



**Universidad Michoacana de San Nicolás de
Hidalgo**

**Facultad de Medicina Veterinaria y
Zootecnia**

**EFFECTO DE LA CONSERVACIÓN DE SEMEN
PORCINO EN UN NUEVO DILUYENTE DE
LARGA DURACIÓN SOBRE LA FERTILIDAD Y
TAMAÑO DE CAMADA**

TESIS
Que presenta

José Alfredo Hernández Villegas

Para obtener el título de:

Médico Veterinario Zootecnista

ASESOR
Dr. Jesús Conejo Nava

Morelia. Michoacán; Mayo de 2006.

CONTENIDO

Resumen	4
1. Introducción	5
2. Antecedentes.	6
2.1 Conservación de semen porcino.	
3. Hipótesis.	11
4. Objetivo.	11
5. Material y Método.	12
5.1 Grupos experimentales.	12
5.2 Colección, evaluación y conservación de semen.	13
5.2.1 Colección.	
5.2.2 Evaluación.	
5.2.3 Dilución.	
5.3 Detección de celos e inseminación artificial de las cerdas	14
5.4 Análisis estadístico	15
6. Resultados	16
7. Discusión	18
8. Conclusión	20
9. Bibliografía	21

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Diluyentes de corto periodo de almacenamiento utilizados en la conservación de semen de verraco.	7
Cuadro 2. Composición (g/l) de los diluyentes de largo periodo de almacenamiento utilizados en la conservación de semen de verraco.	9
Cuadro 3. Distribución de grupos experimentales.	13
Cuadro 4. Fertilidad a parto en cerdas inseminadas con semen conservado en el diluyente de larga duración sin bicarbonato de sodio.	16
Cuadro 5. Tamaño de camada en cerdas inseminadas con semen almacenado en el diluyente de larga duración sin bicarbonato de sodio.	17

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafica1. Porcentajes de movilidad progresiva en semen de cerdo conservado en el diluyente de larga duración sin bicarbonato de sodio.	17
---	----

RESUMEN

Con el propósito de determinar la tasa de fertilidad y el tamaño de camada en cerdas inseminadas con semen en 3 periodos diferentes de almacenamiento en un nuevo diluyente de larga duración a 17 ± 1 °C, se integraron aleatoriamente tres grupos de cerdas: *Grupo 1* Se inseminaron 14 cerdas con semen de 0-1 días de almacenamiento. *Grupo 2*. Se inseminaron 16 cerdas con semen de 4-5 días de almacenamiento. *Grupo 3*. Se inseminaron 18 cerdas con semen de 7-8 días de almacenamiento. Antes de inseminar a cada cerda, se evaluó la movilidad progresiva de semen y a cada una se aplicaron dos dosis de semen a una concentración espermática de 5×10^9 . Con un intervalo de 12 a 24 hr. Se encontraron diferencias significativas ($X^2 < 0.05$) para tasa de partos, de 71.4%, 43.8% y 27% en cerdas de los grupos 1, 2 y 3 respectivamente. Los valores promedio ($\pm$ ee) para el tamaño de camada al nacer fueron de 8.6 ± 0.81 , 9.1 ± 0.9 , 6.0 ± 1.15 en cerdas de los grupos 1, 2, y 3, respectivamente, sin diferencias significativas ($p > 0.05$). Se observó un descenso significativo de la movilidad progresiva conforme avanzó el tiempo de almacenamiento, siendo los valores promedio ($\pm$ ee) de $84.6 \pm 1.02\%$, $70.0 \pm 0.95\%$ y 66.4 ± 0.90 en cerdas de los grupos 1, 2 y 3, respectivamente. El nuevo diluyente sin bicarbonato, no logró evitar el descenso de fertilidad y prolificidad en cerdas de los grupos 2 y 3, aun cuando mantuvo porcentajes elevados de movilidad progresiva.

Palabras clave: conservación de semen, inseminación artificial, diluyentes de larga duración, fertilidad y tamaño de camada en cerdas.

1. INTRODUCCIÓN

Los diluyentes de semen de larga duración intentan prolongar el periodo de almacenamiento hasta por ocho días. Sin embargo, cuando se emplea semen por más de cinco días, se observa una pérdida de la fertilidad en 10% y una disminución del tamaño de la camada en 1 a 1.5 lechones, en comparación de los diluyentes de corta duración, aún cuando los espermatozoides muestran una alta movilidad progresiva (Althouse, 1997; Conejo *et al.*, 1997). Lo anterior es debido a que durante el almacenamiento por más de 4 días se acelera el proceso de capacitación espermática (*capacitación por almacenamiento*) de una manera muy significativa, ello provoca que al momento de la inseminación, los espermatozoides ya capacitados, no puedan prolongar su habilidad fecundante hasta la llegada de los óvulos (Conejo *et al.*, 2003).

Oviedo (2003) evaluó *in Vitro* un diluyente sin bicarbonato de sodio, el cual produjo una menor capacitación de espermatozoides, del 4º al 8º día de almacenamiento con respecto al diluyente con bicarbonato de sodio ($16.7 \pm 2.9 \%$ vs $24.7 \pm 3.5 \%$ respectivamente, $p < 0.05$) y ($23.4 \pm 5.1 \%$ vs. $32.4 \pm 6.1 \%$, respectivamente, $p < 0.05$). La supresión del bicarbonato de sodio como un componente de los diluyentes para la conservación del semen porcino se sustenta en resultados obtenidos por otros investigadores. Harrison *et al.* (1993), observaron que el bicarbonato de sodio/ CO_2 indujo un incremento en los patrones de capacitación espermática debido a modificaciones rápidas y reversibles en la arquitectura de los lípidos de la membrana plasmática de los espermatozoides; ocasionando un incremento del Ca^{2+} al interior de la célula y estimulando la

cadena de señales de transducción asociada a la capacitación (Harrison y Miller, 2000).

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del tiempo de almacenamiento del semen en un nuevo diluyente de larga duración sin bicarbonato de sodio en la fertilidad y la prolificidad de las cerdas inseminadas.

2. ANTECEDENTES.

2.1. Conservación de semen porcino en diluyentes de corto periodo de almacenamiento.

El semen en estado fresco conserva su viabilidad después de su colección por un periodo corto (dos a tres horas). Para prolongar la vida del espermatozoide y mantener la capacidad fertilizante se requiere de medios especiales, denominados diluyentes o extensores.

Un diluyente es una solución acuosa que permite aumentar el volumen del eyaculado consiguiendo con ello mayores dosis que permitan inseminar un mayor número de hembras, preservando las características funcionales de las células espermáticas y manteniendo un nivel de fertilidad adecuado (Conejo *et al*, 1996; Gadea, 2003).

Según el tiempo de conservación, los diluyentes se clasifican en: diluyentes de corta y larga duración (Conejo *et al*, 1996).

Los diluyentes de corta duración son aquellos que mantienen la capacidad fertilizante del semen hasta por 72 hr, a una temperatura de 15 -18 °C. Estos diluyentes fueron la base para el desarrollo de la IA porcina a nivel mundial. Algunos de los diluyentes más utilizados se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Diluyentes de corto periodo de almacenamiento utilizados en la conservación de semen de verraco (gr/l)

INGREDIENTES	KIEV	BL-1	BL-2	BTS	CIMAVE	CIMAVE 48	BB
Glucosa	66.7	27.0	25.0	37.0	60.0	3.5	30.0
Citrato de sodio	3.8	10.0	—	6.0	9.0	3.0	16.0
Bicarbonato de sodio	1.2	2.0	—	1.3	—	1.0	8.5
EDTA	3.7	—	—	1.3	—	2.0	2.5
Tartrato sódico de potasio	—	—	—	—	—	10.0	—
Cloruro de potasio	—	0.3	—	0.8	—	—	—
Ácido cítrico	—	—	11.0	—	—	—	—
Tris	—	—	20.0	—	—	—	15.3
Cisteína	—	—	—	—	—	—	0.4
Dihidro estreptomina	1.0	1.0	1.0	1.0	—	—	—
Penicilina G sódica (UI)	6X10 ⁵	6X10 ⁵	0	6X10 ⁵	—	—	—
pH	7.2	8-8.2	—	—	—	—	—
Presión osmótica (mOsm/kg)	380-406	309	—	Isotónico	—	—	—

Fuente: Conejo *et al*, 1996

En trabajos de revisión de literatura se concluyó que el BTS y el Kiev, en ese orden, generan los mejores resultados con respecto a la tasa de partos y tamaño de camada (Conejo *et al.* 1996; Althouse, 1997).

Sin embargo, el corto periodo de conservación limita su empleo en grandes explotaciones en donde se requiere conservar el semen por periodos prolongados y, en estas condiciones, se observa un descenso de la fertilidad y de la prolificidad, por esta razón se pretende conservar el semen mas allá de 4 días (largas distancias, evaluaciones sanitarias del semen, etc), utilizando diluyentes de larga duración y aumentando las concentraciones espermáticas para compensar las perdidas por envejecimiento de los espermatozoides.

2.2. Conservación de semen porcino en diluyentes de larga duración.

Durante los últimos 15 años se han desarrollado más de 14 nuevos diluyentes que intentan prolongar el periodo de conservación del semen y capacidad fertilizante del esperma por 7-8 días, a temperatura ambiente; por ello se les ha denominado diluyentes de larga duración. La composición química de los diluyentes de larga duración (cuadro 2); algunos incluyen ingredientes como Albúmina Sérica Bovina (BSA), fracción V y amortiguadores orgánicos (Hepes, MOPS), que elevan el costo de su elaboración y consecuentemente el de las dosis de semen con respecto a los diluyentes de corta duración (Conejo *et al.* 1996). Por razones comerciales, no se conoce la composición del diluyente MR-A.

Cuadro 2. Composición (gr/l) de los diluyentes de largo periodo de almacenamiento utilizados en la conservación de semen de verraco

INGREDIENTES	Zorlesco	*MRA	ZORPVA	Reading	Modena	Androhep
Glucosa	11.5	+	11.5	11.5	25 ^a	26
Citrato sódico	11.7	+	11.65	11.65	6.90	8.0
EDTA	2.3	+	2.35	2.35	2.25	2.4
Bicarbonato sódico	1.25	+	1.75	1.75	1.00	1.2
HEPES						9.0
BSA	5.0	+			3.00	2.5
TRIS	6.5	-	5.5	5.5	5.65	
Ácido cítrico	4.1	-	4.1	4.1	2.00	
Cisteína	0.1	+	0.7	0.7	0.05	
Trehalosa				1		
PVA			1	1		
Acetato potásico		+				
MOPS		+				
Mosm	240	290	275	300	282	309
PH		6.9			6.9	6.8

* Se desconoce la cantidad.

Fuente: Zorlesco (Gottardi et al., 1980); MR-A (Martín Rillo, 1984); ZORPVA (Cheng, 1985); Reading (Revell y Glossop, 1989); Modena (Moretti, 1981citado por Johnson 1984); Androhep (Weitze 1990).

Conejo *et al* (1997), en un trabajo de revisión encontraron que los diluyentes con mejores resultados fueron, MR-A, Androhep y Reading, cuando se utilizaron verracos que producen semen de calidad y se usa únicamente la fracción rica en espermatozoides.

En otro estudio se determinó el efecto de la conservación del semen porcino en los diluyentes Androhep, Reading, MR-A y Butschwiler, en la viabilidad espermática, morfología acrosomal, fertilidad y prolificidad, encontrando que el diluyente que mejor conservó la movilidad espermática (0-120hr) fue el Reading (70.3 y 65.6%) presentando bajos porcentajes en morfología acrosomal (94.1-75.0%). En el mismo trabajo no se observaron diferencias significativas para fertilidad y prolificidad entre el Reading y los otros diluyentes, aunque se aprecia una disminución en el número de lechones nacidos después de la conservación por más de 37 hr. Se concluyó que los diluyentes evaluados mantuvieron la fertilidad y prolificidad en niveles aceptables hasta las 110 hr de conservación (Conejo *et al.* 2000).

Asimismo, cuando se emplea semen por más de cinco días, dependiendo del diluyente, se observa una pérdida de la fertilidad en 10% y de 1.0 a 1.5 lechones menos por camada, con respecto a los diluyentes de corta duración. Recientemente, Anil *et al* (2004) en un estudio realizado en 21 granjas, en el cual se inseminaron cerdas con un diluyente de larga duración, encontraron que conforme se incrementó la edad del semen la fertilidad y el tamaño de camada disminuyó. Por lo anterior, es necesario mejorar el sistema de conservación del semen porcino en diluyentes de larga duración (Conejo *et al.* 1997; Althouse, 1997).

Conejo (2003) reportó que uno de los factores que puede provocar el descenso en la capacidad fertilizante del semen porcino es el almacenamiento a

16°C. En efecto, el semen experimentó un incremento en el porcentaje de espermatozoides capacitados conforme avanzó el periodo de almacenamiento; cuyos valores fueron de $85.2 \pm 1.1\%$, $66.6 \pm 3\%$ y $41.8 \pm 6.1\%$, para los días 0, 4 y 8 de almacenamiento

Oviedo (2003) evaluó un diluyente de larga duración sin bicarbonato de sodio y encontró una reducción de la capacitación de espermatozoides, con respecto al diluyente con bicarbonato, al 4º y al 8º día de almacenamiento ($16.7 \pm 2.9\%$ vs $24.7 \pm 3.5\%$ y $23.4 \pm 5.1\%$ vs $32.4 \pm 6.1\%$, respectivamente) y, se mantuvo constante la viabilidad espermática pero no la frenó. Estos resultados bajo condiciones *in Vitro*, sugieren la posibilidad de utilizar el diluyente sin bicarbonato en programas de IA, sin embargo es necesario evaluarlo bajo condiciones de campo.

3. HIPOTESIS

Si la eliminación del bicarbonato en el extensor de larga duración redujo el porcentaje de espermatozoides capacitados del 4º al 8º día de almacenamiento a 16°C bajo condiciones *in Vitro*, consecuentemente se espera, que se mantengan constantes la tasa de fertilidad y la prolificidad en cerdas inseminadas con este diluyente, del primero al octavo día de almacenamiento.

4. OBJETIVO

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de tres periodos de almacenamiento (0-1 días, 4-5 días y 7-8 días) del semen en un nuevo diluyente de larga duración sin bicarbonato de sodio a temperatura de 17 ± 1 °C, sobre la fertilidad y tamaño de camada en cerdas inseminadas.

Objetivos específicos

1. Evaluar la movilidad progresiva al momento de la inseminación artificial en los tres grupos del experimento.
2. Determinar el efecto del nuevo diluyente de larga duración para la conservación de semen porcino sobre la fertilidad y el tamaño de camada.

5. MATERIAL Y MÉTODO

Esta investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Reproducción Animal de la Posta Zootécnica de la FMVZ de la UMSNH, localizada en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, en el kilómetro 9.5 de la carretera Morelia-Zinapécuaro, y en la granja porcícola “La Mission”, ubicada en el kilómetro 6 de la carretera Morelia-Salamanca. El presente trabajo se realizó en el periodo Febrero a Noviembre de 2005.

Animales. Se utilizaron 2 sementales de los genotipos PIC y Duroc para la obtención de semen, con tres años y siete meses de edad, respectivamente. Asimismo, se emplearon 48 cerdas de 0 a 5 partos y de diferentes genotipos.

5.1 Grupos experimentales. Las cerdas se distribuyeron aleatoriamente en tres grupos, según el cuadro 3.

Cuadro 3. Distribución de grupos experimentales.

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Cerdas inseminadas con semen de 0 – 1 días de almacenamiento.	Cerdas inseminadas con semen de 4-5 días de almacenamiento.	Cerdas inseminadas con semen de 7-8 días de almacenamiento.
n = 14	n = 16	n = 18

5.2 Colección, evaluación y dilución de semen.

5.2.1 Colección.

Se colectó la fracción rica del eyaculado, programando la actividad dos veces por semana para cada semental, utilizando la técnica de la mano enguantada descrita por Almond *et al*, (1994). Posteriormente, el eyaculado fue llevado al Laboratorio de Reproducción Animal para ser evaluado y diluido isotérmicamente en el nuevo diluyente sin bicarbonato (Conejo, comunicación personal, 2005) y almacenado a una temperatura de 17 ± 1 °C.

5.2.2 Evaluación

La evaluación del semen incluyó determinar la movilidad progresiva, la viabilidad, la concentración y la morfología espermática, además de las características macroscópicas (color, temperatura, pH, volumen) (Almond *et al.*, 1994). Se utilizaron únicamente eyaculados para la dilución con el 85% de movilidad progresiva y no más del 10% de anormalidades.

5.2.3 Dilución.

El semen se diluyó isotérmicamente a 34 °C, en el diluyente sin bicarbonato de sodio (descrito anteriormente), y se dejó enfriar por un lapso de dos horas a temperatura ambiente para evitar el shock térmico, por último se almacenó a 17 ± 1 °C en una incubadora minitube. Una vez refrigerado fue revisado y resuspendido diariamente por la mañana y por la tarde para evitar la sedimentación de las células espermáticas.

5.3. DETECCIÓN DE CELOS E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL DE LAS CERDAS.

Para la detección de estro, todas las cerdas fueron observadas dos veces al día, por la mañana y por la tarde, sin especificar la hora, utilizando un macho celador. Se consideró como inicio del celo al momento en que las hembras exhibieron la reacción de inmovilidad a la prueba de cabalgue, las cerdas fueron inseminadas con la primera dosis tras un periodo de 6-12 hrs. posteriores a la

detección del estro y la segunda aplicación se realizó a las 24 hrs.. A cada cerda se le aplicaron dos dosis de 100 ml de semen, a una concentración de 5×10^9 espermatozoides por dosis. El semen fue depositado en el cervix por medio de un catéter tipo Melrose, en presencia de un verraco. Antes de depositar el semen, se evaluó la movilidad progresiva, como se indicó anteriormente.

Las variables dependientes en este análisis fueron, la tasa de partos y la prolificidad. La tasa de partos, definida como el cociente porcentual del número de cerdas paridas, con respecto al número de cerdas servidas. La prolificidad, se definió como el tamaño de camada al nacimiento considerando lechones nacidos muertos y momificados; y las variables independientes fueron la edad del semen y la movilidad progresiva.

5.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El análisis estadístico de la fertilidad se realizó por tablas de contingencia $R \times C$, donde la independencia de la tasa de partos con respecto a los periodos de conservación se verificó mediante X^2 a una $p < 0.05$ (Steel y Foote, 1988). Para el análisis de la prolificidad y movilidad progresiva se utilizó un análisis de varianza en un diseño completamente al azar y la comparación de medias se realizó a través de la prueba de Duncan a una $p < 0.05$.

6. RESULTADOS.

Se encontraron diferencias significativas ($X^2 < 0.05$) para los valores promedio de la tasa de partos, siendo del 71.4%, 43.8% y 27.8% en cerdas de los grupos 1, 2, y 3, respectivamente (cuadro 5).

Cuadro 4. Fertilidad a parto en cerdas inseminadas con semen conservado en el diluyente de larga duración sin bicarbonato de sodio.

Edad del semen/ grupo	Promedio (%)
1 (semen 0-1 días de edad)	71.4
2 (semen 4-5 días de edad)	43.8
3 (semen 7-8 días de edad)	27.8

$X^2 < 0.05$

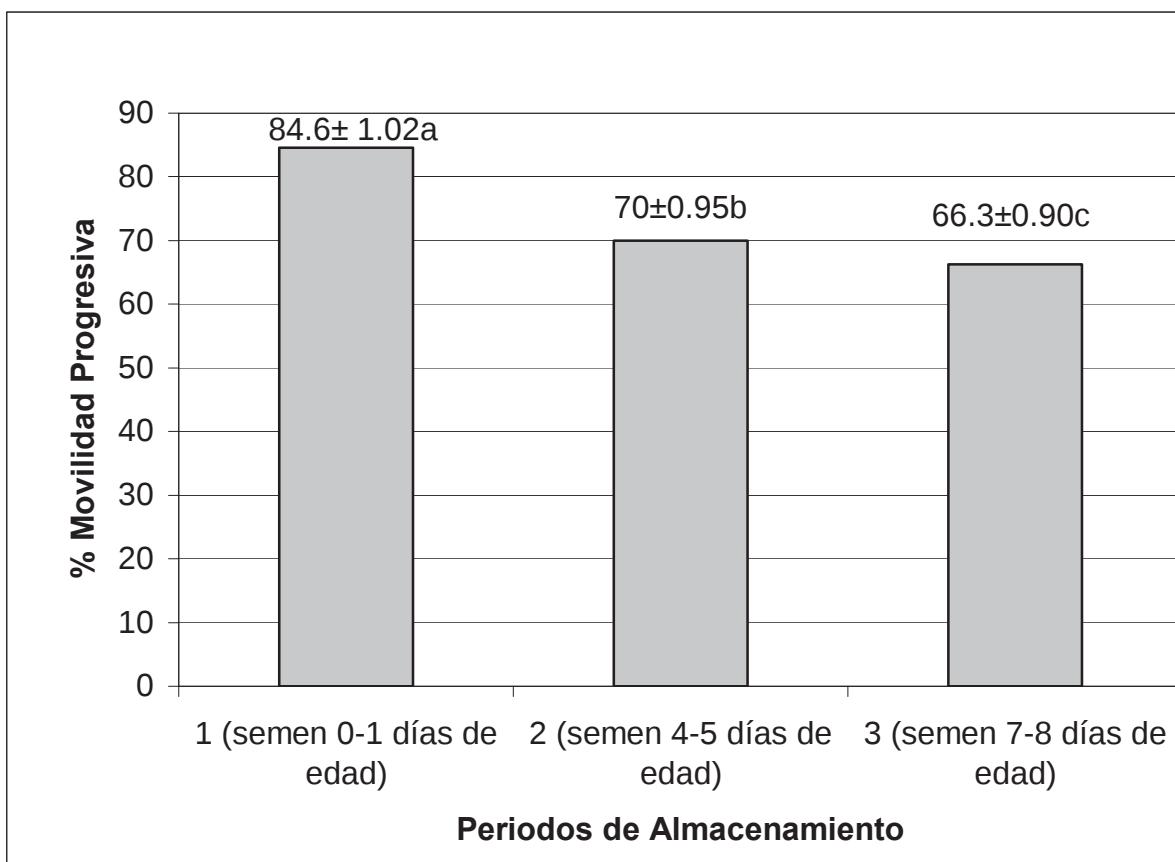
Los valores promedio ($\pm$ EE) para el tamaño de camada al nacer fueron de 8.6 ± 0.81 , 9.1 ± 0.9 , 6.0 ± 1.15 en cerdas de los grupos 1, 2, y 3, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$). El número de lechones nacidos vivos tendió a descender en las cerdas inseminadas con semen de 7-8 días de almacenamiento (grupo 3), pero tampoco se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) con respecto a las cerdas de los grupos 2 y 3. El número de lechones nacidos muertos fue similar en los tres grupos de cerdas. Al parto, se observaron momias en los grupos 1 y 2 de cerdas, pero no en el 3 (cuadro 6).

Se observó un descenso significativo de la movilidad progresiva conforme avanzó el tiempo de almacenamiento, siendo los valores promedio ($\pm$ EE) del $84.6 \pm 1.02\%$, $70.0 \pm 0.95\%$ y 66.4 ± 0.90 en el semen utilizado para inseminar las cerdas de los grupos 1, 2, y 3, respectivamente (grafica 1).

Cuadro 5. Tamaño de camada en cerdas inseminadas con semen conservado en el diluyente de larga duración sin bicarbonato de sodio.

VARIABLES	Tiempo de almacenamiento (Días)		
	0-1	4-5	7-8
Total de lechones nacidos (TLN)	8.6± 0.81 ^a	9.14± 0.90 ^a	6.00± 1.15 ^a
Total de lechones nacidos vivos (LNV)	7.7± 0.93 ^a	7.70± 1.11 ^a	5.20± 1.30 ^a
Lechones nacidos muertos (LNM)	0.9± 0.35 ^a	0.60± 0.41 ^a	0.80± 0.49 ^a
Momias	0.6± 0.69 ^a	1.50± 0.85 ^a	0.0 ± 0. 0 ^a

abc primer literal diferente entre columnas indica diferencias significativas (p>0.05).



Grafica 1. Porcentajes de movilidad progresiva de semen de cerdo conservado en el diluyente de larga duración sin bicarbonato de sodio en tres periodos de almacenamiento.

7. DISCUSIÓN.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que el diluyente utilizado no logró evitar el descenso de la fertilidad en cerdas de los grupos experimentales 2 y 3, con respecto a las cerdas del grupo 1. Estos resultados probablemente se deban a que el diluyente sin bicarbonato, no evita totalmente la capacitación espermática durante el almacenamiento como lo reporta Oviedo (2003), lo que provoca una disminución de su periodo de vida y consecuentemente disminuye la capacidad para fertilizar.

El tamaño de camada no fue afectado por el tiempo de almacenamiento del semen, probablemente debido al tamaño de los grupos experimentales, con menos de 20 observaciones.

El descenso de la movilidad progresiva conforme avanza el periodo de almacenamiento, observada en el presente trabajo, coincide con los resultados de Conejo (2004) y Oviedo (2003). Sin embargo, al octavo día de almacenamiento aún se tiene una buena movilidad progresiva, de 66.9%; pero el diluyente no logró evitar el descenso de la fertilidad al utilizar el semen almacenado por cuatro y ocho días en la inseminación artificial de las cerdas. Contrario a lo que plantea Flowers (1998) quién encontró que una movilidad progresiva de 60% no afecta la fertilidad de los ovocitos, bajo condiciones *in vitro*.

Cabe mencionar que en la granja en donde se realizó el presente trabajo y al inicio del mismo, se diagnosticó por Elisa un brote de PRRS y Parvovirus. Algunas de las observaciones que se tuvieron en la granja muestran que el problema de las repeticiones se presentó de igual manera en un grupo de 8 cerdas inseminadas con semen diluido en MR-A de 1-3 días de almacenamiento, en el mismo periodo en el que se realizó el experimento, en el cual, el porcentaje de fertilidad fue del 50% (datos no publicados). Además se presentaron tres casos de cerdas con muerte súbita, las cuales se encontraban en el primer mes de gestación y una de ellas tenía tres días de haber sido servida.

Perea (2005) señala que algunas de las alteraciones observadas en cerdas reproductoras que presentan PRRS son las repeticiones a celo (25-30%) y disminución de la fertilidad (más o menos del 50%) y suelen estar presentes durante 4 meses o más. Esto concuerda con las observaciones que se pudieron tener en la granja, además otros signos que se manifestaron para el caso del Parvovirus porcino durante la primera mitad de la gestación ocasionando reabsorción embrionaria y retorno al estro y momificación, continuando la gestación y observándose al parto camadas muy pequeñas y momificados. Motivo por el cual probablemente los índices reproductivos obtenidos fueron más bajos que los reportados en la literatura (Althouse, 1997 y Conejo-Nava et al., 1997; Kuster y Althouse, 1999; Gadea, 2003).

Sin embargo, puede ser útil para utilizarlo como un diluyente de corta duración (1-3 días de almacenamiento), pero habrá que probarlo en ensayos de

campo, además se sugiere realizar investigaciones posteriores sobre fertilización *in Vitro*.

8. CONCLUSIONES

El nuevo diluyente sin bicarbonato, no funcionó como un diluyente de larga duración, ya que no logró evitar el descenso de fertilidad y prolificidad en cerdas inseminadas con semen de 4-5 y 7-8 días de almacenamiento, aun cuando mantuvo porcentajes elevados de movilidad progresiva.

9. BIBLIOGRAFÍA

Almond G., J. Britt, J. Carr, B. Flowers, Ch. Glossop, M. Morrow y T. See. 1994. The Swine AI Book. Ed. Ruth Cronje, North Carolina State University.

Althouse G. (1997): Comparison of current used semen extenders in the swine industry. *Compend Cont. Educ. Pract Vet* 19: 777 – 782.

:

Anil SS, Larriestra A, Deen J, Morrison RB, Minion L. 2004. A retrospective study on the preserving capacity of a commercial boar semen extender. Department of Clinical and Population Sciences, College of Veterinary Medicine, University of Minnesota, 1988 Fitch Avenue, Saint Paul, MN 55108, USA *Theriogenology*. Aug+ADs-62(3-4):425-36.

Conejo NJ. 1991. Manual de Inseminación Artificial del Ganado Porcino con Semen Diluido. Editorial de la Universidad Michoacana. Morelia, Mich., México.

Conejo NJ., Becerril A., Ortega G., 1996. Diluyentes de corto período de almacenamiento utilizados en la conservación del semen porcino. *Memorias. II Jornada en Producción Porcina*. 99-17. SUA-FMVZ-UNAM.

Conejo NJ., Becerril A. Ortega G. Ochoa V. Diluyentes utilizados en la conservación del semen porcino en estado líquido. *Memorias 1^{er} Curso Int. Reprod. Porcina* 1997. 93-106 AIBIR. México D.F.

Conejo NJ. 2003. Estado funcional de la membrana, capacitación *in Vitro*, reacción acrosomal y capacidad de fertilización *in Vitro*, de espermatozoides porcinos almacenados en un diluyente de larga duración. *Tesis doctoral*. Universidad Autónoma Metropolitana.

Cheng T. T. K., 1985. *in Vitro* fertilization of farm animal oocytes. PhD Thesis, Council for National Academic Awards UK.

Flowers W. (1998): Boar fertility and artificial insemination In Pork. *15th Int Pig Vet Soc Congress*. (ed). Birmingham, UK: Nottingham University Press, pp 45-52.

Gadea J. 2003. The extenders of pig artificial insemination. *Spanish Journal of Agricultural Research* 1:17-27.

Gottardi L., Brunel L., Zanelli L., 1980. New dilution media for artificial insemination in the pig. 9th ICAR. Madrid. 5, 49-53.

Harrison RA, Mairé B, Miller NG. 1993. Flow cytometric studies of bicarbonate-mediated Ca^{2+} influx in boar sperm populations. *Mol Reprod Dev* 35:197-208.

Harrison RA, Miller NG. 2000. cAMP-Dependent protein kinase control of plasma membrane lipid architecture in boar sperm. *Mol Reprod Dev* 55: 220-228.

Oviedo BJ., 2003. Movilidad, viabilidad y estado funcional de la membrana plasmática de espermatozoides porcinos almacenados en un diluyente de larga duración sin bicarbonato a 16°C. *Tesis maestría*. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Johnson LA., Aalbers J.G. 1984. Artificial insemination of swine: fertility using several liquid semen diluents. *8th IPVS Congress Ghent, Belgica, 293*.

Moretti 1981 citado por Johnson L., Aalbers J.. 1984. Artificial insemination of swine: fertility using several liquid semen diluents. *8th IPVS Congress Ghent, Belgica, 293*.

Perea A. 2005. Síndrome Respiratorio Reproductivo Porcino (srrp) [En línea] Universidad de Córdoba

Revell SG., Glossop C. E., 1989. A long-time ambient temperature diluent for boar semen. *Anim. Prod.* 48, 579-584.

Rillo SM., 1984. how is progressing in Spain. *Pig intern.* May (24-28).

Steel RG. D. y J. H. Foote. 1988. Bioestadística: Principios y Procedimientos. McGraw-Hill. USA. Pp. 27-28.

Weitze KF., 1990. Long- term storage of extended boar semen. *Reprod. Dom. Anim. Suppl* 1, 231-253.

Kuster, C.E., y Althouse, G..C. 1999. the fecundity of porcine semen stored for 2 to 6 days in Androhep and X-Cell extenders. Theriogenology 52: 365-376.