas de ADN.

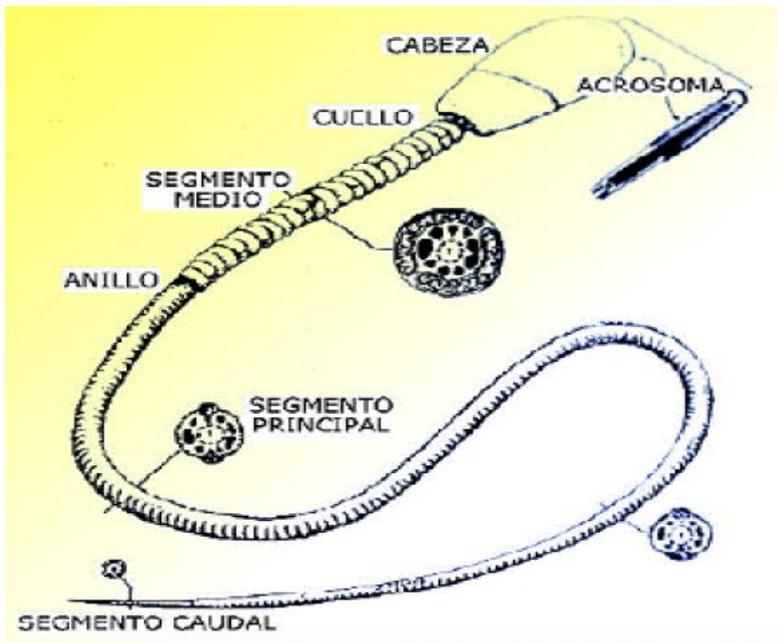


Figura 4 Esquema de las partes de un espermatozoide. Fuente: (De Mercado, 2011).

De Mercado (2011) menciona Robl y Fissore (1999): en la parte intermedia contiene la vaina mitocondrial, un cilindro de mitocondrias que envuelven el primer tercio de flagelo y une con la plasmalema. Tiene como función proporcionar energía al espermatozoide para el movimiento.

De Mercado (2011) menciona a Millette (1999): la cola o flagelo contiene el axoma, una estructura constituida por 9 pares de microtúbulos periféricos y 1 par central, esta estructura proporciona movilidad a la célula, y su composición es diferente a los flagelos de células eucariotas y procariotas.

evaluados, estimar calidad seminal (woelders, 1991). La valoración de la morfología espermática ha sido tradicionalmente incluida en el análisis seminal clásico, debido a que potencialmente puede determinar las variaciones celulares que afectan la fertilidad (Gadea 2005). “

Torreta, Rabaglino y Ferrero (2010) mencionan a Waberski y col. (1990) : Así mismo, el estudio de la morfología espermática ofrece información acerca de la eficiencia de la espermatogénesis y puede facilitar la selección de verracos.

Torreta, Rabaglino y Ferrero (2010): “varios autores han descrito una correlación inversa entre el número de formas anormales y la fertilidad (Martines y col., 1986; Galli y Bosisio, 1988; Wberski y col. 1990; Woelders, 1991; Zeuner 1992; Waberski y col. 1994; Everson y col. 1994; Gadea y col. 1998;2004; Jonhson y col. 2000).”

Torreta, Rabaglino y Ferrero (2010) mencionan a Larsson, (1986), Althouse, (1997), Serrano y col. (1989),(1996), Rueda y col. (2006) : En los centros de cría intensiva y de producción de dosis seminales, se evalúa las formas anormales de la cabeza, acrosoma, pieza media y cola; con más énfasis en la presencia de gota citoplasmática, colas dobladas, colas enrolladas y cabezas desprendidas.

Batista y colaboradores (2007) menciona a Fraser y colaboradores (2001): El eyaculado porcino es una mezcla heterogénea formada por la resultante integración eyaculativa proveniente de las glándulas accesoria y testículos.

El examen andrológico debe tomar siempre en cuenta la influencia de varios factores, como la edad, la estación, el nivel nutricional, la presencia de enfermedades intercurrentes, el manejo, las interacciones sociales y otros factores ambientales que puedan afectar su fertilidad. Su aptitud reproductiva depende primariamente de su salud general y su bienestar, y específicamente de la función de su sistema endocrino y de sus testículos, su tracto genital y sus glándulas sexuales accesorias, todo lo cual incide en la eficiencia de su capacidad de servicio (Rodríguez, 2013).

Cada una de estas funciones puede cambiar en forma continua, dependiente o independientemente entre sí, pasando de ser muy buena a muy mala en el tiempo, afectando la fertilidad en grado variable. La evaluación de la aptitud reproductiva

persigue un sólo propósito; llegar a un diagnóstico que nos permita pronosticar el uso del reproductor o de su semen (Rodríguez, 2013).

2.7 El examen clínico

El examen clínico debe ser siempre iniciado por una identificación sólida del reproductor (raza, edad, tatuaje, número identificador, registro, etc.) así como la recolección de una historia clínica lo más completa posible, que incluya datos de manejo, historia nutricional, enfermedades o afecciones previas, uso previo como reproductor (incluyendo anotaciones de comportamiento y resultados de fertilidad). El verraco debe inspeccionarse en el reposo y en movimiento, prestando atención especial al sistema locomotor músculo-esquelético, con énfasis en la conformación de los miembros posteriores (aplomos) (Rodríguez, 2013).

El examen clínico general se remite a la inspección, palpación y auscultación somera de los distintos sistemas, con especial atención a los órganos de los sentidos (particularmente vista y olfato). Cuando exista sospecha de afección, el examen se hace más intensivo y específico (Rodríguez, 2013)..

El examen físico andrológico debe incluir la inspección del prepucio y pene (durante la colección de semen), la inspección y la palpación del escroto y su contenido (incluyendo la mensura del ancho del escroto, la mensura testicular y los hallazgos palpatorios en epidídimo y testículo; en éste último describiendo la elasticidad y la resistencia del órgano a la palpación superficial y profunda, respectivamente). Los exámenes paraclínicos de hormonas (LH, FSH, testosterona) no han resultado de valor para la evaluación rutinaria de los verracos, pero pueden usarse en casos especiales. Muestras de sangre para serología se toman en caso de sospecha durante el examen clínico (Rodríguez, 2013).

2.8 Evaluación de la morfología espermática

A partir de la década del 60 y 70 se incrementaron de manera notable el uso práctico y comercial de la IA en toda Europa, paralelamente se desarrolló los nuevos y específicos diluyentes, así como también las adecuadas técnicas para la extracción, procesamiento y manejo de semen (González y col. 2004).

Aksoy y colaboradores (2012) mencionan a Kruster y col. (2004) : La morfología del espermatozoide es importante para la fertilización exitosa en las diferentes técnicas de inseminación artificial.

En la actualidad, el proceso de evaluación de semen es una herramienta primordial en la aplicación de nuevas biotecnologías, así como en los procesos de valoración de futuros reproductores (Rodríguez, Franco, y Jiménez 2008).

Pipan y colaboradores (2017) mencionan a Konox col. (2008): Para mantener la alta calidad del semen para la inseminación artificial es necesaria una evaluación de rutina basada en la concentración, motilidad y la morfología.

González y colaboradores (2008) mencionan “A medida que se ha sofisticado la tecnología para estudiar las características y funciones de los espermatozoides en forma individual, se ha hecho obvio que existe una considerable heterogeneidad. Thurston y col. (2001)”.

El uso de la inseminación artificial en el cerdo en la industria ha crecido durante los últimos años en la inseminación artificial porcina, eyaculados simples se dividen en dosis y se utilizan para cubrir múltiples hembras, por lo tanto, es económicamente significativo evaluar la calidad del semen (González y col. 2013).

Gadea y colaboradores (2001) mencionan a Gadea y col. (1998), Gadea y Matas, (2000): El análisis seminal en condiciones comerciales actuales sirve para desechar eyaculados de baja calidad, quedando todavía sin resolver la difícil tarea de predecir la fertilidad con datos que aporta el espermograma clásico.

Rodríguez (2013) menciona:” La evaluación morfológica del semen es de enorme valor diagnóstico y requiere de un manejo adecuado de las muestras a analizar, las cuales se preparan en principio luego de haber evaluado la movilidad. También aquí es necesario recordar que tanto la solución taponada de formalina (fijador) como los portaobjetos a ser usados (frotis) estén temperados al momento del uso. Esto evita la presencia de artefactos (acrosomas rotos, colas dobladas simples, etc.). Se deben hacer dos frotis delgados (para colorear cabezas, para ello se puede usar el semen ya diluido 1:1 que usamos para mirar movilidad) y dos frotis gruesos, escalonados (para

colorear otras células que no sean espermatozoides, como los leucocitos, células epiteliales, células espermátogénicas, etc.).”

Rodríguez (2013) menciona:” Todos los frotis se secan al aire. Una vez realizados los frotis, se fijan 4-5 gotas de semen sin diluir en un tubo eppendorf con 1 ml de solución taponada de formalina (Hancock 1961). Luego de la preparación de los frotis y la fijación seminal con formalina, se toman unos mililitros del eyaculado y se colocan en un tubo de ensayo (es de ésta muestra seminal que se mide -en forma manual la concentración espermática. Este tubo se envía al laboratorio con el resto de las muestras (frotis y tubo con semen fijado) así como una copia de los datos del verraco, su historia, y la evaluación inmediata del semen.”

Rodríguez (2013) menciona:” La evaluación morfológica en el laboratorio está basada en la microscopia de contraste de fases de preparados húmedos (espermatozoides fijados) y en la microscopia de luz de frotis coloreados. La evaluación de morfología rutinaria incluye la localización de anomalías presentes en los distintos sectores de cada espermatozoide (cabeza [incluyendo el acrosoma], nuca, pieza media, incluyendo la presencia de gotas citoplasmáticas y cola). Se debe realizar un recuento sobre un número importante de espermatozoides, utilizando contrastación en el frotis delgado, el cual se tiñe con carbol fucsina, y donde sólo se evalúa la morfología de cabezas de 500 espermatozoides (1000 aumentos en microscopía de luz; Lagerlöf 1934).”

Rodríguez (2013) menciona: ”En el preparado húmedo se examinan 200 espermatozoides a 1000 aumentos (contraste de fase) donde se evalúan acrosomas, bolsas nucleares, piezas medias y colas así como la presencia y ubicación de las gotas citoplasmáticas (Bane 1961).. La cuantificación debe expresarse sobre todas las anomalías presentes ya que de esa manera se puede determinar su origen y la magnitud de la patología que las origina (incluyendo anomalías de la espermátogénesis, de la maduración espermática, etc. (Bane 1961), así como la presencia de defectos específicos; Barth y Oko 1989). Se ha intentado reemplazar la evaluación individual, mediante operador experto por instrumentos de tratamiento de imágenes (los llamados equipos ASMA) aunque no han aún dado los mismos resultados (Thurston y col.1999, entre otros)”

Hay algunas evidencias de que una gran proporción de espermatozoides con defectos en la cola son filtrados en la barrera como el cérvix y la unión utero-tubarica y se reducen esencialmente la cantidad de espermatozoides en el oviducto (Brogliatti y Bo, 2017).

Anormalidades espermáticas principales	Características
Cabeza piriforme	Indica defecto de la espermatogénesis
Microcefalia y macrocefalia	Asociados por una distribución desigual de los cromosomas. Generalmente se encuentran en proporción muy pequeña.
Vacuolas nucleares	Asociadas a defectos producidos durante el proceso de formación de la cabeza y condensación del DNA.
Condensación anormal de DNA	Se lo detecta con tinción de Feulgen.
Formas teratoides	Se encuentran en un 5-10 % en toros con espermatogénesis anormal. Generalmente asociados con daño testicular severo.
Defecto de Acrosoma	Se produce por defectos en la formación del acrosoma. En altos % puede ser heredable en Frisios y otras razas.
Cabezas sueltas	Producido por envejecimiento espermático o por alteraciones en la termoregulación espermática.
Decapitados	Genético. Gen recesivo
Pieza media distal doblada	Generalmente es un defecto generado en el

Cuadro 2 Anormalidades espermáticas principales I. Fuente: (Brogliatti y Bo, 2017).

	epidídimo.
Aplasia segmentaria de la pieza intermedia	Se produce por defectos en la formación de la pieza media. Se pueden encontrar algunos espermatozoides con este defecto en toros con semen normal.
Colas abaxiales, accesorias o múltiples	Es producido por defectos en la implantación de la cola. Hay casos raros de toros con 100 % de colas abaxiales sin tener reducción de la fertilidad.
Defecto Dag	Defecto heredable en la raza Jersey y posiblemente en la Hereford.
Cola corta	Defecto aparentemente heredable
Pieza principal doblada	Aparentemente se origina en el epidídimo
Pieza intermedia arqueada	Pueden ser por efecto de la tinción, raramente es un defecto "real".
Pieza principal doblada por shock hipotónico	Efecto de la exposición prolongada a la eosina-nigrosina.
Gota citoplasmática proximal	Asociado con toros que no han atravesado la pubertad. También se observan a los 7-10 días después del estrés en toros adultos.
Gota citoplasmática distal	Aparentemente no afecta la fertilidad
Células medusas	Se encuentran cuando hay disturbios severos de la espermatogénesis
Glóbulos blancos	Su presencia está asociada con procesos inflamatorios en epidídimo, ámpula, glándulas accesorias, pene o prepucio.

Cuadro 3 Anormalidades espermáticas principales II. Fuente: (Brogliatti y Bo, 2017).

Cabezas sueltas y espermatozoides decapitados como menciona Brogliatti y Bo, (2017): se puede encontrar espermatozoides decapitados en pequeño número en semen normal. Este defecto puede ser producido por el envejecimiento o por un defecto de implantación de la cola en la placa basa. Cuando se encuentra en mayor cantidad, está asociado con defectos en la termorregulación del testículo (toros gordos) y en estos casos es producido aparentemente, por un defecto en la espermatogénesis. Aunque este estudio es descrito en ganado bóvido se hace la comparación con los porcinos.

Henao y col. (2007) mencionan a Gamer y Hafez, (1996): El espermatozoide porcino se caracteriza por poseer una cabeza aplanada y oval, y una cola. La cola, como las

demás especies, está formada por el cuello, que une a la cabeza con los segmentos principal, medio, y caudal de la cola.



Espermatozoide normal.

Cabeza suelta.

Gota citoplasmática distal.

Figura 6 Espermatozoide con tinción. Fuente: (Henao y col. 2007).

Los espermatozoides son translucidos y virtualmente invisibles al microscopio de luz directa. Por lo tanto, se requiere el uso de colorantes o la provisión de un fondo oscuro para visualizarlos. La técnica de tinción en un solo paso, en donde se mezcla el colorante con el espermatozoide sobre un porta objeto, es la más recomendable porque todo lo que se encuentra en el semen puede ser observado (Brogliatti y Bo, 2017).

Una gota de semen se observa entre un porta y cubreobjetos en un microscopio con contraste de fase y con lente de 40x o de 100x con aceite de inmersión. Consultado en línea 3/Mayo/2018 en:

<http://www.ciap.org.ar/ciap/Sitio/Archivos/PROCESO%20DE%20ELABORACION%20DE%20DOSIS%20Y%20EVALUACION%20DE%20LA%20CALIDAD%20SEMINAL.pdf>

La evaluación morfológica en el laboratorio está basada en la microscopia de contraste de fases de preparados húmedos (espermatozoides fijados) y en la microscopia de luz de frotis coloreados. La evaluación de morfología rutinaria incluye la localización de anomalías presentes en los distintos sectores de cada espermatozoide (cabeza [incluyendo el acrosoma], nuca, pieza media, incluyendo la presencia de gotas

citoplasmáticas y cola). Se debe realizar un recuento sobre un número importante de espermatozoides, utilizando contrastación en el frotis delgado (Rodríguez, 2013).

Rodríguez (2013) menciona: “La cuantificación debe expresarse sobre todas las anormalidades presentes ya que de esa manera se puede determinar su origen y la magnitud de la patología que las origina (incluyendo anomalías de la espermatogénesis, de la maduración espermática, etc. (Bane 1961), así como la presencia de defectos específicos; Barth y Oko 1989).”

Hernández y Alemán (2008) mencionan: “El medio ambiente nocivo produce un aumento de las formas anormales de la cabeza, acrosoma, cuello y pieza intermedia, gota citoplasmática proximal y cola enrollada en espiral, señalándose un mayor porcentaje de anormalidades en verano y otoño, asimismo, uno menor en invierno y primavera, de allí pues que este aumento de las anormalidades por encima de los rangos normales establecidos para la especie, pueden interferir sobre la fertilidad de los verracos (De Serrano y col. 1989, Sánchez, 2000)”

Los frotis escalonados se colorean con HE o con la técnica de Papanicolau a los efectos de determinar la presencia y magnitud relativa de células extrañas. Entre las mismas encontramos las células epiteliales (de la uretra, pene, glándulas sexuales accesorias), las células espermatogénicas (espermátidas redondeadas, células gigantes), las células epiteliales de la rete testis o ductos eferentes (células medusa) las células epiteliales principales del epidídimo (células en bote), o inflamatorias (leucocitos, linfocitos, monocitos/macrófagos). Normalmente, la presencia de células epiteliales descamadas es un hallazgo común y sin relación con patologías, así como la presencia fortuita de algunas otras células arriba indicadas (Rodríguez, 2013).

Un aumento en el número de las mismas (especialmente de células espermatogénicas e inflamatorias) es una clara señal de procesos patológicos que exige su seguimiento. En casos donde los parámetros seminales se salen de los límites considerados normales, una nueva muestra seminal debe ser analizada, en algunos casos inmediatamente (hipoplasia testicular, procesos inflamatorios o sospecha de defectos específicos) y en otros en períodos relacionados a la sospecha en sí, como exigir reposo de una semana para sospechas de inmadurez espermática (gotas

citoplasmáticas proximales) o esperar una nueva onda de la espermatogénesis (dos meses por ejemplo en el cerdo) cuando se sospecha degeneración testicular o la inmadurez del epitelio seminífero (pubertad retardada) (Rodríguez, 2013).

Cuando se hace la evaluación final de la morfología espermática, se debe siempre hacer una evaluación global, teniendo en cuenta la problemática clínica. Hay que tener consideración de los datos cuantitativos (volumen, concentración, cantidad total de espermatozoides), así como los datos de calidad espermática (morfología espermática, presencia de células inflamatorias u otras células). En el cerdo, una especie seleccionada por su calidad seminal (la cual incide en forma importante en su fertilidad post-IA), se consideran parámetros normales de morfología cuando las anomalías de cabeza espermática no sobrepasan el 10% y cuando ninguno de los otros parámetros (acrosomas, pieza media, cola, gotas citoplasmáticas proximales) sobrepasan el 5% cada uno o el 10-15% del total (Rodríguez, 2013).

Rodríguez (2013) menciona “La presencia de defectos específicos de la espermatogénesis (generalmente hereditarios) que resulten en anomalías morfológicas típicas (como la presencia de vacuolas nucleares [“diadem defect”], el acrosoma plegado [“knobbed defect”], los espermatozoides decapitados, las colas cortas o mutiladas [“tail stump”], la cola no desplegada [“Dag defect”] o la pieza media en tirabuzón [“corkscrew defect”], ver Barth y Oko 1989) que se pueden ver ocasionalmente en verracos son defectos muy graves ya que interfieren con la fecundación y pueden ser esterilizantes, tales como el defecto de “colas cortas” descrito en los cerdos de la raza Yorkshire en Finlandia (Andersson y col. 2000, Sukura y col. 2002).”

Rangos y nivel de aceptabilidad para ciertos parámetros del semen de verraco*.

Rango

Aceptable (para IA) _Volumen del eyaculado (ml) 100-300

50_Numero total de espermatozoides (x10⁹) 10-100

10_Motilidad progresiva (%) 70-90

70_Anomalías de cabezas espermáticas (%) 2-5

5_Gotas citoplasmáticas proximales (%) 1-5

5_Defectos de acrosoma (%) 1-2

5_Anormalidades de pieza media (%) 2-5

5_Colas dobladas simples (%) 1-5

25_*No puede haber ni contaminación con sangre ni presencia de células inflamatorias.

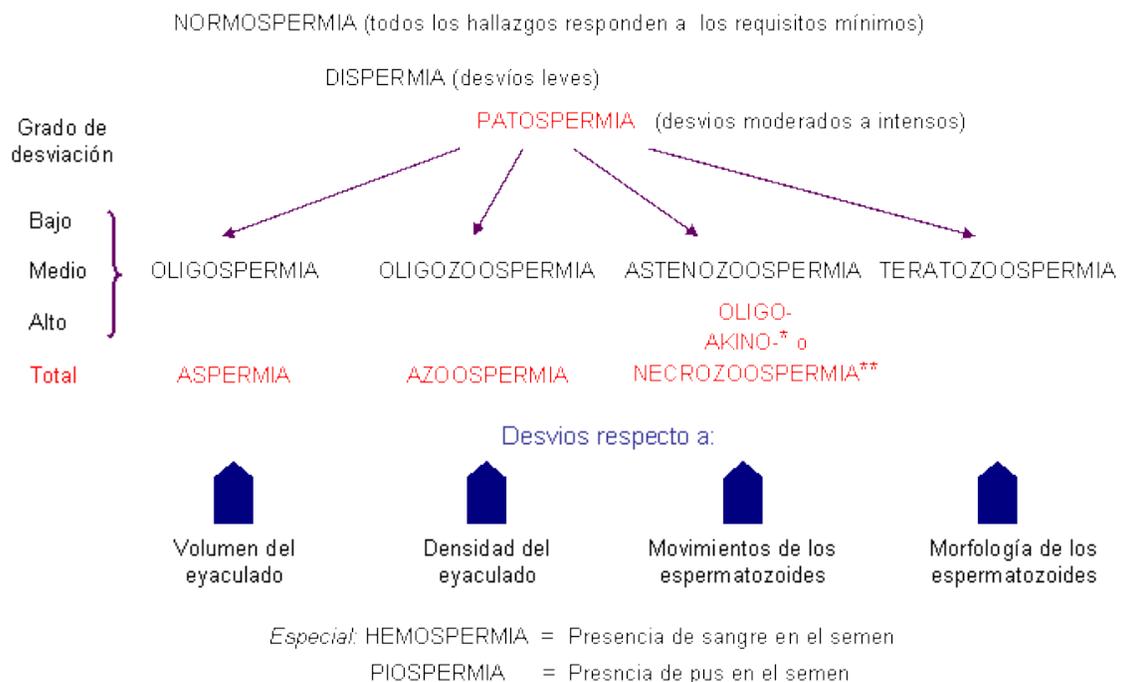
Cuadro 4 Rangos y nivel de aceptabilidad para ciertos parámetros del semen de verraco. Fuente: (Rodríguez ,2013)

Tipos y porcentajes promedio de anomalías localizadas en la cabeza, acrosoma, cuello y pieza intermedia, principal y terminal de la cola espermática en verracos usados para inseminación artificial (n= 960).

Ubicación de la patología	Tipo de anomalía	Porcentaje promedio
Cabeza	Microcefalia	40,0
	Macrocefalia	28,5
Acrosoma	Elongada	31,4
	Defectuoso	100,0
Cuello y pieza intermedia	Defecto Daga	19,5
	Curvada	38,2
Pieza principal	Inserción abaxial	42,3
	En látigo	31,4
	En lazo	18,9
	Enroscada	23,9
Pieza terminal	Doblada	25,7
	Enrollada	32,4
	Muñón	67,6

Cuadro 5 Tipos y porcentajes promedio de anomalías. Fuente: (Torretta y Wevar 2008).

Esquema de la evaluación de la morfología espermática según La Escuela Superior de Medicina Veterinaria (modificado)



* Todas las células inmóviles, pero que pueden recuperar su movimiento, espermatozoides sin teñir en el test de coloración supravital.

** Todas las células muertas, es decir, que no recuperan movimiento; todos los espermatozoides están teñidos en el test de absorción de colorantes.

Cuadro 6 Esquema de la evaluación de la morfología espermática I. Fuente: http://www.reprobiotec.com/congel_vivos.html Consultado en línea 25/Septiembre/2017.

Rodríguez (2013) menciona “La evaluación de la morfología espermática es, como se indicó anteriormente, un componente importante del espermograma y, por ende, de la evaluación clínica andrológica. La morfología espermática indica desviaciones de la espermatogénesis y la maduración epididimaria y sus resultados, convenientemente evaluados, son usados para eliminar reproductores con semen de baja calidad para

IA, en casos en los que éstos indiquen patologías genitales mayores (Rodríguez-Martínez y Larsson 1998)”

2.9 Colección del semen

Hernández y Alemán (2008) mencionan a Jorgensen y col. (2001), Swan y col. (2003), Cheny col, (2003): resulta claro que las diferencias en la calidad del semen está en dependencia de la zona geográfica, donde se incluyen los factores medioambientales y las diferencias genéticas y señala que la concentración espermática con morfología normal es significativamente más alta en invierno que en el verano.

La colección del semen debe hacerse en una sala de colección o en el corral del verraco en cuestión. La colección puede hacerse con vagina artificial (VA) o manualmente, ya sea con mano enguantada (el llamado método japonés) o introduciendo el pene en un cilindro de goma descartable (IMV, Francia). Normalmente se usa un potro de metal para la colección, al cual los verracos entrenados montan sin mayores problemas (Rodríguez, 2013).

En el caso de colección de semen para diagnóstico en campo, lo más indicado (y probablemente la única forma de colección) es usar una cerda en celo, de edad y tamaño corporal adecuados para el verraco. El semen se colecta en una bolsa de plástico montada en un termo o en un recipiente aislante de boca ancha (Rodríguez, 2013).

La apertura del recipiente se cubre y fija con gasa a los efectos de evitar el contacto de la secreción gelificante de las glándulas bulbo uretrales con el resto del eyaculado. Se deja que el verraco entre al área de colección y se familiarice con el ambiente y el potro de colección, una vez que el verraco haya montado en forma correcta el potro, en caso de usar VA se deja que el macho haga movimientos de búsqueda con su pene y que le permite penetrar la VA con una buen cantidad de aire en su cámara (mitad de agua templada y aire), a partir de cuyo momento se comienza a pulsar un manguito de

goma acoplado a la válvula de la VA de modo que la presión dentro de la VA aumente y pulse rítmicamente (Rodríguez, 2013).

En caso de usar el método japonés, se permite también que el verraco haga movimientos de búsqueda de la vulva o por debajo del potro y cuando los movimientos de búsqueda disminuyen, se atrapa el glande del pene (porción espiralada) con la mano y se ejerce fuerte presión manual continuada sobre el espiral. En el caso de usar un cilindro descartable de goma se coloca el glande del pene dentro del cilindro y se aplica una presión moderada con la mano sobre el cilindro. La presión aplicada sobre el glande del pene (ya sea con VA, cilindro o mano) provoca la eyaculación que demora más o menos entre 5 y 15 minutos dependiendo del verraco (Rodríguez, 2013).

Como ya se ha descrito, el eyaculado del cerdo es fraccionado y consiste de una primera fracción que en principio solo contiene secreción de la próstata y algo de gel de las glándulas bulbo uretrales (acuosa, translúcida a opaca en color). La segunda porción del eyaculado, fácilmente identificable por su color blanco a lechoso, se llama fracción rica en espermatozoides a la que le sigue otra fracción (post-espermática) donde el número de espermatozoides disminuye rápidamente y donde la secreción creciente de las vesículas seminales y de las glándulas bulbo uretrales dominan (la fracción post-espermática vuelve a ser translúcida u opaca, dependiendo del volumen de la secreción bulbo uretral que contenga (Rodríguez, 2013).

En muchos verracos se nota un intervalo entre la primera y segunda fracción, lo cual a veces lleva a detener la colección pensando que ya ha eyaculado. Esto no debe permitirse ya que lleva a la colección incompleta del eyaculado, con muy bajo volumen y prácticamente libre de espermatozoides. El volumen del eyaculado varía normalmente dentro de un rango importante (100 a 300 ml) pero si el volumen colectado es menos de 50 ml y la concentración espermática muy baja, hay razón para pensar que la eyaculación (colección) no ha sido completa y debe repetirse (Rodríguez, 2013).

La presión manual (o la presión de la VA) sobre el espiral peneano debe mantenerse durante toda la eyaculación. Sólo se disminuye la presión cuando el verraco intenta hacer nuevos movimientos de búsqueda, lo que marca que la eyaculación ha

terminado. Si esto no se hace, el verraco comenzará una nueva onda de eyaculación, algo que algunos consideran incorrectamente como verracos que eyaculan dos fracciones ricas en espermatozoides en su eyaculado. El esperma colectado debe evaluarse lo más rápidamente posible luego de la colección, aunque puede sin riesgo alguno mantenerse en el termo de colección hasta una hora luego del muestreo (Rodríguez, 2013).

Orozco y col. (2004) menciona a Watson (2000), Holt (2005), y Meyers (2005): El semen porcino difiere de otras especies de animales domésticos, ya que es producido en gran volumen, pero es extremadamente sensible al choque térmico por frío.

2.10 Ritmo de colecta

Arisnabarreta y Allende (2017) mencionan a Decuadro-Hansen (1999): El ritmo de colecta tienen una relación directa con el volumen y la concentración espermática del eyaculado. El eyaculado del verraco tiene la particularidad de movilizar una gran parte de las reservas, acompañado de una disminución del volumen y de la concentración, así como el aumento de aglutinación y del porcentaje de anomalías (gota citoplasmática). Por lo tanto, es criterioso no someter al verraco a un ritmo de colecta elevado, con el propósito de no agotar las reservas, ni espaciar demasiado las mismas para mantener un estímulo constante a la producción de semen.

2.11 Contaminación durante la recolección

La contaminación obtenida tras la recogida del semen es consecuencia de la contaminación procedente de diferentes puntos:

El prepucio es probablemente la mayor fuente de contaminación debido a la microflora presente, restos fecales, orina o semen. Los pelos del prepucio deben ser cortados periódicamente. Previo a la recolección es determinante la limpieza y secado del prepucio, y el vaciado del saco prepucial con un guante diferente al que se utilice para la recolección, Por ello es recomendable la utilización de la "técnica del doble guante".

Zona de recogida: Es recomendable realizar la extracción en una área de uso exclusivo, que debe mantenerse limpio y desinfectado para evitar contaminación ambiental de la muestra. Debe establecerse un protocolo de limpieza y desinfección en local que minimice el riesgo de contaminación durante la recolección.

Método de recolección: mantener el pene perpendicular al macho durante el proceso de recogida para minimizar la contaminación con fluidos prepuales. La recolección debe limitarse a la fracción espermática o fracción rica. La ausencia de fracción pre-espermática y de tapioca reduce la carga bacteriana. Se debe trabajar con material desechable. Consultado en línea el 7/Marzo/ 2018 en:

<http://www.acromax.net/vistas/noticia/Contaminacion-de-las-dosis-seminales-2.aspx>

La contaminación en el semen es muy común e inevitable como lo menciona Acosta (2015) citando a Acosta (2011): Existen muchos factores que pueden influir directamente sobre la calidad y criopreservación del semen porcino, dentro de ellos uno de los más importantes es la contaminación por microorganismo.

Acosta (2015) menciona a Bresciani y col. (2014): la contaminación puede provenir del propio semental por diferentes vías o ser de origen ambiental, en este caso existen diversas fuentes como la piel (de humanos o cerdos), instalaciones y equipo de colección.

Los gérmenes aislados en frecuencia descendente fueron: *Escherichia coli* (67.5%), *Proteus spp* (52.5%), *Staphylococcus spp* (10%), *Klesiella spp* (2.5%) y gérmenes anaerobios (2.5%); los sementales de la raza Landrace son los más afectados (Fernández y col. 2001)

Por lo que se recomienda el uso de antibióticos en caso de ser diluido el semen para su posterior utilización.

2.12 Genotipo

Henao y col. (2007) mencionan a Levis y col. (2002), Pruneda, (2005): Los Yorkshire y Large White a edades tempranas, presentan mayor libido y habilidad reproductiva que los Hampshire y Duroc; y los porcinos híbridos tienen mejor comportamiento reproductivo que los de razas puras. Los machos Pietrain, presentan mayor sensibilidad al estrés por alta frecuencia de eyaculación.

2.13 Registros de fertilidad

Los datos de fertilidad de un reproductor a evaluar andrológicamente son de suma importancia. Éstos determinan, en última instancia, su normalidad basada en el nivel de fertilidad registrado, llegando a clasificarle como sub-fértil o, en casos graves, como de infertilidad permanente y completa (esterilidad). Sin embargo, la fertilidad de un verraco es difícil de medir en forma adecuada. En cerdos, como en la mayoría de las especies, en condiciones de monta natural, el número de montas por celo es alto, aumentando por ende la fertilidad por número de hembras. En especies políticas como el cerdo, se prefiere utilizar el concepto de prolificidad utilizando datos de tasas de camada o parición por celo o servicio/IA (Rodríguez ,2013).

Cuando se utiliza monta controlada o IA para efectivizar el uso de los machos, la medición de la fertilidad depende primariamente del número de hembras (Rodríguez ,2013).

III-MATERIALES Y METODOS

3.1-Localización del área de estudio

El estudio se realizó en las instalaciones porcícolas y en el laboratorio de diagnóstico de la UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO UNIDAD LAGUNA en el municipio de Torreón Coahuila. Este municipio forma parte de la comarca lagunera, misma que se ubica entre los paralelos 25° 42' y 24° 48' y de latitud norte; los meridianos 103° 31' y 102° 58' de longitud oeste ;altitud entre 1 000 y 2500 msnm. Colinda al norte con el estado de Durango y el municipio de Matamoros y Viesca; al sur con el municipio de Viesca y el estado de Durango; al oeste con el estado de Durango. Predomina un clima muy seco semicálido (INEGI, 2009).

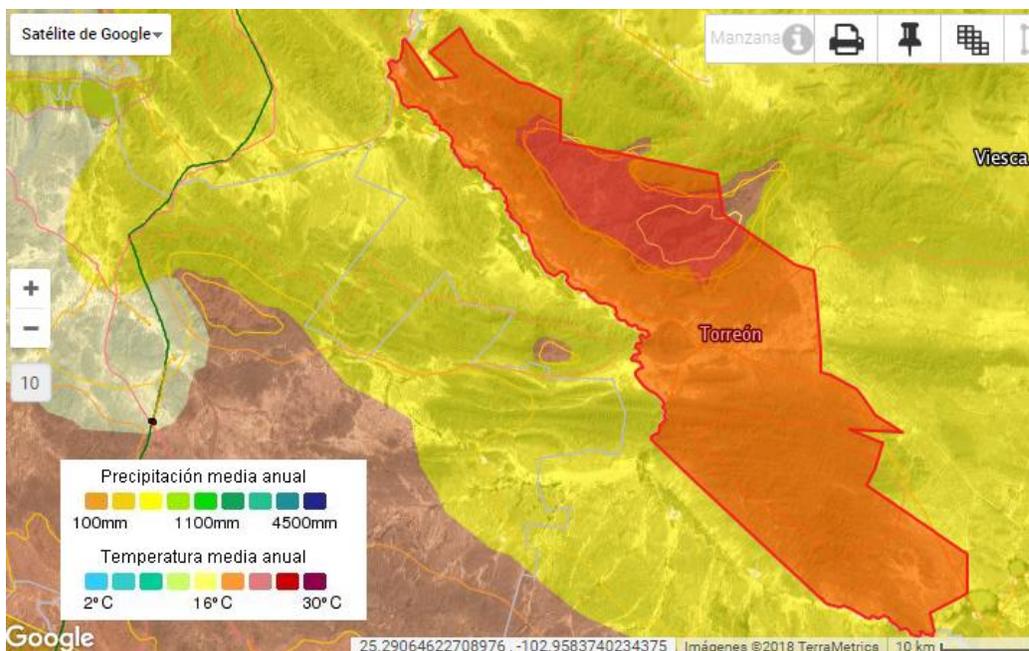


Figura 7 Mapa de Torreón. Fuente:

<http://www.beta.inegi.org.mx/app/mapa/espacioydatos/default.aspx?ag=05035>

3.2 Materiales

- 24 portaobjetos
- 24 cubreobjetos
- 24 gasas estériles de 10x10cm
- 5 pipetas de 5 ml
- 24 ligas 24 bolsas desechables
- 1 frasco de azul de metileno
- 24 pares de guantes de látex medianos desechables
- 1 frasco recolector de semen (artesanal)
- 1 microscopio
- Prostaglandinas
- 1 estuche con refrigerante
- 1 hielera chica
- 24 jeringas de 5 ml
- 1 jaula de manejo

3.3 Método

1. Colocar una bolsa desechable en el interior del rasco recolector se semen
2. Colocar una gasa estéril de 10x10 cm se fija con una liga elástica
3. Dosificar una dosis de 3 ml de prostaglandinas en una jeringa de 5ml
4. Introducir al semental en la jaula de manejo
5. Aplicación de 3ml de prostaglandinas en la tabla del cuello de semental
6. Esperar de 5 a 10 minutos para que haga el efecto la prostaglandina
7. Se realiza la estimulación del prepucio de 10 a 15 minutos hasta que desenfunde el semental
8. Se presiona el glande y se simulan las contracciones vaginales de la hembra
9. Se desecha la fracción pre-espermática
10. Se dirige el glande hacia el frasco recolector y se procede la recolección
11. Una vez obtenida el eyaculado rico en espermatozoides se procede a tomar una muestra con una pipeta de 5ml
12. Se coloca una gota de semen en un portaobjetos
13. Se le aplica una gota de azul de metileno con una pipeta
14. Se coloca un cubreobjetos sobre la gota de semen con tinción
15. Se transporta en una hielera chica y se transporta al laboratorio
16. Se coloca el portaobjetos en el microscopio y se observa a 40 x
17. Se realiza la observación de 100 espermatozoides en campos libres de aglutinación espermática
18. Se identifican los cambios morfológicos de los espermatozoides

3.4 Técnica utilizada

Técnica japonesa o de mano enguantada

IV-RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sin cambios morfológicos aparentes (scma): espermatozoides que aparentemente no presentaban cambios morfológicos.

Decapitados: espermatozoides que no presentaban cabeza solo cola.

Cabezas: espermatozoides que no presentaban cola cabezas sueltas.

4.1 Calendario de extracción seminal

NOVIEMBRE-DICIEMBRE 2017

	S	D	L	M	M	J	V
SEMANA 1	11	12	13	14	15	16	17
SEMANA 2	18	19	20	21	22	23	24
SEMANA 3	25	26	27	28	29	30	1
SEMANA 4	2	3	4	5	6	7	8

EXTRACCION DE SEMENTAL 1 Y 2



EXTRACCION DE SEMENTAL 3 Y 4



Cuadro 7 Calendario de extracción seminal.

4.2 Promedio de resultados

Tabla comparativa de promedio individual

SEMENTAL	SIN CAMBIOS MORFOLOGICOS APARENTES (SCMA)	DECAPITADOS	CABEZAS	TOTAL

SEMENTAL 1	96.83%	0.33%	2.83%	99.99%
SEMENTAL 2	98.80%	0.40%	0.80%	100%
SEMENTAL 3	98%	1.25%	0.75%	100%
SEMENTAL 4	93.75%	5%	1.25%	100%

Cuadro 8 Tabla comparativa de promedio individual.

4.3 Tabla comparativa de promedio por grupos

GRUPO 1: Sementales con 2 extracciones a la semana

GRUPO 2: Sementales con 1 extracción a la semana

GRUPO	SIN CAMBIOS MORFOLOGICOS APARENTES (SCMA)	DECAPITADOS	CABEZAS SUELTAS	TOTAL
GRUPO 1	97.727%	0.363%	1.909%	99.99%
GRUPO 2	95.875%	3.125%	1%	100%

Cuadro 9 Tabla comparativa de promedio por grupos.

4.4 DISCUSIÓN

En este caso se trató de observar si había más cambios morfológicos en sementales que se les realizaba la colecta dos veces por semana que los sementales con una sola extracción semanal. Pero los cambios se pueden observar tanto en el grupo 1 como en el grupo 2 esto sucede porque si se hacen más extracciones en la semana se agotan las reservas espermáticas y a su vez se observa mayormente la aglutinación, y por otra parte en los sementales del grupo 1 se observan cambios morfológicos por que los espermatozoides se tornan viejos porque el libido disminuye por lo tanto esto resulta en una ausencia de recolección del semen por el estrés al que es sometido el semental pero sobre esto influyen varios factores como el clima o la época del año o incluso la manipulación del semen durante el análisis.

La extracción seminal en ambos grupos se realizó como lo indica Hernández (2009): La colecta del semen se radicalizó dos veces por semana mediante el método de mano enguantada..

Rugeles y colaboradores (2013) menciona a Gadea (2003), Martínez y col. (1998): Haciendo contracciones con la mano sobre el glande del pene.

El eyaculado se recogió y filtro con un vaso de precipitado con doble gasa, para eliminar partículas contaminantes y secreciones de la glándula de Cowper. Con algunas modificaciones en este caso no se utilizó un maniquí solo una jaula de manejo y el eyaculado se recogió en un vaso común adaptado con una bolsa plástica desechable.

La oxitocina y la prostaglandina-F₂alfa (PG₂a) estimulan las contracciones de los músculos del tracto genital masculino. La aplicación de oxitocina o de un análogo de la PG₂a (cloprostenol) y su relación en la respuesta al estrés y a los parámetros de la recolección (Ungerfeld y col. 2017).

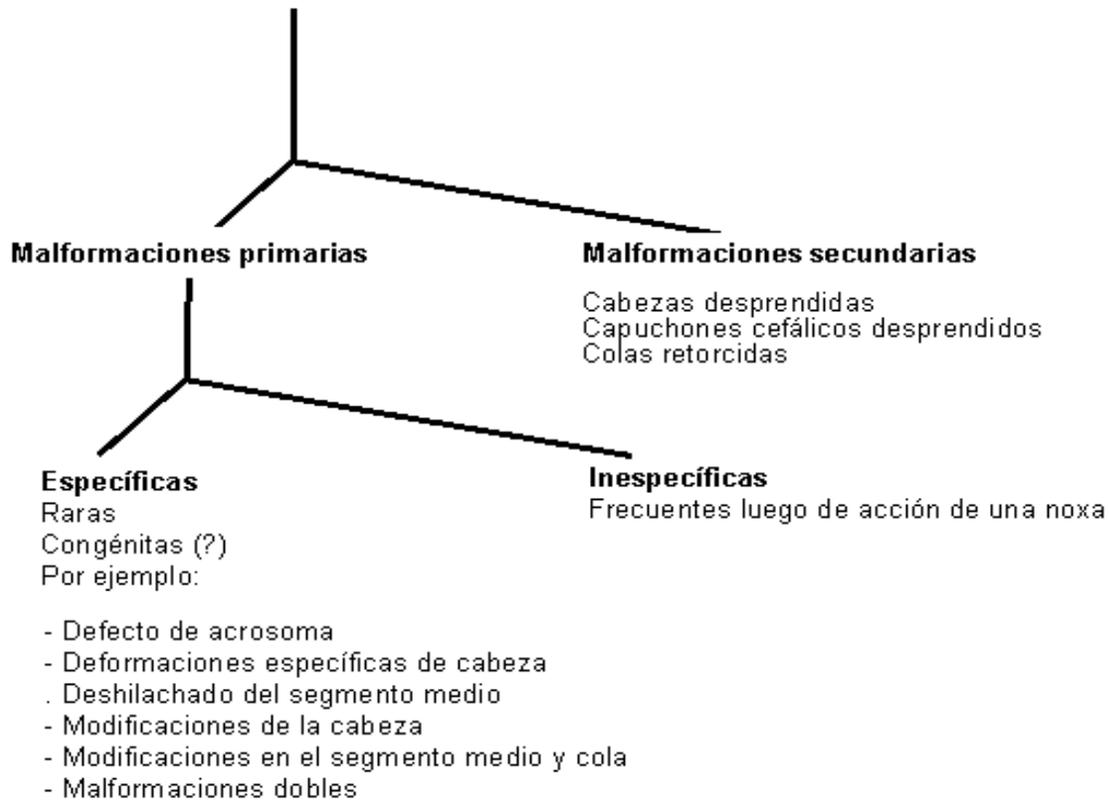
Por lo que se tomó en cuenta la aplicación de un análogo de PG₂a como lo indica Ungerfeld y col. (2017) para obtener de manera más eficiente los eyaculados de los sementales, aunque en algunos casos no se obtuvo el resultado esperado.

4.5 Identificación de cambios morfológicos mediante tinción con azul de metileno
inmediatamente después de la recolección se determinó en el laboratorio la morfología con una pipeta graduada de 1ml se colocó un gota de semen sobre un portaobjetos y también una gota con una pipeta graduada de 1 ml azul de metileno sobre la gota posteriormente se cubrió con un cubreobjetos y se observó mediante la técnica de contraste de fase con el microscopio a 40x y posteriormente si se encontraba alguna variación en la morfología espermática a 100x la observación se realizó a 100 espermatozoides que estaban en campos libres de aglutinación no se encontraron cambios morfológicos importantes como se esperaba solo cambios morfológicos mecánicos como colas si cabeza y cabezas desprendidas.

La evaluación de la funcionalidad y morfología del esperma permite discernir entre eyaculados de alta o baja calidad, pero no proporciona información predictiva detallada con respecto a la fertilidad in vivo. Los desarrollos actuales en modelos estadísticos han ayudado a llevar a cabo estudios reproductivos, pero su mayoría limitadas al tamaño del conjunto de datos (Elmi y col. 2018).

Esquema para la evaluación de la morfología espermática según Leidl y col. (1971, modificado)

- A. Espermatozoides normales.
 B. Espermatozoides inmaduros con gota protoplasmática.
 C. Espermatozoides de forma patológicas.



Cuadro 10 Esquema para la evaluación morfológica espermática II. Fuente: http://www.reprobiotec.com/congel_vivos.html Consultado en línea 25/Septiembre/2017.

4.6 Las patologías espermáticas

Las patologías espermáticas también pueden ser categorizadas según su origen en primarias cuando se producen en la espermatogénesis, secundarias cuando se producen después que los espermatozoides abandonan el testículo y terciarias provocadas por el método de obtención, de evaluación o de conservación del semen (Torreta y col. 2010)

Anormalidades Primarias

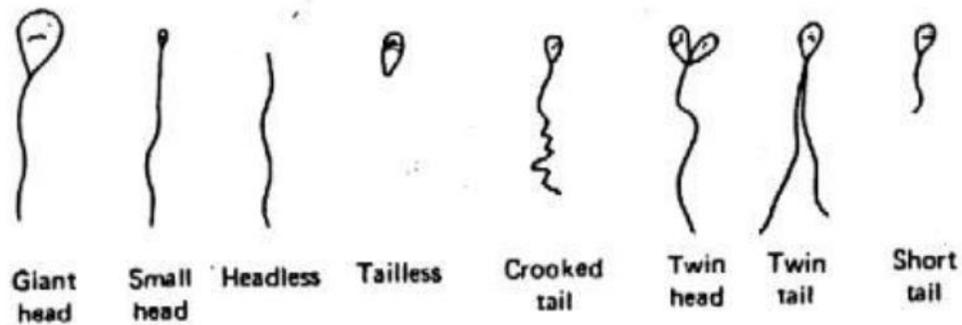


Figura 8 Anormalidades primarias. Fuente: (Wilde, 2011).

Anormalidades Secundarias

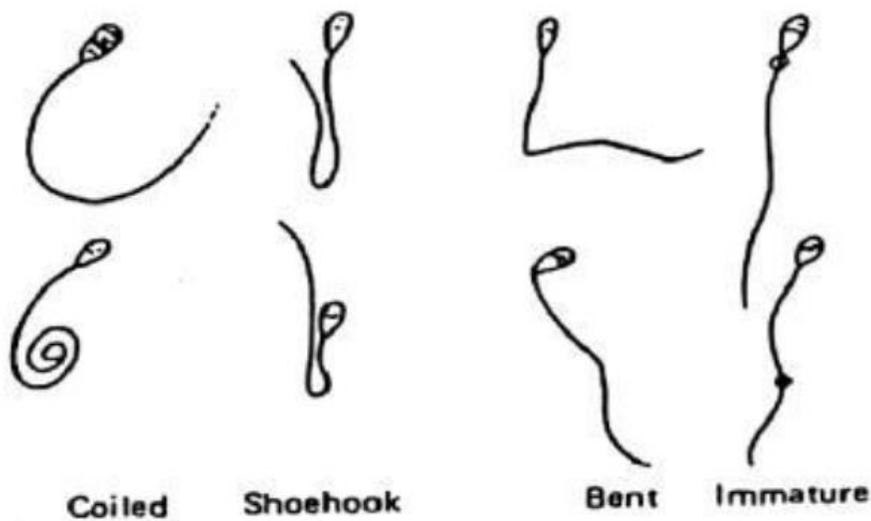


Figura 9 Anormalidades secundarias. Fuente: (Wilde, 2011).

Estas anomalías expresan el grado de amplitud del proceso patológico germinativo, que reducen tanto la calidad como en cantidad el potencial espermatogénico. Las anomalías secundarias, que se desarrollan después de la formación del nemaspermo, tales como cabezas desprendidas y cola doblada (De Serrano y col.1989).

Las patologías espermáticas también pueden ser categorizadas según su origen en primarias, cuando se producen durante la espermatogénesis; secundarias producidas después de que los espermatozoides abandonan el testículo terciarias provocadas por el método de obtención, de evaluación o conservación del semen (Torreta, Rabaglino y Ferrero 2010).

Cabezas sueltas y espermatozoides decapitados como menciona Brogliatti y Bo, (2017): se puede encontrar espermatozoides decapitados en pequeño número en semen normal. Este defecto puede ser producido por el envejecimiento o por un defecto de implantación de la cola en la placa basal. Cuando se encuentra en mayor cantidad, está asociado con defectos en la termorregulación del testículo (toros gordos) y en estos casos es producido aparentemente, por un defecto en la espermatogénesis. Aunque este estudio es descrito en ganado bóvido se hace la comparación con los porcinos.

Acosta y colaboradores (2016):”Particularmente Kubus (2011) selecciona reproductores con una alta producción de dosis de excelente calidad espermática, con el propósito de elevar la fertilidad y prolificidad del rebaño. En este sentido Martin Rillo et al (1993) sugiere clasificar al semental de acuerdo a la calidad seminal y seleccionar a los excepcionales para mejorar resultados reproductivos, aunque reconocen que este método era poco considerado y explotado, debido a la variedad de factores que podían influir directamente sobre la calidad del semen porcino.”

Roa y colaboradores (2005) menciona a Córdova y col. (1997), Córdova y col. (1999), Córdova y col. (2000): Los espermatozoides del ganado porcino son extremadamente sensibles inmediatamente después que son eyaculados junto con el plasma seminal. Sin embargo, la fracción rica en espermatozoides es más resistente que el eyaculado completo.

Rodríguez (2013) menciona “Desafortunadamente, cuando los parámetros morfológicos están dentro de límites aceptables, la morfología de la muestra seminal no nos provee de información suficiente para juzgar el nivel esperado de fertilidad del semen luego de la IA, independientemente si ésta es juzgada subjetivamente o usando un equipo computarizado (ASMA) ya que en muchos casos un número total de

espermatozoides alto en la dosis, es capaz de compensar, al menos parcialmente, por un alto porcentaje de anomalías morfológicas (Rodríguez-Martínez y Larsson 1998)”

4.7 Temperatura del ambiente

La temperatura del ambiente también influye sobre la espermatogénesis ya se las temperaturas bajas o como menciona Henao y col. (2004): La temperatura ambiente elevada que produce el estrés térmico y que en los machos limita la capacidad de termorregulación testicular necesaria para el desarrollo normal de la espermatogénesis.

No se descarta la posibilidad de presentación de un efecto nocivo de la alta temperatura y humedad relativa sobre la espermatogénesis generando un aumento en el porcentaje de anomalías espermáticas (Henao y col. 2004).

La temperatura ambiente puede ser corregidas en los modernos sistemas de producción porcina (Poto y col. 2000).

Esto sin incluir el posible estrés que pueden sufrir los sementales ante las bajas temperaturas.

Hernández y Alemán (2008) mencionan a Colenbrander (1993), Le Dividich (1996): Señalan que para un buen desarrollo de la espermatogénesis en el verraco se requiere una temperaturas inferiores a la corporal, donde señalando como límite máximo recomendado 29 a 30 °C, inclusive varios días seguidos con esta temperatura máxima desencadenan el síndrome de sufrimiento testicular, lo que trae consigo disminución del número de espermatozoides en el eyaculado, disminuye la motilidad, además ocurre un aumento del porciento de anomalías.

Henao y colaboradores (2007) mencionan a Briz y col. (1995), Rozeboom, (1999), Fernández y col. (2001): Los tipos de aglutinación espermática pueden ser: cabeza a cabeza, cola a cola o cabeza a cola, y ocurre cuando los espermatozoides entran en contacto con: bacterias, hongos, esteroides o por fallas al momento de realizar las diluciones. La *Escherichia coli* con sus lectinas combinadas con carbohidratos de la membrana espermática forman glicoproteínas y causan aglutinación.

4.8 Grado de aglutinación

El grado de aglutinación suele medirse en una escala de 0 a 3. El grado 3 corresponde a más de un 30-40% de espermatozoides aglutinados (Córdova y col. 2015).

Vargas, Kerns, y Rothschild (2018) sugiere que para mejorar la calidad de las extracciones seminales es importante y significativa la temporada y las fases lunares en las características del semen del verraco sugiere que para maximizar la productividad de los modernos sistemas de producción de cerdos, la determinación de un programa de recolección en algunas temporadas en relación con la fase lunar puede ser ventajoso.

IV-CONCLUSION

No se encontraron cambios morfológicos los únicos cambios morfológicos encontrados están clasificados como cambios morfológicos mecánicos los cuales fueron espermatozoides decapitados (solo colas) y cabezas aisladas sin cola.

El desprendimiento de colas de colas de origen secundario o terciario.

Como lo menciona Torreta, Rabaglino y Ferrero (2010) Existen variaciones individuales entre verracos en cuanto al tipo y numero de patologías espermáticas observadas en su semen fresco.

La aglutinación de espermatozoides fue muy visible esto pudo haber pasado por múltiples factores como el estrés térmico o por la contaminación de bacterias en las muestras obtenidas.

En algunas extracciones no se obtuvo la muestra esto pudo ser por el estrés térmico ya que en las últimas fechas de extracción se presentó temperaturas bajas en la región ya que se aproximaba el invierno.

Cabe mencionar que se observan menos cambios morfológicos en el grupo que se realizaban las extracciones 2 veces a la semana que los que solo se les realizaba 1 vez a la semana.

V-LITERATURA CITADA

1. Acosta, M. J. 2015. Evaluación de la calidad higiénica de las dosis seminales elaboradas para inseminación artificial. Revista Computadorizada de Producción Porcina. 22(4):204.
2. Acosta, M.J. Rodríguez, D. Torres, G. y Reyes Z. 2016. Evaluación de la fertilidad de sementales porcinos. Revista Computadorizada de Producción Porcina. 23(3):81.
3. Aksoy E. Aktan T. Duman S. Cuse G. 2012. Morphology of spermatozoa is an important factor for a successful fertilization and early embryonic development in assisted reproductive techniques. Int. J. Morphol. 30(4):1554
4. Arisnabarreta E. y Allende R. 2017. Manual de inseminación artificial en porcinos. CIAVT. Buenos Aires. Argentina. p.29.
5. Batista, R. Ceiro, F. Grimon, M. Legra, D. Aguilera, I. Brea, O. y Neira, S. 2007. Evaluación del Porciento de fertilidad en sementales con uso de semen porcino refrigerado en la granja Integral Palmas Altas. Revista Electrónica de Veterinaria. 8(6):2.
6. Benítez, W. y Sánchez, M. D. 2003. Aspectos generales de la producción porcina tradicional. Estudio FAO producción y sanidad animal. Pp:4-5.
7. Bielas W. Nizanski W. Nicpon J. Nicpon J. E. Partyka A. Mordak. Nowak and Ciaputa R. 2017 Effect of zearalenone on circulating testosterone concentration, testicular and epididymal morphology and epididymal sperm characteristics in wild boars. Theriogenology. 102:64.
8. Brogliatti, G. y Bó, G. 2017. Introducción a la calidad seminal. Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Aula Virtual. Citado en línea 11/09/2017:
<http://www.fca.proed.unc.edu.ar/mod/book/view.php?id=5335&chapterid=896>
9. Carrero, G. Whyte, J. Sandoval, L. 1989. Manual de producción Porcicola. Centro Latinoamericano de Especies Menores. Actualización Espinoza, C. Castaño, G. 2005. pp.9-28.

10. Córdova I. Pérez G. Méndez H. Villa M. y Huerta C. 2015. Obtención, evaluación y manipulación del semen de verraco en una unidad de producción mexicana. *Revista Veterinaria*. vol.26.no.1.p.72.
11. De Mercado, D. 2011. Caracterización de la congelabilidad y mejora de los diluyentes de criopreservación espermática en porcino ibérico. Memoria para optar al grado de Doctor. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria. pp.38-42.
12. De Serrano G. Fuentes A. Valle A. y Regueiro C. 1989. Estudio de las anomalías espermáticas de los verracos en relación con raza y época. *Zootecnia Tropical*. 7(1-2):1.
13. Del río, M.J.L. 2010. El cerdo. Historia de un elemento esencial de la cultura castellana en la conquista y colonización de América (siglo XVI) Universidad de Cádiz. España. pp.13-17.
14. Del Valle R. 2017. Evaluación de la calidad espermática de sementales porcinos utilizados en la monta natural. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 18(10):2.
15. Elmi, A. Banchelli, F. Barone, F. Fantinati, P. Ventrella, D. Forni, M. and Bacci, M. 2018. Semen evaluation and in vivo fertility in a Northern Italian pig farm: Can advanced statistical approaches compensate for low sample size? An observational study. *Animal Reproduction Science*. 30(40):2.
16. Fernández E. Lazo L. Arreondo C. y Brito A. 2001. Estudio bacteriológico del semen de porcino. Valoración: preliminar del efecto de la lectina de *Escherichia coli* en la aglutinación espermática. *Revista Salud Animal*. 23(2)1.
17. Gadea J. Selles E. Tomas P. y Ruiz. 2001. El valor del análisis seminal porcino en las condiciones de explotación comercial. *ITEA*. 12:829-831.
18. Gasa J. y López-Vergé, 2015. Iniciación a la producción y manejo del ganado porcino. Breve manual de inmersión para estudiantes de veterinaria. Servei de Publicacions. Universidad Autónoma de Barcelona. p.15.
19. Hazmi, A. Junaidi, A. and Honaramooz, A. 2018. Optimization of culture conditions for short-term maintenance, proliferation, and colony formation of porcine gonocytes. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 8(9):2.
20. Hernández, D. 2009. Evaluación de un nuevo diluyente para semen porcino. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 10(4):3.

21. Hernández, J. L. D, alemán, R., .2008.Efecto de la época del año en algunas características del eyaculado de diferentes genotipos porcinos. Revista Electrónica de Veterinaria.9(11-12):3-6.
22. Henao F. Días F. Valencia M. y Pérez B.2007.Evaluación de la calidad seminal en los porcinos. Porcicultura Colombiana.no.109. pp.3-5.
23. Henao R. G. Trujillo A. L. Buritica H.M. Sierra P. I. Correa L. G. y González B.O. 2004. Efecto del clima sobre las características seminales de porcinos en una zona de bosque húmedo tropical. Revista Facultad de Agronomía. Colombia.57(2):2-9.
24. Instituto Nacional de Estadística y Geografía.2009. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Torreón Coahuila. p.2.
25. KUBUS S.A.2010.Manual de inseminación artificial porcina. Mainzer Producción Grafica. Las Rozas Madrid España.pp.12-13.
26. Giuffra E. Kijas J. Amarger V. Carlborg O. Jeon J. and Andersson L.2000. The Origin of the Domestic Pig: Independent Domestication and Subsequent Introgression.Genetics Society of America.154:1785.
27. González A. Acosta S. Williams S. y Crudeli G.2004.Inseminación Artificial en Porcinos: "Variación en tiempo y método de entrenamiento en verracos de diferentes edades en Noroeste Chaqueño. Informe Preliminar". Universidad Nacional del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas.34:1.
28. González, L, Fischman, M, Boquet, M, Acerbo, M, Miguez, M, Cisale, H, Ferrari, M. 2013. Boar semen: complementary techniques for its evaluation, In Vet.15(1-2):38.
29. González, V., Quintero, M., López, Brea., Estesó, M., Fernández, S., Rubio, G., Mejía, S., González, M., León, A. y Bohórquez, C. 2008. Caracterización morfométrica de la cabeza del espermatozoide porcino mediante análisis computarizado (resultados preliminares) Revista Científica.18(5):570.
30. Li, M. Tian,S. Yeung, C. Meng,X. Tang,Q. Niu,L. Wang,X. Jin, L. Ma,J. Long,K.Zhou,C. Cao,Y. Zhu,L. Bai,L. Tang,G. Gu,Y. Jiang,A. Li,X. and Lic,R.2014. Whole-genome sequencing of Berkshire (European native pig) provides insights into its origin and domestication. Scientific Reports. 4678(4):.1.

31. Mattiello S. 1998.El proceso de domesticación. Obiettivi y Documenti Veterinari. Instituto de Zootécnica, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Estudios de Milán.7(8):1.Traducción: Breton A. 2013.Sitio Argentino de Producción Animal.
32. Orozco, M. G. Benitez, J.A. Navarrete, R. y Murray J. 2014. Efecto de la temperatura sobre la capacitación espermática de semen congelado y descongelado de cerdos. Revista Computadorizada de Producción Porcina.21(2):156.
33. Peinado B. Poto A. Gadea J. y Ruiz S. 1998. Estudios preliminares en la crioconservación de espermatozoides porcinos de raza chato murciano. Archivos de zootecnia.47(178-179):308.
34. Pipan M. Mrkun J. Strajn B. Pavsic K. Kos J. Pisljar A. and Zrimsek. 2017. The influence of macro- and microelements in seminal plasma on diluted boar sperm quality. Acta Vet Scand. 59(11):1.
35. Poto A. Peinado B. Rosique M. Martínez M. y Barba C. 2000. Comportamiento del chato murciano frente maniquí en la sala de extracción de semen, estudio preliminar de la libido. Archivos de Zootecnia.49(186):189.
36. Quintero, M., González, V., López, B., Fernández, S., Carvalho, C., Mejía, Silva, y León, A... 2009. Valoración morfométrica de la cabeza del espermatozoide del cerdo doméstico según su edad Revista Científica, 19(2): 154.
37. Roa N. Tamasaukas R. Silva A. y Sánchez J. 2005. Criopreservación de semen suino en Venezuela. Revista Electrónica de Veterinaria.4(5):6.
38. Rodríguez M., H. 2013. Evaluación de la calidad seminal en el verraco. Facultad de Medicina Veterinaria y Ciencia Animal, Universidad Sueca de Ciencias Agrícolas (SLU), Uppsala, Suecia. pp.2-12.
39. Rodríguez P. Franco E. y Jiménez C. 2008. Estandarización de la prueba para espectrofotometría en la medición de concentración de semen bovino, equino, porcino, ovino y canino. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.55(1):23.
40. Rodarte C.L. 2011. Comportamiento, Manejo y Bienestar del Cerdo. Departamento de Etología y Fauna Silvestre. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. p.32.

41. Rugeles P. C. Caicedo T. R. Almentero S. C. Linares A.J. Vergara G.O. 2013. Vitalidad se semen porcino refrigerado con diluyente MRA®. Nota técnica Revista Científica.13(3):207.
42. Torreta M. E. Rabaglino M.B. Ferrero S. 2010. Caracterización cuali-cuantitativa de patologías espermáticas estudio comparativo de incidencia de anomalías espermáticas en semen porcino fresco y refrigerado. Revista Electrónica de Veterinaria.11(11):5-18.
43. Torretta, M. E. y Wevar, C. 2008. Estudio de morfología espermática en semen de verracos usados en inseminación artificial Revista Argentina de Producción Animal. 28(1):160.
44. Ungerfeld R. Casuariaga D. Giriboni J. Freitas de Melo A. Silveira P. Brandao F. 2017. Administration of cloprostenol and oxytocin before electroejaculation in goat bucks reduces the needed amount of electrical stimulation without affecting seminal quality. Theriogenology.10(034):1.
45. Vargas J.C. Kerns, K. Rothschild, M. 2018. Lunar and climatic effects on boar ejaculate traits. Anim Reprod Sci.18(30):1.
46. Wilde O.R. 2011. Evaluación del semen: Morfología Espermática. pp.2-3. disponible en: <https://es.scribd.com/document/234922871/1808544960-Laboratorio-8Morfologia-Espermatologica-2011-1-1>
47. http://www.reprobiotec.com/congel_vivos.html Consultado en línea 25/Septiembre/2017.
48. <http://www.acromax.net/vistas/noticia/Contaminacion-de-las-dosis-seminales-2.aspx> Consultado en línea 7/Marzo/2018.
49. <http://www.beta.inegi.org.mx/app/mapa/espacioydatos/default.aspx?ag=05035>. Consultado en línea 23/Abril/2018.
50. <http://www.ciap.org.ar/ciap/Sitio/Archivos/PROCESO%20DE%20ELABORACION%20DE%20DOSIS%20Y%20EVALUACION%20DE%20LA%20CALIDAD%20SEMINAL.pdf> Consultado en línea 3/Mayo/2018.