

**UNIVERSIDAD CENTRAL "MARTA ABREU" DE LAS VILLAS
FACULTAD CIENCIAS AGROPECUARIAS**

MAESTRÍA SALUD ANIMAL AVANZADA

***“Evaluación de la calidad espermática de sementales
porcinos utilizados en la monta natural”***

Autor: Dr. M. V. Idania Hernández Roque

**Trabajo de Tesis para optar por la categoría de Master
en Salud Animal Avanzada**

Tutor: M. Sc. Alexei del Valle Rodríguez

Asesor: Dr. Luis Orlando Maroto Martín

Santa Clara, 2012

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
I. INTRODUCCIÓN	3
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. Sistema de monta o apareamiento.....	5
2.2. El eyaculado y sus fracciones.....	5
2.3. Generalidades sobre la evaluación de la calidad del semen porcino.....	6
2.4. Evaluación Macroscópica	9
2.4.1. <i>Volumen</i>	9
2.4.2. <i>Temperatura</i>	9
2.4.3. <i>Color</i>	10
2.4.4. <i>Olor</i>	10
2.4.5. <i>pH</i>	11
2.5. Evaluación Microscópica	11
2.5.1. <i>Motilidad</i>	11
2.5.2. <i>Concentración</i>	12
2.5.3. <i>Aglutinación</i>	13
2.5.4. <i>Morfología espermática</i>	14
2.6. Factores que influyen en la calidad del semen porcino	15
2.6.1. <i>Edad</i>	16
2.6.2. <i>Frecuencia de la monta</i>	18
2.6.3. <i>Nutrición</i>	19
2.6.4. <i>Raza</i>	20
2.6.5. <i>Factores climáticos</i>	21
2.6.6. <i>Factores Microbianos</i>	24
III. MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1. Obtención y procesamiento de las muestras	27

3.2. Examen espermático.....	28
3.2.1. <i>Volumen</i>	28
3.2.2. <i>Concentración</i>	29
3.2.3. <i>Motilidad</i>	29
3.2.4. <i>Aglutinación</i>	29
3.2.5. <i>Morfología espermática</i>	30
3.3. Examen bacteriológico	30
3.4. Análisis Estadístico	31
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
4.1. Examen espermático.....	32
4.2. Examen bacteriológico	36
4.3. Impacto de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en la motilidad espermática.....	38
4.4. Relación entre la presencia de <i>Escherichia coli</i> y la aglutinación.....	39
4.5. Influencia de la edad de los sementales sobre los parámetros espermáticos.....	40
4.6. Influencia de la raza de los sementales sobre los parámetros espermáticos.....	43
V. CONCLUSIONES.....	45
VI. RECOMENDACIONES.....	46
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
VIII. ANEXOS	59

RESUMEN

Para evaluar la calidad espermática de sementales de unidades porcinas con monta natural, se evaluaron 55 eyaculados de verracos de las razas Duroc-Jersey, Yorkshire y Landrace entre los meses de Junio y Agosto de 2011. Se analizó el volumen, concentración, motilidad, aglutinación, anomalías espermáticas; así como la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* y su impacto en algunos de estos parámetros. Del total de muestras analizadas, 53 (96,4%) presentaron anomalías en la cabeza y el capuchón; 45 (81,8%) en la cola; 39 (70,9%) en el cuello y 5 (9,1%) en la parte intermedia. La concentración espermática y la motilidad se encontraban dentro del rango establecido para cada variable; 250×10^6 epz./mL, y entre 60 y el 85%, respectivamente. El volumen del eyaculado, para las cuatro unidades evaluadas, se mostró dentro del rango establecido pero por debajo del valor promedio (200 mL). Del total de muestras analizadas, 46 muestras (83,6%) mostraron aglutinación ligera (+), 7 muestras (12,7%) mostraron espermatozoides aglutinados (++), 2 muestras (3,6%) no aglutinados y no se observaron muestras con espermatozoides muy aglutinados (+++). Se determinó Coliformes Totales en 45 muestras (81,8%), *E. coli* en 24 muestras (43,6%) y *Pseudomonas aeruginosa* en 33 muestras (60,0%). Se evidenció que la presencia de *P. aeruginosa* implica una disminución significativa de la motilidad ($p < 0,000139$). Los parámetros espermáticos no se afectaron por la edad de los sementales; sin embargo, la motilidad fue afectada por la raza, siendo Yorkshire la de mejor comportamiento.

ABSTRACT

To assess sperm quality of boars in pig farms with natural mating, a total of 55 ejaculates from boars of the Duroc-Jersey, Yorkshire and Landrace were evaluated between June and August 2011. The analysis included the volume, concentration, motility, sperm agglutination and abnormalities of each sample. The presence of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*, and its impact on some of these parameters, was also determined. From the total of samples analyzed, 53 (96,4%) showed abnormalities in the head and cap; 45 (81,8%) in the tail; 39 (70,9%) in the neck and 5 (9,1%) in the intermediate part. Sperm concentration and motility were within the range established for each variable, 250×10^6 epz./mL, and between 60 and 85%, respectively. The volume of the ejaculate in the boars of the four farms was in the range but below the average value (200 mL). 46 samples (83,6%) showed slight agglutination (+), 7 samples (12,7%) showed sperm agglutinated (++) , 2 samples (3,6%) were not agglutinated and it was not observed very agglutinated semen samples (+++). Total coliforms were determined in 45 samples (81,8%), *E. coli* in 24 samples (43,6%) and *Pseudomonas aeruginosa* in 33 samples (60,0%). It was demonstrated that the presence of *P. aeruginosa* interfered with motility in a significant manner ($p \leq 0,000139$). Sperm parameters were not affected by the age of boars, but motility was affected by race, being the best performing Yorkshire.

I. INTRODUCCIÓN

La especie porcina es una de las que alcanza mayores incrementos de población debido al número de crías por parto y partos por año; teniendo por tanto una alta productividad, la misma que depende principalmente del manejo a que son sometidos para llegar a rendimientos óptimos, aprovechando esta alta tasa productiva.

Actualmente en las granjas porcinas es necesario alcanzar tasas de fertilidad del 85% y producir camadas con 10 a 13 lechones nacidos vivos, con el fin de registrar niveles adecuados de eficiencia productiva. Gracias a este parámetro se espera tener un alto número de lechones destetados por camada por año; con buen peso al destete. Esta eficiencia está dada tanto por la madre como por el padre; en el caso de la hembra, son múltiples los factores que la afectan, mientras que en el macho se encuentra principalmente determinada por la calidad seminal; independientemente de cual sea el sistema de producción, el verraco es de vital importancia, ya que representa el 50 % del éxito en los resultados productivos (García, 1995), siendo por lo tanto de vital importancia la evaluación periódica de los reproductores usados en la granja. La valoración seminal se da a través de una evaluación macroscópica y microscópica, que al mismo tiempo servirá para seleccionar los sementales óptimos utilizados en la reproducción (IIP, 2008).

Por otra parte, en Cuba se trabaja por incrementar la técnica de Inseminación Artificial a través de los Centro de Procesamiento de Semen Porcino. La característica de los sementales porcinos y la calidad espermática son factores fundamentales a tener en cuenta para el buen funcionamiento de dichos centros.

Mucho se ha avanzado en las últimas décadas en el campo de la evaluación de la calidad seminal y sobre el valor predictivo de la fertilidad que presentan las

pruebas de análisis espermático. Sin embargo, es una tarea aún no resuelta. En este sentido, la calidad del eyaculado ha sido tradicionalmente evaluada con el espermiograma clásico, basado en la aplicación de una serie de pruebas de una ejecución relativamente simple y que pueden ser realizadas con un costo moderado (Gadea, 2005). En el análisis rutinario se incluye un examen macroscópico y microscópico del eyaculado en los que se mide el volumen, la concentración, la motilidad, el estado del acrosoma y las morfoanomalías espermáticas.

Teniendo en cuenta lo anteriormente planteado y partiendo del hecho de la ausencia en nuestras unidades de un sistema de evaluación espermática periódica de los sementales utilizados en la monta natural, es que realizamos el presente trabajo.

Como objetivo general nos proponemos:

- Evaluar la calidad espermática de los sementales pertenecientes a la Granja objeto de estudio.

Los objetivos específicos del presente trabajo fueron:

- Comparar las características macroscópicas y microscópicas básicas de sementales utilizados en la monta natural en cuatro unidades porcinas.
- Identificar diferentes grupos bacterianos presentes en el semen porcino.
- Determinar la influencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* sobre la aglutinación y la motilidad espermática, respectivamente.
- Determinar la influencia de la edad y la raza sobre los parámetros volumen, motilidad y concentración espermática.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Sistema de monta o apareamiento

El sistema de apareamiento de doble monta mejora el porcentaje de concepción de 10 a 25% en las cerdas adultas y de 10 a 13% en las primerizas. Cuando se realiza el sistema por medio de montas con machos diferentes (montas heterospérmicas), el porcentaje de concepción se incrementa un 3,6% en adultas y un 8% en primerizas. Sin embargo en una granja que utiliza monta directa este último sistema de apareamientos puede ocasionar algunos problemas con machos subfértiles, los que son encubiertos por sus compañeros fértiles cuando no se realizan evaluaciones andrológicas regularmente (Martínez, 1992 y Lewis, 1996).

2.2. El eyaculado y sus fracciones

La emisión consiste en la liberación de los espermatozoides y de los líquidos de las glándulas accesorias hacia el interior de la uretra pélvica (Cunningham, 1997).

La eyaculación en todas las especies constituye la expulsión forzada del semen, el cual está dado por un reflejo por el que se contraen y vacían el epidídimo, la uretra y las glándulas sexuales accesorias del macho (Moreno, 2000).

Los verracos expulsan grandes cantidades de espermatozoides en cada eyaculado y agotan con mayor rapidez sus reservas epididimarias. El volumen del eyaculado está compuesto de tres fracciones (Hafez, 1996).

- Pre-espermática

Constituida por las secreciones de la próstata, vesículas seminales y algunos grumos procedentes de las glándulas de Cowper. Estos grumos de textura gelatinosa, reciben comúnmente el nombre de "tapioca", y cumplen la función de tapón del cuello uterino impidiendo el retroceso. Esta fracción es prácticamente

transparente sin espermatozoides y con un volumen de 10–35 mL (Córdova *et al.*, 2004).

- Espermática o rica en espermatozoides

Constituida por espermatozoides y secreciones de las vesículas seminales y de la próstata. Contiene gran concentración de espermatozoides. Tiene un color blanquecino-lechoso y su volumen oscila entre 50 y 150 mL. El volumen es variable dependiendo de los factores que influyan en la producción espermática (raza, edad, nutrición, ritmo, método de recogida, etc.) (Córdova *et al.*, 2004).

- Post-espermática o pobre en espermatozoides

Constituida principalmente por secreciones de la próstata y glándulas de Cowper, pobre en espermatozoides, de color blanquecino-transparente, con grumos gelatinosos a lo largo de su emisión (Córdova *et al.*, 2004).

2.3. Generalidades sobre la evaluación de la calidad del semen porcino

El semen porcino es una mezcla heterogénea formada por los espermatozoides y el plasma seminal, siendo la resultante de la integración eyaculatoria proveniente de las glándulas sexuales y los conductos sexuales excretores.

El semen del verraco por sus características físicas y bioquímicas (gran concentración de electrolitos, escasa concentración de azúcares y relativamente baja concentración de espermatozoides), tiene su problema biológico principal, en escasa capacidad de tamponificación que ofrece el medio seminal, de modo que los catabolitos residuales determinan la muerte de los espermatozoides. Esta situación determina que el semen de verraco, constituya un material sobre el cual influyan gran cantidad de factores que pueden incrementar o disminuir su calidad; lo cual obliga al personal técnico a realizar una evaluación periódica de la calidad del mismo (IIP, 2008).

Muchos autores han afirmado que a través del estudio de una serie de características del eyaculado, es posible calificar al mismo en lo referente a su calidad y decidir posteriormente sobre las condiciones de utilización (Tsakmakidis *et al.*, 2010).

Con este propósito, se han desarrollado una serie de técnicas que pretenden alcanzar un mejor conocimiento de la célula espermática, el estudio de la membrana parece ser un buen procedimiento para evaluar la funcionalidad del gameto masculino, ya que ésta interviene activamente en la mayoría de las fases del proceso reproductivo. Estudios bioquímicos se han desarrollado para cuantificar los diferentes componentes químicos presentes en el eyaculado y que puedan condicionar la actividad del espermatozoide. Por otra parte, el estudio de la morfología del núcleo espermático ha cobrado relevancia dentro de la evaluación de la calidad seminal porque puede reflejar cambios cuantitativos y cualitativos del material nuclear (González *et al.*, 2010); además, permite valorar la madurez y la estabilidad del mismo, condiciones necesarias para que pueda llegar a producirse la descondensación cromosómica y la singamia (Gadea, 2005).

Sin embargo, la calidad del eyaculado ha sido tradicionalmente evaluada con el espermiograma clásico, que está basado en la aplicación de una serie de pruebas de una ejecución relativamente simple y que pueden ser realizadas con un costo moderado. En el análisis rutinario se incluye un examen macroscópico y microscópico del eyaculado en los que se mide el volumen, la concentración, la motilidad, el estado del acrosoma y las morfoanomalías espermáticas (Gadea, 2001). No obstante, Acosta *et al.* (2007) comparan el espermiograma clásico con la técnica de acrosomía y concluyen que con esta última se obtienen mejores resultados, además que ofrece una alta precisión, es rápida, económica y de fácil manipulación.

En nuestro país la técnica del espermiograma está vigente desde la década de los 80's cuando se publicó este procedimiento (MINAGRI, 1985). A través de ella se ofrece un informe del espermiograma en el cual se combinan técnicas subjetivas y objetivas de análisis seminal. Este sistema permite evaluar de forma preliminar la calidad de los eyaculados; sin embargo se ha observado que la calidad obtenida en los análisis de rutina no se corresponden con los resultados de fertilidad obtenidos directamente en las granjas porcinas (Acosta *et al.*, 2008).

Por otra parte, estas técnicas de evaluación permiten identificar aquellos verracos que pueden estar produciendo semen de mala calidad, ya sea por enfermedad o por exceso de trabajo; además permiten reconocer a los verracos con mejor calidad seminal, lo que determinará la optimización del uso de aquellos que tienen una mejor capacidad fecundante y ayudará a identificar a los verracos causantes de problemas, ya sea para su tratamiento o eliminación de la granja (Altamirano *et al.*, 2007).

La evaluación del semen se realiza teniendo en cuenta sus características macroscópicas y microscópicas. Para la evaluación macroscópica se toman en cuenta las características físicas: volumen, color, olor, consistencia y PH; esta evaluación se realiza inmediatamente después de la recogida del semen. La evaluación microscópica comprende la apreciación de la concentración espermática, la motilidad, la aglutinación, la proporción de espermatozoides vivos y muertos, número total de nemaspermos en el eyaculado y la morfología espermática (IIP, 2008).

El objetivo óptimo de las pruebas de calidad consiste en predecir adecuadamente la fertilidad del semen mediante el empleo de técnicas rápidas y baratas (Cole y Cupps, 1998).

2.4. Evaluación Macroscópica

Las muestras de semen se estudian en cuanto a sus características físicas: volumen, temperatura, color, olor y pH (Gadea, 2001).

2.4.1. Volumen

Se define como la resultante de la unión de las fracciones espermática y seminal expresada en mL (IIP, 2008).

El verraco es esencialmente un animal de eyaculación prolongada, por lo cual, los eyaculados son de grandes volúmenes, factor que tiene gran relación con el tamaño testicular (Wlodzimierz, 2004). Los valores promedios fluctúan entre 80-630 mL, obteniéndose en la media general rangos desde 160 hasta 260 mL aproximadamente; de acuerdo a la edad del animal, la técnica de extracción, factores climáticos y las características individuales del verraco, entre otros (Coraza *et al.*, 1990).

Williams (1981) señala que el volumen del eyaculado aumenta con la edad y cambia según su estado higiénico reproductivo, su vigor sexual, frecuencia de su uso y régimen alimentario.

2.4.2. Temperatura

La temperatura se mide con termómetro de mercurio, introduciéndolo en el eyaculado y registrando el valor marcado. La medición se debe realizar inmediatamente después de obtenido el semen, ya que los espermatozoides de verraco son muy sensibles a los cambios bruscos de temperatura, por ello todo material y equipo en la obtención, evaluación y conservación debe estar a la temperatura del semen; esto es entre 35°C y 37°C (García, 1995).

2.4.3. Color

Se evalúa visualmente, el color normal es blanco. La tonalidad varía de acuoso opalescente a lechoso y cremoso, conforme la concentración espermática va en aumento (IIP, 2008).

Mirjyn (1999) refiere que muchas granjas han trabajado con éxito determinando la concentración de células en un eyaculado de acuerdo al color de este. Definitivamente esto no es conveniente ya que se subestima o sobre estima la calidad del eyaculado con todas las consecuencias que esto puede traer.

Cualquier cambio en el color del eyaculado implica una anomalía. Una tonalidad rosada puede ser debida a la existencia de glóbulos rojos, la presencia de orina, produce una coloración amarilla, la contaminación con polvo nos da tonalidades oscuras y la presencia de partículas extrañas en el eyaculado. El color se vincula ciertamente a la concentración espermática que puede ir desde blanco lechoso hasta blanco grisáceo en eyaculados normales (IIP, 2008).

Para Rozeboom (2000) los tonos rosáceos no reducen la fertilidad ni viabilidad del eyaculado; sin embargo, un color rojizo con olor fuerte debe ser base para descartarlo.

2.4.4. Olor

El olor del semen es *sui generis*. Lo que significa que huele a cerdo, cada verraco presenta un olor característico. Cuando el eyaculado ha sido contaminado con orina o con fluidos prepuciales tiene un olor característico (IIP, 2008).

Martínez (1998) plantea que el olor se acentúa en animales adultos, sobre todo cuando se encuentran sometidos a una actividad sexual intensa o pueden existir olores pútridos debido a contaminación bacteriana o algunas necrosis propias de la naturaleza de los genitales.

2.4.5. pH

Es una medida del grado de acidez o alcalinidad y es un indicador de la actividad metabólica de los espermatozoides. Conforme envejece el eyaculado aumenta la producción de ácido láctico y desciende el pH. Los valores normales se encuentran entre 6,8 y 7,8 con un valor óptimo entre 6,9 y 7,2 (IIP, 2008).

2.5. Evaluación Microscópica

La calidad espermática es considerada en términos de porcentajes de espermatozoides móviles o morfológicamente normales. Hasta hace poco, ambos eran evaluaciones subjetivas influenciadas por el observador. A pesar de estos problemas, la estimación de los espermatozoides móviles y la morfología espermática son el método estándar usado por la mayoría de laboratorios de reproducción.

2.5.1. Motilidad

La función básica del espermatozoide es fecundar el óvulo, valiéndose de varias características para lograr su objetivo. La capacidad de movimiento, es desarrollada por el espermatozoide conforme madura su morfología y desarrolla su maquinaria metabólica. La motilidad es esencial para lograr la fecundación, sin embargo la capacidad de movimiento no es necesariamente un indicativo de la capacidad fecundante. Los espermatozoides necesitan no solo de su habilidad para desplazarse para lograr fecundar un óvulo ya que los espermatozoides pierden la capacidad fecundante antes que la motilidad (Flowers, 1995 y Hafez, 1996).

Este indicador seminal se define como la estimación microscópica y valoración cuantitativa del movimiento rectilíneo uniforme de los espermatozoides. Los valores obtenidos nos proporcionan información directa sobre la actividad de las

células espermáticas siendo uno de los parámetros más importante de la calificación del semen (Coraza *et al.*, 1990).

Para que un espermatozoide sea capaz de fecundar a un ovocito ha de reunir una serie de requisitos, entre ellos, tener motilidad progresiva. Dicho parámetro ha sido y sigue siendo el más utilizado para valorar la calidad de un eyaculado o de una dosis seminal. El movimiento activo de los espermatozoides es imprescindible para la colonización del oviducto durante la fase de transporte sostenido en el tracto genital de la hembra, y para que tenga lugar la fecundación. Además, la motilidad es una manifestación de viabilidad espermática y de integridad celular. Un eyaculado con un porcentaje bajo de espermatozoides móviles, o ausencia de motilidad, automáticamente será descartado para su conservación (Kommisrud *et al.*, 2002 y Díaz *et al.*, 2008).

Actualmente existen métodos más modernos para la medición de la motilidad con la utilización de técnicas asistidas por computadoras. Además de la motilidad, podemos medir otro tipo de variables como velocidad, tipo de movimiento, trayectoria recorrida, desplazamiento angular (Córdova *et al.*, 2004).

2.5.2. Concentración

Es fundamental para el análisis seminal, cuando se trata de la Inseminación Artificial, ya que en función de ésta y del volumen se preparan las dosis seminales. Consiste en la determinación del número de espermatozoides por unidad de volumen. También conocida como densidad del semen, la concentración espermática constituye un dato de extraordinario valor en la determinación del grado de dilución y el número de dosis inseminantes que se pueden obtener del eyaculado (Caiza, 2009).

Mediante la observación del color que oscila desde acuoso a cremoso pueden obtenerse los valores de la concentración; el cremoso tiene aproximadamente 1000 millones de spz./mL y el acuoso entre 50-200 millones de spz./mL de semen (Bonet *et al.*, 1995).

2.5.3. Aglutinación

Se conoce como aglutinación espermática, al acúmulo de espermatozoides (vivos o muertos), que pueden estar adheridos a células epiteliales o bien, unidos cabeza con cabeza o cola con cola. Puede ser observado durante el examen al microscopio, ya sea en el eyaculado fresco o en el semen diluido. Estas adhesiones espermáticas repercuten en la viabilidad del espermatozoide, en la baja capacidad de conservación y en la calidad del semen. Este proceso es muy frecuente ya que casi todos los eyaculados en mayor o menor grado lo poseen (IIP, 2008).

La apreciación de altas cantidades de aglutinaciones reducirán grandemente los espermatozoides disponibles para la fecundación. Las aglutinaciones pueden ser causadas por: cambios de pH del semen; shock térmico, contaminación bacteriana, concentración muy alta de espermatozoides o por partículas (incluyendo la presencia de gel de las glándulas bulbo-uretrales) en el semen por un mal filtrado durante la toma de muestra (Rozeboom, 2000; Córdova *et al.*, 2004 y Kubus, 2012).

El grado de aglutinación suele medirse de 0 a 3, donde el grado 3 corresponde a más de un 30-40% de espermatozoides aglutinados. Si esta aglutinación se une a otros parámetros como baja motilidad y presencia de abundantes formas anormales, se ve afectada la calidad seminal (Kubus, 2012). En Cuba se utiliza la clasificación según lo plantea el Manual de Procedimientos Técnicos para la Crianza Porcina (IIP, 2008).

2.5.4. Morfología espermática

El nenaspermo puede realizar sus funciones biológicas fundamentales solo cuando cualitativa y morfológicamente estén bien constituido, es decir, cuando posee la estructura típica de la cabeza, cuello, parte intermedia y cola (Acosta *et al.*, 2007).

La proporción de espermatozoides con alteraciones morfológicas y con gotas citoplasmáticas presentes en el eyaculado; constituye según Coraza *et al.*, 1990 un criterio más que determina la aptitud del mismo para su utilización.

El objetivo principal del examen de la morfología del semen (Espermiograma) consiste en determinar la presencia e incidencia de formas anormales, o sea, son células patológicas o anormales que presenta un eyaculado, debido a diferentes causas: alimentación, manejo, edad y estrés. Milanés *et al.* (1988), diseñaron una nueva técnica de tinción con la cual se permite reducir considerablemente el número de alteraciones morfológicas no atribuibles al seminal. En Cuba se utiliza para este fin la técnica de tinción Rojo Bengala-Azul Victoria (IIP, 2008).

Hoy en día, los análisis de la morfología espermática se facilitan con el uso de sistemas automatizados como el ASMA (Automated Sperm Morphology Analysis), el cual provee una determinación de dimensiones y la forma del espermatozoide (morfometría) de una manera más objetiva y reproducible (González *et al.* 2008).

Los diferentes tipos de anormalidades que se pueden presentar en la morfología de los espermatozoides se clasifican en: anormalidades del acrosoma, de la cabeza, del cuello, de la parte intermedia, de la cola y las formas dobles. El valor mínimo de alteraciones morfológicas permisibles en un eyaculado sin que se vea afectada su fertilidad, es de un 20%, considerando normal un mínimo de 5% con anormalidades primarias (en la cabeza) y un máximo de 15% con anormalidades secundarias (en la pieza intermedia o cola) (Coraza *et al.*, 1990 e IIP, 2008).

Estos y otros aspectos macroscópicos y microscópicos (pH, color, olor y consistencia) a tener en cuenta en la evaluación del semen de sementales utilizados en la monta natural se encuentran relacionados en la Tabla 1.

Tabla 1: Indicadores para considerar un semen como normal (IIP, 2008).

Características	U. M.	Valor Promedio	Rango
Volumen	mL	200	80 - 630
Motilidad	%	70	60 - 85
Concentración spz	x 10 ⁶ / mL	250	150 - 500
Espermatozoides normales	%	90	80 - 100
Espermatozoides patológicos	%	10	0 - 20
pH	-	7	6,8 - 7,8
Color	-	Blanco (B)	B-lechoso, a, B-grisáceo
Olor	-	Albumideo	-

Spz: espermatozoides

2.6. Factores que influyen en la calidad del semen porcino

Diversos autores han planteado claramente la gran diversidad de factores que influyen sobre la calidad del semen porcino y la fertilidad de este, tanto en la monta directa como en la Inseminación Artificial (IA); ya sea incrementándola o disminuyéndola. Tosar *et al.*, 2002 plantea que el control eficiente de los sementales optimiza su rendimiento al máximo y logran mejores resultados productivos.

La amplia gama de factores que provocan estos efectos pueden tener su origen en el propio animal o ser resultante de la interacción de éste con el ambiente. Entre estos figuran: la edad de los sementales y peso corporal (Cameron, 1987), la contaminación del semen por microorganismos y su contacto con el agua y los desinfectantes, los rayos solares directos y los cambios bruscos de temperatura, frecuencia de la monta, régimen de tenencia y el estado físico (Del Toro *et al.*, 1986),

la época del año, el foto periodo, temperatura ambiente y humedad relativa, la alimentación, ambiente social, la raza y el tamaño de los testículos (Colebrander y Kemp, 1990). Además, para el caso de Inseminación Artificial, el manejo del semen, los índices de fertilidad de las hembras inseminadas, la distancia al punto de inseminación y el momento en que se realiza la misma (Caiza, 2009).

2.6.1. Edad

La edad del semental, estrechamente relacionada con otros factores como la raza, las condiciones climáticas, los sistemas de manejo y alimentación y el desarrollo morfológico del animal; van a influir directamente en el comportamiento reproductivo de estos (Coraza *et al.*, 1990).

Cameron, 1987 y Según Lewis, 1996; refieren que la calidad del semen es baja después de la pubertad. Durante esta etapa, la calidad del semen de un macho joven no es la adecuada, encontrándose una gran cantidad de espermatozoides inmaduros, un volumen de eyaculado reducido y una concentración espermática pobre cuando se le compara con las de animales de mayor edad. Se considera que un verraco joven alcanza una adecuada capacidad fertilizante después de las 28-30 semanas de vida. A partir de este momento se incrementa rápidamente más allá de los 9 meses, hasta alcanzar un máximo entre los 24 y 29 meses de vida. Entre los 12 y los 35 meses de vida no existen muchos cambios en la calidad del semen, pero después de los 35 meses comienza a disminuir. Con base en lo anterior se recomienda mantener un 25% de machos de menos de un año de edad, un 50% de animales entre 12 y 24 meses y solo un 25% como máximo de machos con mas de 24 meses de vida (Martínez, 1998).

Del Toro *et al.*, 1986 y Cameron, 1987; coinciden en sus planteamientos cuando aseguran que con un aumento de la edad, se incrementan los parámetros

espermáticos volumen, concentración y producción total del semen. Algunos de sus resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2: Índices seminales obtenidos en verracos de diferentes edades (Del Toro *et al.*, 1986).

Edad (Meses)	Volumen (mL)	spz/mL ($\times 10^6$)	spz/mL ($\times 10^9$)	spz/día ($\times 10^9$)
8-12	290,6	22,5	78,2	170
13-15	380,1	24,9	73,1	460
16-18	297,5	26,4	49,7	212

Los mismos autores señalan que con el transcurso de la edad, aumentan el tamaño de los testículos hasta alcanzar su completo desarrollo. Williams, 1981; Del Toro *et al.*, 1986 y Coraza *et al.*, 1990 coinciden en que el volumen aumenta con el incremento de la edad; pero en el caso de la concentración lo que hace es disminuir.

En nuestras condiciones se recomienda iniciar la vida reproductiva del verraco alrededor de los 9 meses de edad con un peso vivo superior a los 120 Kg y poseedores de todas las características propias de la raza, realizando una cubrición semanal hasta lograr el máximo de tres montas a la semana (IIP, 2008).

Gil *et al.* (1991) estudiaron los efectos de la edad sobre algunos parámetros de calidad espermática como: motilidad (%), concentración ($\times 10^6$ spz./mL), volumen (mL) y aglutinación. Las medias obtenidas en los resultados fueron: 74,78%; $356,88 \times 10^6$ spz./mL; 231,38 mL y 0,49%, respectivamente. Se encontraron diferencias significativas debido a todos los efectos estudiados, se corroboró la importancia de la edad del semental sobre los indicadores de calidad espermática.

Louda (1995) examinó las características del semen en verracos de 120 – 540 días de edad, mostrando un alto por ciento de espermatozoides anormales hasta la pubertad, los cuales bajaron después de los 360 días de edad. Otras características morfológicas que han sido valoradas con respecto a la edad son las dimensiones de la cabeza de los espermatozoides (Quintero *et al.*, 2009).

Además existen una serie de factores que se relacionan con la edad en que se recomienda el inicio del trabajo de los machos, entre ellos están: alojamiento en grupos contra alojamiento individual, el contacto con hembras, cría al exterior contra cría en interiores, efecto del fotoperíodo y efecto de la nutrición (Martínez, 1998).

2.6.2. Frecuencia de la monta

La frecuencia de la monta o régimen de utilización de los sementales (RUS), es uno de los factores que influye directamente sobre la calidad del eyaculado, comprobándose que a medida que se intensifica la explotación de los sementales, se produce un efecto negativo en la calidad del semen (Alvarado *et al.*, 2001).

En nuestras condiciones se establece una frecuencia de explotación de los sementales teniendo en cuenta la edad y el sistema de monta al que esté sometido. En el caso de los sementales empleados en la monta natural se establece lo siguiente: se utilizarán 17 hembras por cada semental; los animales comprendidos entre 8-14 meses de edad se le planifique un salto (monta) semanal, con seis días de descanso; los comprendidos entre 15-20 meses, dos saltos semanales (con 72 horas de descanso) y para los verracos con 21 o más meses de edad, se establecen tres saltos semanales con 48 horas de descanso (IIP, 2008).

Un semental no debe pasar 10 días si efectuar una monta. De ocurrir se procederá a utilizarlo para efectuar un tercer salto en una hembra que posea un celo prolongado (IIP, 2008).

2.6.3. Nutrición

Las buenas prácticas nutricionales son un requisito indispensable para garantizar la salud y la eficiencia en la producción del ganado porcino, por tal motivo en este proceso, se debe garantizar un suministro de nutrientes adecuado en la ración, así como la cantidad necesaria de alimento balanceado acorde al estado productivo y reproductivo de los animales para satisfacer sus requerimientos nutricionales en energía, proteínas, vitaminas, minerales y agua (IIP, 2008).

Los estados carenciales tanto cualitativos como cuantitativos provocan efectos indeseables en las piaras; que se traducen en cuantiosas pérdidas económicas de difícil solución. Según Wlodzimierz (2004), la capacidad reproductiva de los verracos puede mantenerse dentro de una amplia gama de fluctuaciones en los niveles nutricionales, recomendando para la mayor parte de las razas, raciones estándar, con niveles de energía que oscilen entre 6000-8400 Kcal y bajos en proteína.

Del Toro *et al.* (1986) concluyeron, que el hecho de utilizar diferentes niveles de alimentos en la dieta de los sementales, puede traer efectos negativos y positivos en la producción de semen, desde un incremento o disminución del volumen espermático hasta cambios en las características físico – químicas del eyaculado. Al respecto, el Grupo de Reproducción del Instituto de Investigaciones Porcinas ha demostrado que una dieta no balanceada produce una disminución en el volumen y concentración del eyaculado, aumentando el por ciento de mortalidad espermática a partir de la quinta semana de instaurada dicha dieta (IIP, 2008).

Martínez (1998) recomienda para verracos adultos el suministro de 2,05-3,0 Kg/día de una ración con 2500 Kcal/Kg de energía digestible y 13-14% de PC (proteína cruda), mientras que para verracos jóvenes recomiendan 2-2,5 Kg/día de una ración con 2900 Kcal/Kg y 16% de PC. Según estos autores es necesario suministrar raciones balanceadas, evitando el engrasamiento excesivo o una subalimentación que provoque una reducción de peso importante y por ende de la vitalidad. Sin embargo, Colembrander y Kemp en 1990 recalcaron que los sementales deben consumir de 2,7-3,1 Kg/día de concentrado con 12,56 MJ/Kg de MS (materia seca) de energía metabolizable, 145 g de proteína, 6,8 g de lisina y 4,4 g de metionina más cistina.

2.6.4. Raza

La utilización de razas con mejor comportamiento reproductivo y el empleo de un adecuado programa de cruzamiento, repercutirán favorablemente en los resultados económicos y productivos que puedan alcanzarse (IIP, 2008).

González *et al.* (1991), evaluaron los efectos de diferentes razas en cuanto a las variables: volumen, concentración espermática por mL, motilidad y total de espermatozoides por eyaculado; detectando que la raza mostró efectos significativos sobre la concentración espermática por mL de semen y el total de espermatozoides por eyaculado.

De forma general, la raza ejerce un efecto significativo en todos los indicadores de calidad espermática. En estudios realizados por Rodríguez *et al.* (2010) se comparan verracos CC21 y L35, donde los primeros mostraron superioridad sobre los segundos para el volumen, la concentración y la motilidad. Además, se plantea que las razas Duroc y Hampshire presentan bajas concentraciones espermáticas (Del Toro *et al.*, 1997).

Otros estudios han comparado la influencia de la raza en cuanto a las anomalías de la célula espermática encontrando los mayores porcentajes en las razas Yorkshire y Landrace (De Serrano *et al.*, 1996). Además Fernández *et al.* 2001 plantearon que el genotipo Landrace presentó el mayor porcentaje de contaminación para todos los microorganismos presentes en el semen lo que hace suponer que esta raza presenta mayor susceptibilidad para la contaminación del semen durante la extracción y evaluación del mismo.

Igualmente Delint *et al.* (1991) dijeron que la raza Yorkshire era capaz de producir mayor número de dosis potenciales (16,8-26,0) con una concentración de 3×10^9 - 5×10^9 spz., que el Hampshire (14,2-24,1), el Duroc (12,7-21,7) y el Landrace (12,3-20,5).

2.6.5. Factores climáticos

La constante variación de los factores climáticos y ambientales, disminuye los valores zootécnicos del semen porcino, debido a las características anatómicas de la especie que lo hacen altamente sensible a los cambios climáticos, provocando modificaciones en su conducta y fisiologismo cuando se observan temperaturas y humedad relativa altas, las cuales inciden en su desarrollo (Martínez, 1998).

Bajo las condiciones del clima tropical húmedo (Henaó *et al.*, 2004), el efecto de las altas temperaturas cobra mayor importancia, sobre todo si se tiene en cuenta que en los meses de verano (época de lluvia), los valores de temperatura se encuentran siempre por encima de los 25°C, alcanzando los 30°C y más con valores de humedad relativa superior al 80 %. Esta situación provoca la ruptura del equilibrio térmico producto del bloqueo de los mecanismos disipadores del calor (radiación, conducción y convección) y por tanto la elevación de la temperatura corporal y testicular.

Rocha *et al.*, (2005), señalaron que la fertilidad masculina por lo general tiende a declinar durante los meses más calurosos del verano. Estos autores demostraron que las temperaturas ambientales altas están relacionadas con una reducción de la motilidad y de la concentración espermática, con lo que se reduce la fertilidad.

Williams (2000), realizó estudios acerca del estrés calórico de los porcinos y concluye que las altas temperaturas producen una disminución de la motilidad y un aumento de las anomalías del espermatozoide, sobre todo la aparición de espermatozoides con cola de látigo y un incremento en el porcentaje de gotas citoplasmáticas distales. Para evitar esto, se suele colocar un aislamiento en las cubiertas de las granjas o ampliar las ventanas de las mismas (Caiza, 2009).

Williams (2000), plantea además, que la temperatura óptima para los sementales, oscila entre 13 – 16°C, ya que si esta sobrepasa los 24°C, aunque sea por cortos periodos de tiempo, la motilidad se afecta y aumenta el por ciento de aberraciones morfológicas de los espermatozoides.

Mac Glone en 1987 coincidió con lo anteriormente planteado, afirmando que cuando la temperatura del aire asciende por encima de los 29,5°C, empieza a morir los nemaspermos, provocando una disminución de la tasa de fertilidad entre los 16-20 días posterior a la ola de calor, aunque si el calor es verdaderamente agobiante, entonces puede ser que el eyaculado quede afectado inmediatamente.

Fuentes *et al.* (1989) hallaron una disminución de la concentración, motilidad y vitalidad de los eyaculados de sementales porcinos con edades entre 12 – 36 meses durante el trimestre febrero – abril (temperatura alta y humedad relativa baja), mientras que en el trimestre de Noviembre – Febrero (temperatura y humedad relativa bajas) estos resultados fueron máximos. Coincidiendo con este autor, Cameron (1987) puedo apreciar que la producción y calidad del semen puede ser afectada al exponer el semental a temperaturas entre 31 – 35°C por 72 horas,

notando reducción de la motilidad, concentración y total de espermatozoides, mientras que el volumen no varió prácticamente.

Por su parte, Coraza *et al.* (1990) afirmaron que si la temperatura testicular alcanza los 40,5°C ocurren lesiones espermáticas.

Del Toro *et al.* (1988) y Coraza *et al.* (1990) en trabajos similares comprobaron que durante el periodo de verano (Junio - Septiembre), en el cual las temperaturas son más elevadas, la viabilidad espermática, la motilidad y la fertilidad del semen porcino disminuyen, produciéndose un incremento significativo en el por ciento de nemaspermos anormales y con gota citoplasmática.

Pérez *et al.* (1997), midieron la efectividad de las cubriciones (%), los promedios de crías vivas, muertas y totales por parto y la cantidad de crías vivas y totales cada 100 cubriciones con sementales (D x H) y (H). Se observó una disminución de la efectividad de las cubriciones de mayo a agosto en ambas razas con valores que oscilaron entre 51 – 65 %. A partir del mes de septiembre se produjo una elevación de este indicador.

Según Fernández *et al.* (1997) la disminución de la fertilidad del macho debido a las altas temperaturas, contribuye a la disminución de las características reproductivas de los cerdos. Por esta razón es importante proteger de manera permanente el verraco contra las temperaturas excesivas (mayores de 28 – 30°C) para lo cual se realizarán nebulizaciones periódicas con agua para que de esta forma se alcance una mejora de la calidad del semen y la tasa de concepción de la hembra.

Recientemente Hernández y Alemán (2008) notaron cambios pronunciados en las características del semen de verraco durante 3–5 semanas de haber sufrido un estrés calórico, mostrando un decrecimiento de la motilidad, libido sexual, la producción de semen además de un alto número de gota citoplasmática proximal y

algunas cabezas de zoospermos y acrosomas anormales, trayendo consigo una alteración significativa en la fertilidad.

2.6.6. Factores Microbianos

Existen muchos factores que pueden influir directamente sobre la calidad y conservación del semen porcino, dentro de ellos, uno de los más importantes es la contaminación por microorganismos (García *et al.*, 1998).

Se conoce que existen varias fuentes de contaminación; algunos autores plantean que ocurre durante el proceso de la extracción (Arauz *et al.*, 2000) o puede provenir del aparato génito-urinario del semental, la cual puede ocasionar una disminución de la fertilidad (Serrano *et al.*, 1994, Conza *et al.*, 2004), mientras que otros afirman que las más importantes son el divertículo prepucial, las heces fecales, la piel del verraco, el aire expirado, el personal que colecta el semen, el equipo de colección, el maniquí, el diluyente o agua, equipos y utensilios de laboratorio en sentido general (Serrano, 1995 y Serra, 2005).

Muchos investigadores han comprobado que la contaminación bacteriana del eyaculado porcino es inevitable y que el número de estas en el eyaculado puede variar de menos de 1000 / mL a más de 100 000/ mL (Martínez *et al.*, 1987 y Martínez *et al.*, 1992).

Se considera anormal cuando el conteo de bacterias excede las 10 000 por mililitro o cuando una bacteria específica logra sobrevivir en el semen (Althouse y Lu, 2005). Se ha escrito también que una alta presión de infección contaminando al semen puede matar o producir un número variado de patologías espermáticas (Johnson *et al.*, 2000; Flowers, 2005).

Le Coz (2006) ha informado que a partir de 10 000 colonias/mL se producen modificaciones del medio, metabolitos ácidos, aglutinación, disminución del

número de espermatozoides vivos, disminución de la motilidad, así como otras patologías asociadas a la reproducción como la metritis en las cerdas y la disminución de la fertilidad.

En estudios realizados en Perú por Conza *et al.*, 2004 encontraron, que el 60% de los eyaculados contenían una carga bacteriana que sobrepasó las 5 013 UFC/mL (unidades formadoras de colonias), límite permitido por la OIE (OIE 2007) y debido a esto se obtuvieron resultados de fertilidad bajos, en las granjas objetos de estudio.

Se ha demostrado con anterioridad, el efecto aglutinante y espermicida de la hipomotilidad que provoca la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* (Mirjyn, 1999; Kuster y Althouse, 1997; Monga y Roberts, 1994; Sone, 1990; con afectaciones en la fecundación, debido a una alta mortalidad embrionaria (Tapia y Córdova, 2007).

La flora seminal puede ser banal o potencialmente patógena, debido a esto ciertas bacterias presentan una importancia mayor por las manifestaciones clínicas asociadas a su presencia. *Brucella suis*, responsable de orquitis en el verraco, con una acción directa sobre los espermatozoides es un ejemplo de microorganismo potencialmente patógeno (Althouse y Lu, 2005).

En estudios realizados en México se reveló la presencia de diferentes géneros bacterianos, encontrándose con mayor frecuencia *Staphylococcus aureus*, *Leptospiras*, *Escherichia coli*, *Eubacterium suis*, y otras que comúnmente se encuentran en los eyaculados como *Klebsiella spp*, *Citrobacter spp*, *Micrococcus spp*; todos ellos causantes de algún tipo de trastornos que pueden provocar directa o indirectamente infertilidad. Otros géneros encontrados pero con una menor frecuencia son *Streptococcus spp*, *Proteus vulgaris*, *Brucellosis*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Mycoplasma hyosynoviae*, *Serratia spp* y *Serratia marcescens*, *Corynebacterium spp*, *Enterobacter spp*, y *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter spp*,

Alcaligeners spp, Bacillus spp, Bordetella spp, Salmonella spp, Actinobacillus, Pasteurella spp, Aeromonas spp, Burkholderia, Providencia spp, Flavobacterium spp, Aerobacter spp, Xanthomonas, Comamonas spp; estas últimas causando efectos negativos en la producción de esperma y/o a la infección del tracto femenino, orquitis, degeneración testicular, aglutinación de células espermáticas, cambios de pH, baja motilidad masal y daño acrosomal, de forma general todos contribuyen a serios problemas de fertilidad (Rueda *et al.*, 2006 y Acosta, 2010).

Estudios recientes realizados por Maroto *et al.* (2010), obtienen contaminación bacteriana en el 74,7 % de los eyaculados analizados; siendo *E. coli* la bacteriana con mayor frecuencia de aparición, representando el 79 % entre las muestras contaminadas. Otras especies encontradas fueron *Proteus* y *Serratia spp.* (36 %), *Enterobacter spp.* (29 %), *Klebsiella spp.* (14 %), *Staphylococcus spp.* (12 %), *Streptococcus spp.* (9 %), *Pseudomonas spp.* (8 %) y bacterias anaerobias (1 %).

Otras bacterias han sido encontradas en el semen eventualmente, ejemplo de ellas son los *Mycoplasmas hyopneumoniae, hyorhinis, verecundun* y los *Ureaplasmas* (Martínez *et al.*, 1987; Althouse, 1999), sin embargo, no existe consenso general respecto a su presencia en el semen, por la baja frecuencia de aislamientos realizados, a partir de muestras de semen o por las dificultades prácticas para poner en evidencia estos agentes por cultivo microbiológico.

De forma general, son varias las especies bacterianas que han sido aisladas como contaminantes del semen porcino, pero en un aspecto si se ha logrado un consenso general, y es que las especies bacterianas más frecuentes aisladas del eyaculado de verracos son *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus spp.* y *Proteus spp.* (Sone, 1990; Fernández *et al.*, 2001; Althouse y Lu, 2005; Mangale, 2006; Maroto, 2006; Pineda y Santander, 2007 y Acosta *et al.*, 2011) (ver Anexo 1).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio fue realizado en los Laboratorios de Inmunología y Microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, y en el Laboratorio de Microbiología del Centro de Inseminación Artificial de Villa Clara.

El muestreo se realizó en cuatro Unidades Porcinas pertenecientes a la Granja 13 de Marzo de la Empresa Agropecuaria Militar Villa Clara – Cienfuegos, entre los meses de Junio – Agosto del 2011. Una distribución de las muestras por unidades se muestra en el Anexo 2.

Los verracos fueron incorporados al régimen de explotación como sementales a los ocho meses de edad con un peso aproximado de 110 Kg. El manejo fue el establecido para estos centros (IIP, 2008) y consistió en el alojamiento individual en corrales de 8 m² de área con un suministro de agua a voluntad mediante bebederos automáticos tipo tetina. En el mismo caso estuvo el suministro de alimento.

Las muestras de semen fueron procedentes de un total de 55 verracos de razas Duroc-Jersey, Yorkshire y Landrace, con edades comprendidas entre 11 y 38 meses; como se muestra en el Anexo 2.

3.1. Obtención y procesamiento de las muestras

Para una correcta obtención de la muestra seminal se tuvieron en cuenta los puntos de riesgo relacionados con el verraco descritos por Arlegui (2006). Los mismos son: la recogida de la fracción espermática o rica en espermatozoides, desechando la fracción pre-espermática o “tapioca”; el pene inclinado y el prepucio sin limpiar ni secar así como los pelos del prepucio sin cortar y las patologías del verraco como orquitis, cistitis, uretritis, u otras enfermedades sistémicas. La extracción del semen se realizó con el empleo del método de la mano enguantada (Hernández, 1976);

cumpliendo las medidas higiénicas-sanitarias establecidas, con el objetivo de evitar contaminaciones secundarias durante la extracción, recolección y manipulación del mismo. [Una vez que el verraco efectúa la monta y deja al descubierto el pene, se coloca el dorso de la mano contra la pared ventral del abdomen por delante del orificio prepucial, sujetándolo suavemente y ejerciendo una ligera tracción hacia delante con el fin de lograr su amplexación. Se aplicó una presión digital rítmica a 2 o 3 cm distal del pene para estimular la eyaculación (IIP, 2008)].

Para la realización del procedimiento se contó con envases de vidrio con capacidad máxima de 500 mL y un embudo cubierto con un filtro de gasa estéril, separando la fracción sólida (tapioca) de la líquida.

El semen se diluyó en una proporción 1:1 en Diluyo Conservador (Glucosa Anhidrica, 60 gr.; EDTA, 3,7 gr.; Citrato de sodio tribásico, 3,5 gr.; hidróxido de sodio, 0,3 gr.; Penicilina G, 5×10^5 UI; Dihidroestreptomicina, 0,5 gr.); diluyente usado en el Centro de Inseminación Artificial de Santa Clara, Villa Clara. Las muestras fueron transportadas hasta el Centro de Inseminación Artificial y la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas en nevera de mantenimiento, a una temperatura de 17°C.

El examen espermático y bacteriológico se le realizó al 100 % de los animales, de los cuales 42 (76,4 %) fueron de la raza Duroc; 7 (12,7 %) son Yorkshire; y 6 (10,9 %) pertenecen a la raza Landrace.

3.2. Examen espermático

3.2.1. Volumen

La medición del volumen del eyaculado se realizó después del filtrado, utilizando una probeta graduada con capacidad de 500 mL, previamente esterilizada (IIP, 2008).

3.2.2. Concentración

El método usado para obtener la concentración espermática es la cámara cuenta glóbulos de Neubauer; técnica confiable y de fácil ejecución. El procedimiento seguido fue el siguiente: en 10 mL de agua coloreada se añadió 0,1 mL de semen puro tomado con una pipeta de 1 mL, homogeneizar. Se llenó por capilaridad ambos cuadrantes de la cámara limpia, seca y montada con un cubreobjeto, colocamos la cámara ya preparada en el microscopio y se procedió al conteo de las células espermáticas. En cada cuadrante se contaron cinco cuadros de la cámara utilizada, tomando los de las esquinas y del centro. Finalmente, multiplicamos el resultado de este conteo por 2,5 y esto nos da los millones de espermatozoides por mL ($\times 10^6/\text{mL}$) que existen en el eyaculado (IIP, 2008).

3.2.3. Motilidad

Para la evaluación de la motilidad colocamos una gota de semen después de su recolección, sobre un portaobjetos y enfocamos al microscopio óptico con platina caliente, atemperado previamente para estimular el movimiento de los espermatozoides. Los valores de motilidad se expresaron en por ciento, y sus valores dependieron del tipo de movimiento que manifestaron las células espermáticas, aceptando como valor mínimo 70%.

Cuando se observa un movimiento rectilíneo sin oleaje toma valores entre 60-65%, si hay oleaje oscila entre 70-75% y si se presenta en forma de remolino con movimiento muy rápido, la motilidad es del >75%; observable solamente en sementales jóvenes elites (IIP, 2008).

3.2.4. Aglutinación

La medición de la aglutinación se realizó al mismo tiempo que la evaluación de la motilidad espermática. Para la clasificación de la aglutinación se utilizó el siguiente

sistema de clasificación para los eyaculados según el grado de aglutinación: Ligeramente aglutinados (+), Aglutinados (++) y Muy aglutinados (+++) (IIP, 2008).

3.2.5. Morfología espermática

Para el estudio morfológico de las muestras se clasificaron un total de 200 espermatozoides por muestra, los cuales fueron analizados por métodos de tinción (espermograma) y con el microscopio de contraste de fase a 400X de aumento (IIP, 2008).

Se determinó el número de espermatozoides patológicos; así como las anomalías de la cabeza y el capuchón (microcefalia, macrocefalia, formas degenerativas, cabeza estrecha, capuchón desprendido, capuchón desprendiéndose, periforme, capuchón roto y cabeza suelta); anomalías del cuello (estrecho, retroaxial, abraxial, desviado y gota protoplasmática); anomalías de la parte intermedia (abreviada, engrosada, estrecha, doblada y gota protoplasmática) y las anomalías de la cola (torsión de la cola, gota protoplasmática y espiral) (Ver Anexo 3).

3.3. Examen bacteriológico

En la evaluación bacteriológica cualitativa de las muestras se realizaron cultivos aerobios, anaerobios y microaerófilos en Agar Triptona Soya, y medios cromogénicos. La tipificación se realizó a través de la observación de la morfología de las colonias según las especificaciones de los medios de cultivo (BioCen, 2004).

Para los conteos de aerobios mesófilos totales la muestra de semen diluido se sembró 0,1 mL con la espátula de Drigalsky en un medio de cultivo enriquecido de Agar Triptona Soya incubándose a 37°C durante 48 horas. El cálculo se realizó mediante la expresión siguiente: $N = (P \times D) / 0,1 = \text{Total de bacterias} / \text{mL}$. Donde: P: promedio de colonias; D: dilución del semen (10) y 0,1: inóculo (IIP, 2004).

En el caso de la determinación de anaerobios se realizó el mismo procedimiento pero la incubación se realizó en jarra de anaerobiosis, creando una atmósfera anaerobia con la utilización de las bolsas de incubación especiales Anaerocult® P.

Se realizó la determinación de *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Para la primera se utilizó el medio cromogénico CROMOCEN AGN (BioCen, 2004). El diagnóstico diferencial de *Pseudomonas aeruginosa* se realizó mediante cultivo en Caldo Glucosado 1 % y el uso del reactivo cloroformo (IIP, 2004).

La determinación de *Escherichia coli* se realizó a través de la siembra directa utilizando el asa bacteriológica e incubando las muestras a 41°C durante 24 horas en el medio de cultivo cromogénico CROMOCEN CC (BioCen, 2004).

Las colonias que morfológicamente poseían características similares a los géneros anteriormente mencionados y se encontraban viables, se les realizó estudio bioquímico correspondiente para su clasificación, según la Norma Ramal del Ministerio de la Agricultura (NRAG-1010/89) para la clasificación microbiológica.

3.4. Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos fueron procesados con el empleo del paquete estadístico: ESTADISTICA Versión 8.0.360. Para establecer relaciones entre variables se utilizaron las pruebas de correlación por rangos de Spearman y para realizar comparaciones entre variables se aplicaron las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Examen espermático

Comportamiento del Volumen

El volumen estuvo en el rango de valores establecido por el Manual de Crianza Porcina (IIP, 2008), aunque por debajo del valor promedio (200 mL). La figura 1 muestra los promedios obtenidos en las cuatro unidades evaluadas. Los resultados obtenidos son superiores a los obtenidos por Acosta *et al.* (2008); estos autores reportan volúmenes de 102,50; 97,88 y 101,70 mL para las razas CC21, Yorkshire y L35 respectivamente.

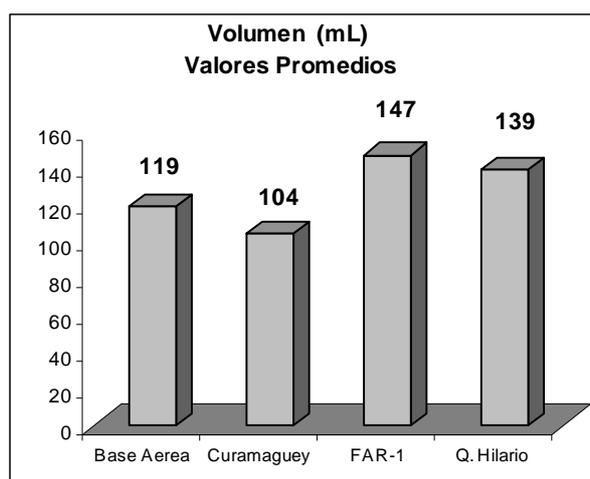


Figura 1: Valores promedios de volumen de eyaculado por Unidades Porcinas evaluadas.

Estos resultados apuntan a dos causas fundamentales: la época del año en que se realizaron los muestreos o las edades de los animales. En cuanto a la época del año, este trabajo se realizó en los meses de verano, donde las temperaturas son relativamente altas. Muchos autores concuerdan con los efectos negativos de las altas temperaturas sobre los parámetros espermáticos, específicamente el volumen de la eyaculación. Hernández y Alemán, 2008 plantearon que en el otoño y en el invierno, los verracos suelen proporcionar mayores volúmenes de eyaculado. Sin

embargo, Henao *et al.* (2004) plantea que en condiciones tropicales no se afecta sensiblemente la producción y calidad del semen, debido a las condiciones ambientales o la época de año.

En nuestro país se reportan volúmenes de semen de 25 y 241 mL para verracos cruzados (Arias *et al.*, 2001). Esto nos hace suponer que el hecho de utilizarse la extracción manual en animales sometidos al sistema de monta natural sea la causa fundamental que incida en los bajos volúmenes de eyaculados obtenidos en nuestro trabajo. Este resultado coincide con los bajos niveles de volumen obtenidos por Tosar *et al.* (2002) y Hernández *et al.* (2008) en la monta natural, cuando se comparan con otros tipos de sistema de monta. Además, en la monta natural, la raza puede tener cierta influencia sobre el volumen (Alvarado *et al.*, 2001).

Comportamiento de la Concentración

La concentración espermática estuvo en el rango de valores establecido por el Manual de Crianza Porcina (IIP, 2008), todas las unidades poseen valores por encima del valor promedio (250 spz./10⁶). La Figura 2 muestra los promedios obtenidos en las cuatro unidades evaluadas, evidenciándose los valores más bajos en el Centro Reproductor de Curamagüey.

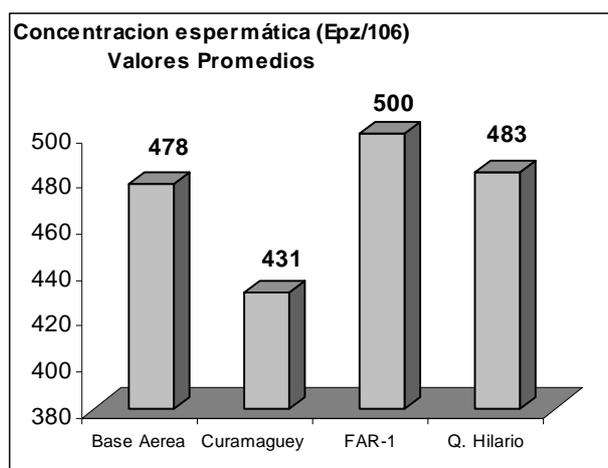


Figura 2: Valores promedios de concentración espermática por Unidades Porcinas evaluadas.

Los resultados son superiores a los obtenidos por Del Toro *et al.* (1997), quienes informaron concentraciones espermáticas de 348 a 362 (esp x 10⁶ /ml) para los verracos Duroc, Hampshire y Duroc x Hampshire.

Otro estudio reporta valores superiores de concentración espermática pero en razas diferentes a las nuestras (61,18; 63,72 y 55,5 spz/10⁷ en CC21, Yorkshire y L35 respectivamente) (Acosta *et al.*, 2008).

Comportamiento de la Motilidad

La motilidad espermática estuvo en el rango de valores establecido por el Manual de Crianza Porcina (IIP, 2008), aunque una de ellas: Curamagüey se encuentra por debajo del valor promedio establecidos de 70 %. La Figura 3 muestra los promedios obtenidos en las cuatro unidades evaluadas.

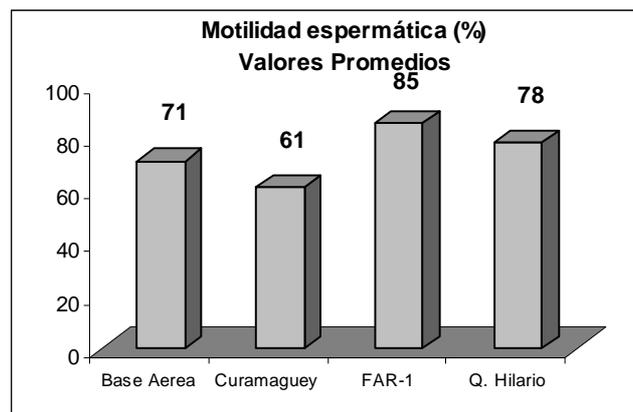


Figura 3: Valores promedios de motilidad espermática por Unidades Porcinas evaluadas.

Otro estudio reporta similares por cientos de motilidad pero en razas diferentes a las nuestras (80,20; 76,06 y 72,51 % en CC21, Yorkshire y L35 respectivamente) (Acosta *et al.*, 2008).

Comportamiento de la Aglutinación

Del total de muestras estudiadas, 46 (83,6 %) presentaron los espermatozoides ligeramente aglutinados (+), 7 (12,7 %) con espermatozoides aglutinados (++),

solamente 2 muestras (3,6 %) no aglutinados y no se observaron muestras con espermatozoides muy aglutinados (+++). Estos resultados ofrecen criterios positivos sobre la calidad de los eyaculados obtenidos debido a que una ligera aglutinación espermática en mayor o menos grado es un proceso muy frecuente en casi todos los eyaculados porcinos (IIP, 2008).

Morfología espermática

El estudio de la morfología espermática es un componente de la evaluación andrológica que permite identificar reproductores que sufren patologías genitales. Los resultados de estas pruebas no muestran relación con la fertilidad pero permiten identificar reproductores con semen de baja calidad, con base a lo cual se descartarían como sementales utilizados en la reproducción (Rodríguez y Eriksson, 2000).

De Serrano *et al.* (1996), en un trabajo realizado en el estado Aragua (Venezuela), analizaron las anomalías espermáticas de 345 eyaculados de verracos. Fueron examinados 38 398 espermatozoides, clasificándose las anomalías en cinco tipos: cabeza, acrosoma, cuello y pieza intermedia, cola y gota citoplasmática. Resultando que 16,2 % de los espermatozoides examinados presentaron anomalías, siendo éste resultado similar a otras investigaciones realizadas que establecieron que el semen de verraco se considera normal en un 7 a 30 % de morfoanomalías.

En nuestro trabajo se analizaron un total de 10 400 espermatozoides, de los cuales 649 presentaron algún tipo de patología, representando un 6,2 %.

Como se puede observar en el Anexos 3 (Espermiogramas), en ninguna de las muestras analizadas, en las cuatro unidades, se verifica un por ciento de patologías

superior al 20%, límite permisible para considerar un verraco apto para la reproducción (IIP, 2008).

De forma general los resultados evidencian que las mayores anomalías se presentan en la cabeza y el capuchón (53 muestras, 96,4%), en este caso los mayores problemas presentados fueron las formas degenerativas y la cabeza suelta. Le siguen las anomalías presentes en la cola del espermatozoide (45 muestras, 81,8%), donde la torsión de la cola es el problema más frecuente. Aparecieron además patologías en el cuello (39 muestras, 70,9%), siendo el cuello retroaxial el de mayor frecuencia. Las patologías de la parte intermedia fueron las más escasas (5 muestras, 9,1%). Los dos últimos resultados se contraponen a lo planteado por algunos autores (De Serrano *et al.*, 1996) que reportan las anomalías más frecuentes en cuello y la parte intermedia.

4.2. Examen bacteriológico

De un total de 55 muestras de semen porcino, sometidas al examen bacteriológico, hubo un crecimiento de microorganismos en el 100% de los casos investigados. En el conteo total de microorganismos aerobios mesófilos se obtuvieron valores desde 200 hasta 18 000 UFC/mL; existiendo un total de 20 muestras (36,4 %) que superaron los límites permitidos por la OIE 2007 para semen diluido. Estas cifras evidencian la alta carga contaminante de bacterias que están presentes en los eyaculados evaluados, lo cual está estrechamente relacionado a la pérdida de motilidad espermática, a la reducción de la fecundación y a la muerte embrionaria (Martínez *et al.*, 1992). No obstante, se han reportado conteos bacterianos muy superiores en el semen fresco, Sone, 1990 reportó conteos bacterianos por mililitros entre 5 500 y 48 000 UFC.

En general, la presencia de bacterias ocasiona efectos negativos sobre los espermatozoides al alterar el plasma seminal, constituyéndolo en una fuente de

contaminación para el tracto genital de la hembra. Mirjyn (1999) determinó que más de 4 000 colonias de bacterias producen una reducción de la calidad del semen y de su capacidad de conservación. Kozdrowski *et al.* (2005) y Le Coz (2006) han comprobado que niveles de contaminación de 10 000, colonias por mL tiene graves repercusiones sobre la prolificidad.

No fueron obtenidos gérmenes anaerobios, resultado que concuerda con Sone (1990); aunque otros autores si han aislado gérmenes anaerobios en muestras de semen (Fernández *et al.*, 2001; Maroto, 2006).

La determinación de Coliformes Totales nos brindó un estimado del grado de contaminación de las muestras evidenciándose su presencia en el 81,8 % de las mismas (45 muestras).

Se obtuvieron 33 (60 %) muestras positivas a *Pseudomonas aeruginosa* y 24 (43,6 %) muestras positivas a *Escherichia coli*.

La especie *Pseudomonas aeruginosa* fue la que con mayor frecuencia fue aislado entre las muestras estudiadas (60,0 %); resultado este que concuerda con lo encontrado por Sone (1990) donde aísla esta especie en un 80,4 % de las muestras, además estudios recientes realizados por Acosta *et al.* (2011) presentan aislados de *P. aeruginosa* en un 42,8 % de sus muestras analizadas.

Otros autores han reportado la presencia de dicho género bacteriano como contaminante del semen porcino pero en menores por cientos de aparición como son: Althouse y Lu (2005), reportan un 6,4 % y Pineda y Santander (2007), reportaron un 8,8 %. Sin embargo otros como Fernández *et al.* (2001) no reportan ningún aislado de *P. aeruginosa* en sus estudios.

Para el caso de *Escherichia coli*, se presentó en un 43,6 % de las muestras (24 muestras) siendo el segundo germen mayormente aislado en los eyaculados

estudiados. Este resultado se contrapone a lo planteado por Maroto (2006), quien obtiene por cientos superiores (79 %) de contaminación por *E. coli* en sus muestras analizadas.

En sentido general, los por cientos obtenidos para la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* en el semen de los animales investigados concuerdan con los resultados de Conza *et al.* (2004); donde ambas especies son aisladas en la mayor parte de sus animales independientemente del sistema de crianza que posean. Estas bacterias han sido asociadas con alteraciones en la calidad del semen. Trabajos realizados por otros autores han demostrado el efecto espermicida de *E. coli* y que además podría ser la causa de la aglutinación espermática en el eyaculado. Así mismo, la presencia de *P. aeruginosa* está relacionada con la pérdida de motilidad espermática, reducción de la fecundación y muerte de embriones en la especie bovina (Martínez *et al.*, 1984).

4.3. Impacto de *Pseudomonas aeruginosa* en la motilidad espermática

En la Figura 4 se aprecian diferencias significativas (Prueba U de Mann-Whitney $p=0,000139$) en los niveles de motilidad espermática en dependencia de la ausencia o la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en la muestra seminal, evidenciándose bajos valores de motilidad cuando se encuentra presente, y en los casos donde existe contaminación con este germen, la motilidad de los espermatozoides se ve afectada. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Sone (1990) y Mirjyn (1999), evidenciándose el efecto negativo que causa la presencia de *P. aeruginosa* sobre la motilidad espermática.

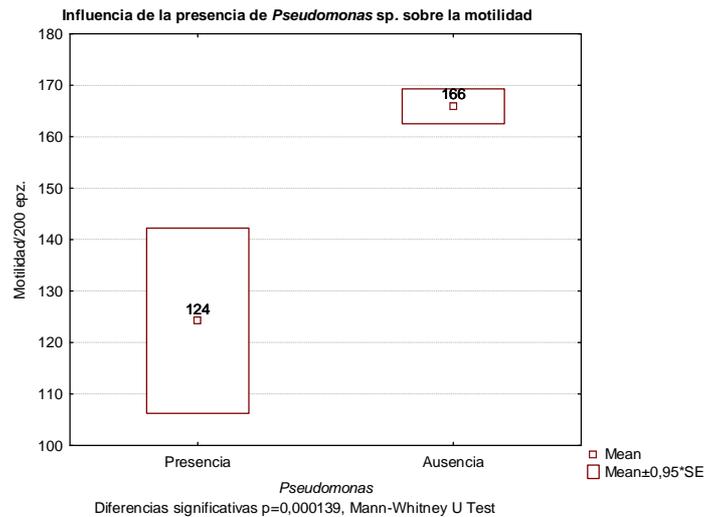


Figura 4: Influencia de la presencia o ausencia de *P. aeruginosa* sobre la motilidad.

4.4. Relación entre la presencia de *Escherichia coli* y la aglutinación

Algunos investigadores han asociado los fenómenos de aglutinación espermática con presencia de *E. coli* en el eyaculado, al plantear que esta bacteria posee en sus fimbrias estructuras de naturaleza proteica denominadas lectinas, que se combinan con algunos carbohidratos presentes en la membrana citoplasmática del espermatozoide, forman glicoproteínas, que causan la aglutinación entre las células espermáticas (Fernández *et al.*, 2001).

Tabla 3: Influencia de la presencia o ausencia de *E. coli* sobre la aglutinación.

Niveles de Aglutinación Espermática					
<i>E. coli</i>	No aglutinados	Ligeramente aglutinados	Aglutinados	Muy aglutinados	Total
Ausencia	2	25	4	0	31
Presencia	0	21	3	0	24
Total	2	46	7	0	55

En nuestro caso no se encontraron diferencias significativas (ver Tabla 3) en cuanto a la presencia o ausencia de *E. coli* con respecto a la aglutinación espermática. Inferimos que las cepas aisladas de *E. coli* de nuestros eyaculados no son cepas

fimbrias F1-manosa-dependientes, las cuales son las causantes de aglutinación espermática (Maroto, 2006). Sin embargo, ya sea con presencia o ausencia de *E. coli*, 46 (83,6 %) muestras presentaron los espermatozoides ligeramente aglutinados, resultado esperado pues en el semen porcino es común encontrar los espermatozoides con ligero grado de aglutinación (IIP, 2008).

4.5. Influencia de la edad de los sementales sobre los parámetros espermáticos

Uno de los factores que influye en el volumen de eyaculado es la edad, muchos autores coinciden en que a medida que aumenta la edad, se incrementa el volumen (Williams, 1981; Del Toro *et al.*, 1986; Coraza *et al.*, 1990; Gil *et al.*, 1991). En los sementales evaluados se observó un ligero incremento de dicha variable con respecto a las edades (ver Tabla 5).

Tabla 5: Influencia de la edad sobre el volumen

Grupos de Edades (meses)	Volumen (mL)
de 8-14	116,07
de 15-20	122,50
de 21-36	121,80
Mayores de 36	125,00

Sin embargo, con las muestras trabajadas no se pudo demostrar cambios estadísticamente significativos en el volumen del eyaculado en relación con la edad de los sementales, por lo que no podemos afirmar que exista una influencia de la edad sobre el volumen del eyaculado. La Figura 5 representa los valores de volumen en relación a la edad de los sementales. Al realizarse un análisis de correlación lineal a estas variables, se establece que se comportan de modo independiente en los sementales evaluados. En un momento anterior a esta discusión se establece que los resultados obtenidos para la variable volumen están

influenciados por otros factores independientes de la edad (ver acápite Comportamiento del Volumen).

Se realizaron pruebas no paramétricas con el objetivo de corroborar este resultado, las cuales se presentan en el Anexo 4.

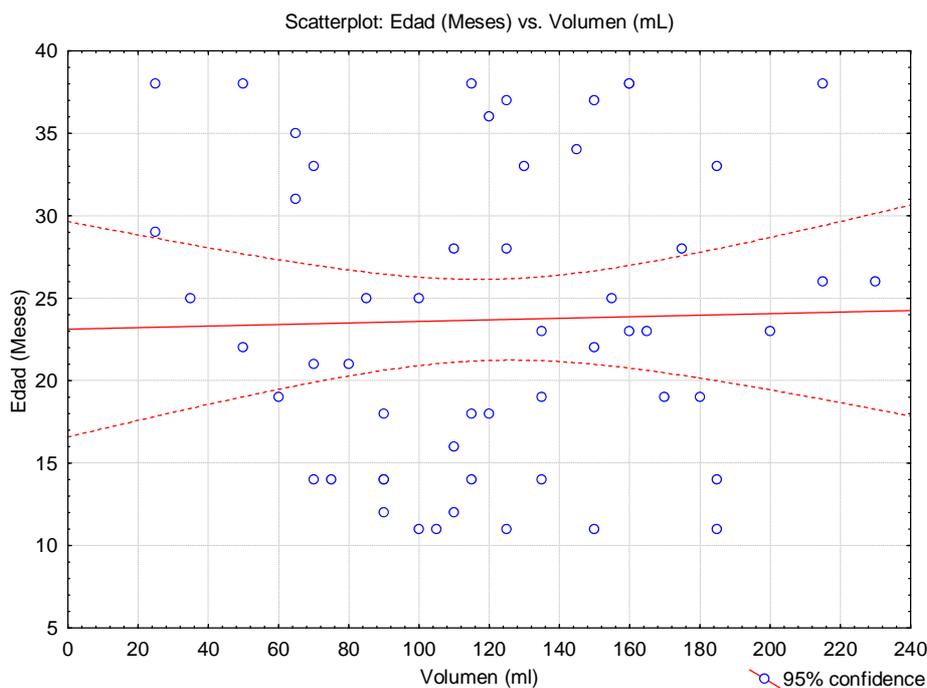


Figura 5: Relación entre las variables Edad y Volumen.

Williams (1981); Del Toro *et al.* (1986); Coraza *et al.* (1990) y Gil *et al.* (1991); establecen que al igual que el volumen, las variables Motilidad y Concentración espermática se encuentran influenciadas por la edad de los sementales. Sin embargo, en nuestras muestras no se detectaron cambios estadísticamente significativos de dichos parámetros con respecto a la edad, resultado similar al obtenido por Del Toro *et al.* (1997).

Sucedo similar al análisis del volumen, pueden existir otros factores que ejerzan algún tipo de influencia sobre ellas, los cuales no son analizados en este trabajo.

Las Figuras 6 y 7 muestran los histogramas correspondientes a la relación entre estas variables con respecto a la Edad, y las pruebas no paramétricas realizadas se muestran en los Anexos 5 y 6.

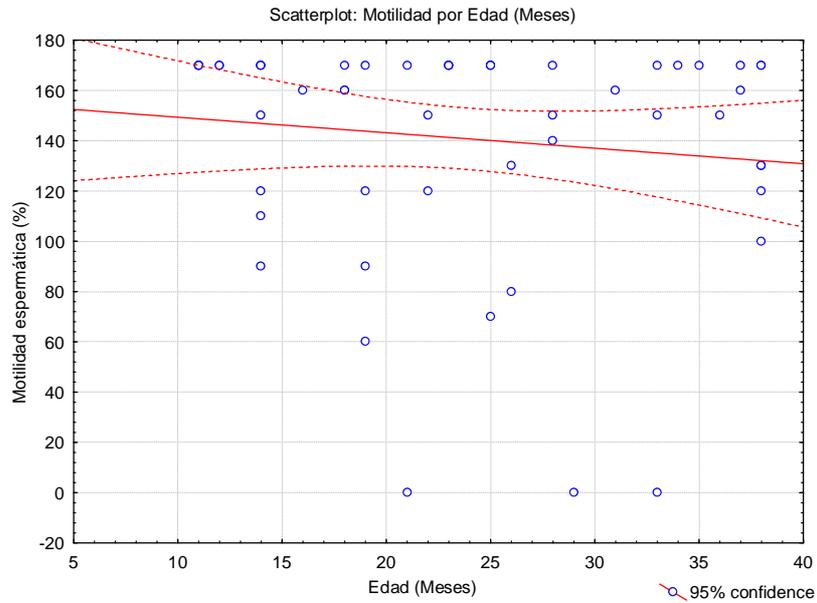


Figura 6: Correlación lineal entre las variables Edad y Motilidad.

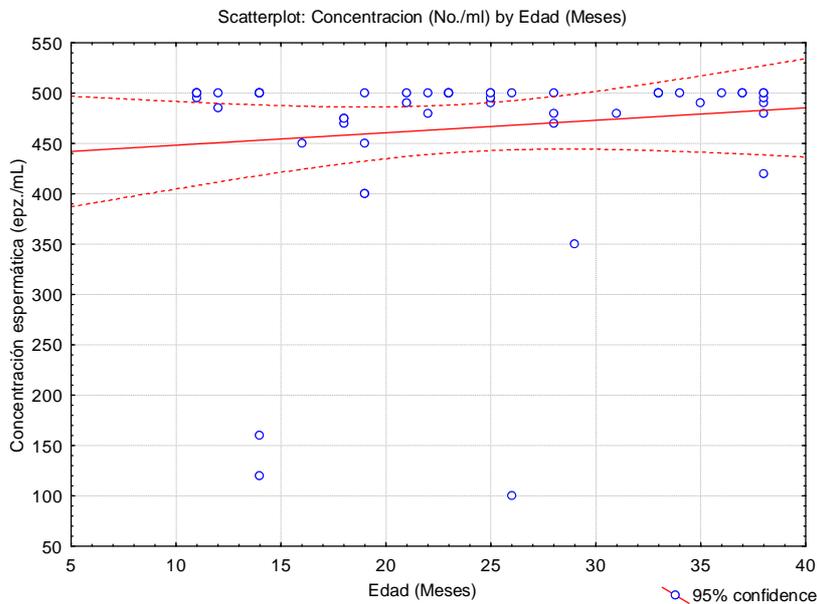


Figura 7: Correlación lineal entre las variables Edad y Concentración.

4.6. Influencia de la raza de los sementales sobre los parámetros espermáticos

Al estudiar el efecto de la raza de los sementales evaluados, sobre los parámetros espermáticos volumen, motilidad y concentración, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al volumen y a la concentración para las razas Duroc-Jersey, Yorkshire y Landrace (ver Anexo 7 y 8, sin embargo, González *et al.* (1991), si obtuvieron efectos significativos para la concentración espermática, aunque trabajaron razas diferentes.

En el caso de la motilidad espermática se detectaron diferencias significativas entre las razas estudiadas, lo cual coincide con lo planteado por Del toro *et al.* (1997). En la Figura 8 se muestran las medias y dispersiones de la motilidad en las razas estudiadas. La raza Duroc-Jersey presenta un rango de valores muy variado con un valor medio inferior a las otras razas, presentando diferencias significativas (ver Anexo 9) con respecto a Yorkshire, y ésta a la vez, presenta diferencias significativas con respecto a Landrace.

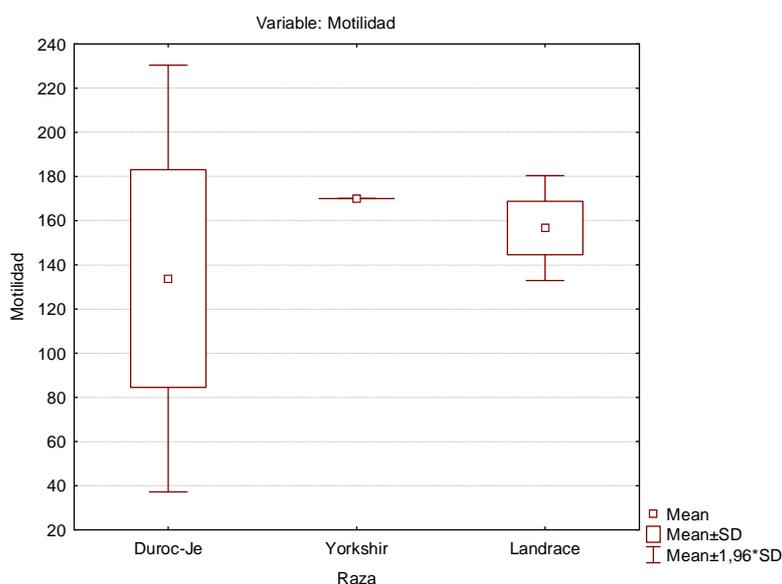


Figura 8: Comportamiento de la motilidad en las razas estudiadas.

Resumiendo, como se aprecia en la figura anterior el rango de valores presentados por la raza Yorkshire es inferior a las razas Duroc-Jersey y Landrace; además, el por ciento medio de motilidad es superior a Duroc-Jersey y a Landrace. Debido a esto, podemos concluir que la raza Yorkshire presentó un mejor comportamiento en cuanto a la motilidad espermática, en comparación con las otras dos razas evaluadas (ver Anexo 9).

V. CONCLUSIONES

1. Los parámetros evaluados mediante el espermiograma se encuentran en los límites permisibles, excepto el volumen del eyaculado, en las cuatro unidades objeto de investigación.
2. La mayor cantidad de anomalías espermáticas se localizaron en la cabeza y capuchón, siendo las más frecuentes las formas degenerativas y la cabeza suelta.
3. *Pseudomonas aeruginosa* fue la especie bacteriana más frecuentemente aislada en los eyaculados analizados.
4. Las cepas de *E. coli* aisladas de los eyaculados estudiados no afectaron la aglutinación espermática, mientras que la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* afecta significativamente ($p=0,000139$) la motilidad espermática.
5. Los parámetros espermáticos volumen, motilidad y concentración no se vieron afectados por la edad de los sementales; sin embargo la raza Yorkshire mostró diferencias significativas con respecto a la motilidad, resultando la de mejor comportamiento en relación a esta variable.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar evaluaciones espermáticas periódicamente en las unidades de la Granja Porcina 13 de Marzo, haciendo énfasis en el Centro Reproductor Porcino Curamagüey.
2. Estudiar otros factores además de la edad y la raza, que puedan influir sobre los parámetros espermáticos Volumen, Motilidad y Concentración espermática.
3. De ser posible, sustituir el sistema de monta natural, por la Inseminación Artificial.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, M. J.; Rueda, M. y Perdigón, R. 2007. Comparación de dos técnicas en la determinación de morfoanomalías del semen porcino. *Rev. Unell. Cienc. Tec.* Vol. 25. pp. 32-39.
- Acosta, M. J.; Perdigón, R.; Rueda, M. 2008. Valoración de Indicadores de Calidad Seminal Porcina, utilizando la fracción rica del eyaculado. *Rev. Unell. Cienc. Tec.* Vol. 26. pp. 49-53.
- Acosta, M. J. 2010. Una reseña corta sobre la contaminación microbiológica del semen porcino y sus consecuencias. *Revista Computarizada de Producción Porcina.* Vol. 17. No. 4.
- Acosta, M. J.; Ruedas, M.; Arias, T.; Páez, R.; Espinoza, I.; Martínez, V. y Perdigón, R. 2011. Evaluación de la contaminación bacteriana de semen porcino puro y diluido. *Livestock Research for Rural Development.* Vol. 23. No. 80. Disponible en: <http://www.lrrd.org/lrrd23/4/acos23080.htm>. [Consultado el 25 de Abril de 2012].
- Altamirano, A.; García, M.; Fuentes, G. 2007. Evaluación de semen de cerdo. *Revista Agroproduce.* Centro de Conservación y Reproducción de cerdos Criollos (CECORCEC). No. 21. pp. 7-10. Disponible en: <http://www.oeidrus-oaxaca.gob.mx/produce/julio07/contenido.pdf>. [Consultado el 25 de Abril de 2012].
- Althouse, G. C. 1999. Orígenes y efectos de la contaminación microbiológica en el semen porcino conservado. *ANAPORC.* Vol. 192. pp. 83-94.
- Althouse, G. C. y Lu, K. G. 2005. Bacteriospermia in extended porcine semen. *Theriogenology*, Vol. 63. No. 2. pp. 573-584.

- Alvarado, E.; Alvarez, C.; Rebaza, P. R. y Alvarado, L. 2001. Evaluación de las características seminales y su influencia sobre el tamaño de camada de verracos usados en monta natural. *Anales Científicos*. UNALM. Vol. XLVIII, Mayo-Agosto.
- Arauz, S.; Stomelli, A. y Williams, S. 2000. Estudio bacteriológico del semen porcino. Congreso Mercosur de Producción Porcina. Buenos Aires, Argentina.
- Arias, T.; Caballero, N.; Diéguez, F. J.; Morales, G.; Perdigón, R. y Brache, F. 2001. Características del semen y calidad espermática de verracos cruzados L35 x CC21 y Hampsshire x L35. *Revista Computarizada de Producción Porcina*. Vol. 8. No. 1. pp. 35-38.
- Arlegui, R. 2006. Principales puntos críticos en un centro de inseminación. Magapor, S. L. Disponible en: http://www.engormix.com/s_articles_view.asp?art=1031&AREA=POR-103. [Consultado el 13 de Diciembre de 2011].
- BioCen. 2004. Manual de Medios de Cultivo. Tercera Edición.
- Bonet, S.; Briz, M.; Pinart, E.; Camps, R. y Fradera, A. 1995. Determinación de la motilidad, la concentración y la morfología del espermatozoides eyaculado de un verraco estéril. Dpto. de Biología. Universidad de Girona. *SCIENTIA gerundensis*. Vol. 20. pp. 29-37.
- Caiza, D. J. 2009. Manejo de verracos para la obtención y procesamiento de semen porcino e inseminación artificial. Proyecto para la obtención del Título de Ingeniero Agroindustrial. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria. Escuela Politécnica Nacional. Quito, Ecuador.
- Cameron, R. D. A. 1987. Sexual development and semen production in boars. *Pig News and Inf.* Vol. 8. pp. 389-396.

- Cole, H. y Cupps, P. 1998. Reproducción de los animales domésticos. Traducido del francés por Dr. José Gómez Piquei. 8va. Edición, Suibia. España.
- Colembrander, B. y Kemp, B. 1990. Factor influencing semen quality in pigs. *Animal Bredeeng Abstracts* (Netherlands). Vol. 58. No. 7. pp. 645-648.
- Conza, L., Calle, S., Echevarría, L., Falcón, N. y Cerón, M. 2004. Evaluación bacteriológica de semen de verracos usados como reproductores en granjas porcinas de la zona de Lurín, Lima. *Revista Investigaciones Veterinarias*. Perú. Vol. 15. No. 2. pp. 163-165.
- Coraza, L.; Bouza, R. y Petrocelli, H. 1990. Inseminación Artificial en cerdos. Facultad de Agonomía. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. p. 17.
- Córdova, I.; Muñoz, R.; Córdova, S.; Córdova, A. y Pérez, J. F. 2004. Características del semen de verraco y su evaluación práctica (en línea). Disponible en: <http://www.porcicultura.com/articulos/ia/articulo.-php?tema=iar021> [Consultado el 13 de Diciembre de 2011].
- Cunningham, J. 1997. Fisiología Veterinaria. Interamericana-McGraw-Hill. 2da. Edición. Philadelphia, USA.
- Del Toro, Y.; Arias, T. y Cambo, E. 1986. La explotación de sementales porcinos y su calidad espermática. *Asociación Cubana de Producción Animal. (ACPA)*. Vol. 4. pp. 31-36.
- Del Toro, Y.; Morales, G.; Arias, T. y Cambo E. 1988. Dinámica del desarrollo testicular; su relación con el crecimiento corporal y la calidad espermática en machos de cuatro razas diferentes. *Ciencia y Técnica en la Agricultura: Ganado porcino*. Vol. 11. No. 2. p. 79.

- Del Toro, Y.; Arias, T.; Diéguez, F. J. y Morales, G. 1997. Efecto de la raza, el mes y el año sobre la calidad espermática y la producción de dosis en un centro de procesamiento de semen porcino. *Revista Computerizada de Producción Porcina*. Vol. 4. No. 2. Disponible en: <http://www.iip.co.cu/RCP/ant/RCP4.2.pdf>. [Consultado el 25 de Abril de 2012].
- Delint, H. L.; Becerril, J.; Soto, M. A. y Anta, E. 1991. Efecto del genotipo, frecuencia de colección y factores medio ambientales sobre las características seminales de verracos de un programa de inseminación artificial. *Rev. Vet. México*. Vol. 22. No. 2. p. 217.
- De Serrano, G. L.; Fuentes, A.; Valle, A.; de Sosa, G. S.; Valle, A. y Regueiro, C. 1996. Estudio de las anomalías espermáticas del verraco en relación con raza, tipo y época en Venezuela. *Zootecnia Tropical*. Vol. 14. No. 1. pp. 17-34.
- Díaz, O.; Mesa, H.; Gómez, G. y Henao, F. J. 2008. Evaluación *in vitro* de la viabilidad del semen porcino hasta 120 horas de almacenamiento en refrigeración. Departamento de Sistemas de Producción, Universidad de Caldas. Manizales, Colombia.
- Fernández, A. M.; Del Toro, Y.; Dora, J. y Jaramillo, J. C. 1997. Efecto de la época del año sobre la calidad del semen porcino en un centro integral. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.
- Fernández, A.; Cruz, E.; Lazo, L.; Arredondo 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. *Rev. Salud Anim.* Vol. 23. No. 2. pp. 73-79.

- Flowers, W. L. 1995. Relationships between estimates of fertility and motility for porcine spermatozoa. *Animal Science*. Vol. 10. No. 5. pp. 9-13.
- Flowers, W. L. 2005. Descripción detallada de la motilidad/morfología y causas de la aparición de anomalías en el semen de verraco. *Avances en Tecnología Porcina*. Vol. 2. No. 3. pp. 103-113.
- Fuentes, A.; Serrano, A.; de Manzo, M. y Regueiro, C. 1989. Efecto de la época sobre las características espermáticas de verracos en el trópico. *Boletín de la Sociedad Veterinaria Venezolana de Especialistas en Cerdos*. Vol. 4. No. 1-2. p. 77.
- Gadea, J. 2001. La evaluación de la capacidad fecundante de los espermatozoides porcinos mediante la fecundación *in vitro* (Revisión). *Invest. Agr.: Prod. Anim.* Vol. 16. No. 1. pp. 63-77.
- Gadea, J. 2005. Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility. *Theriogenology*. Vol. 63. pp. 41-44.
- García, J. A. 1995. Evaluación práctica del semen porcino. *Acontecer Porcino*. Vol. 11. No. 32. pp. 34-42.
- García, J. S.; La puente, D.; Corcuera, A. y Martín, S. 1998. Evaluación práctica del semen. Importancia de los resultados de fertilidad. Memorias del V Simposium Internacional de Reproducción e Inseminación Artificial en Porcinos. León, México.
- Gil, M.; Del Toro, Y.; Arias, T.; Morales, G. y Benítez, E. 1991. Efecto de la edad del semental sobre los indicadores de calidad espermática en cerdos. Congreso de la Asociación Latina de Veterinarios Especialistas en Cerdos. La Habana.
- González, L. O.; Campi, S. H.; Ferrari, M. R.; Fischman, M. L. y Cisale, H. O. 2010. Análisis intraindividuo de la frecuencia de núcleos espermáticos con distintas morfologías en eyaculados porcinos. *InVet*. Vol. 12. No. 2.

- González, D.; Quinteros, A.; Garde, J. J.; Estesó, M. C.; Fernández, M. R.; Rubio, J.; Mejía, W.; González, Y.; León, G. y Bohórquez, R. 2008. Caracterización morfométrica de la cabeza del espermatozoide porcino mediante análisis computarizado (Resultados preliminares). *Revista Científica, FCV-LUZ*. Vol. XVIII. No. 5. pp. 570-577.
- González, W. E.; Garbuno, R. y Palomares, H. 1991. Efecto de algunos factores ambientales sobre la producción de semen. Congreso de la Asociación Latina de Veterinarios Especialistas en Cerdos. La Habana.
- Hafez, E. S. E. 1996. Reproducción e inseminación artificial en animales. Mc-Graw-Hill-Interamericana. 6th. ed. México. p. 543.
- Henao, G.; Trujillo, L. E.; Buriticá, M. E.; Sierra, C. I.; Correa, G. y González, O. D. 2004. Efecto del clima sobre las características seminales de porcinos en una zona de bosque húmedo tropical. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*. Vol. 57. No. 2. pp. 2355-2372.
- Hernández, J. J. 1976. Estudio comparativo entre la vagina artificial y mano enguantada para recolección de semen porcino. *Revista Cubana de Reproducción Animal*. Vol. 2. No. 2. pp. 65-70.
- Hernández, P. J. E.; Fernández, R. F. y Mejías, R. A. I. 2008. Efecto de la monta natural y el uso de diferentes tipos de semen sobre la productividad de la cerda. *Rev. Salud Anim.* Vol. 30. No. 2. pp. 98-102.
- Hernández, J. L. D. y Alemán, R. 2008. Efecto de la época del año en algunas características del eyaculado de diferentes genotipos porcinos. *Revista Electrónica Veterinaria. REDVET*. Vol. IX. No. 11.
- IIP, 2004. Manual de Bacteriología para Centros de Inseminación Artificial. Instituto de Investigaciones Porcinas. La Habana.

- IIP. 2008. Manual de Procedimientos Técnicos para la Crianza Porcina. Instituto de Investigaciones Porcinas. Ediciones CIMA. La Habana.
- Johnson, L. A.; Weitze, K. F.; Fiser, P. y Maxwell, W. M. C. 2000. Storage of boar semen. *Animal Reproduction Science*. Vol. 62. No. 1-3. pp. 143-172.
- Kommisrud, E.; Paulenz, H.; Sehested, E. y Grevle, I. S. 2002 . Influence of boar and semen parameters on motility and acrosome integrity in liquid boar semen stored for five days. *Acta Vet. Scand*. Vol. 43. No. 1. pp. 49-55.
- Kozdrowski, R.; Staroniewicz, Z. y Dubiel, A. 2005. Bacterial flora of semen of wild boar and their hybrids with domestic pig, *ejpau* 8(2), #08. Disponible en: <http://www.ejpau.media.pl/volume8/issue2/art-08>. [Consultado el 20 de Enero de 2012].
- Kubus, S. A. 2012. Aglutinación espermática. *Boletín técnico*. Madrid, España. Disponible en <http://www.kubus-sa.com/articulos/pdf/AGLUTINACION-ESPERMATICA.pdf>. [Consultado el 22 Febrero, 2012].
- Kuster, C. y Althouse, G. C. 1997. Sperm agglutination of extended semen caused by gentamicin-resistant bacteria. *American Association of Swine Practitioners*. pp. 293-295.
- Le Coz, P. 2006. Las enfermedades y el semen. Disponible en: http://3tres3.com/inseminacion_artificial/index.php?id_ficha=30&id_rel=22. [Consultado el 22 de Febrero de 2012].
- Lewis, D.G. 1996. Managing boars for optimum fertility. *Cooperative Extension Service Bulletin*. Michigan State University.
- Louda, F. 1995. Frequency of pathological and immature spermatozoa in the ejaculates of boars. *Pig News and Information*. Vol. 16. No. 1. p. 77.

- Mac Glone, J. 1987. Manejo de cerdos durante la temporada de calor. *Boletín de la Sociedad Veterinaria Venezolana de Especialistas en Cerdos*. Vol. 4. No. 1-2. p. 77.
- Mangale, M. 2006. Bacterial contamination of the porcine semen. *International Scientific Conference: Animals. Health. Food Hygiene*. Faculty of Veterinary Medicine. Jelgava, Latvia. Disponible en: <http://agris.fao.org/agris-search/search/display.do?f=2007/LV/LV0704.xml;LV2007000191>. [Consultado el 25 de Abril de 2012].
- Maroto, L. O. 2006. *Escherichia coli* as contaminant of boar semen: Role of F1 fimbrial lectins in the sperm agglutination phenomena. Thesis submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of Doctor (Ph.D.) in Applied Biological Science. Faculty of Sciences. Institute of Molecular Biology and Biotechnology. Laboratory of Protein Chemistry. Bruselas. p 150.
- Maroto, L. O.; Cruz, E.; De Cupere, F.; Van Driessche, E.; Echemendía, D.; Machado, J. M. y Beeckmans, S. 2010. Bacterial contamination of boar semen affects the litter size. *Animal Reproduction Science*. Vol. 120. pp. 95-104.
- Martínez, R. G. 1998. Principales factores que afectan la reproducción en el cerdo. *Ciencia Veterinaria*. 8. Disponible en: http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/ciencia_vet/revistas/CVvol8/CVv8c6.pdf. [Consultado el 25 de Abril de 2012].
- Martínez, E.; Peraza, N. y García, P. 1987. Análisis bacteriológico del semen y fomites. *Revista Cubana de Reproducción Animal*. Vol. 13. No. 1. pp. 81-102.
- Martínez, E.; García, P.; Del Toro, Y.; Morales, G.; Tosar, M. y Hernández, F. 1992. Parámetros bacteriológicos en semen porcino de la línea CC21. *Revista Cubana de Reproducción Animal*. Edición Especial. pp. 132-140.
- Martínez, G. R. 1992. Momento óptimo del servicio. *Memorias de Curso Reproducción Porcina*. Fac. Med. Vet. y Zoot. UNAM. México. pp. 20-24.

- Martínez, E.; Peraza, N. y García, P. 1984. Evaluación bacteriológica de semen bovino. I. Sementales de la raza Holstein. *Rev. Cub. Reprod. Anim.* Vol. 10. pp. 7-15.
- Milanés, C.; Moya, A. y Hernández, J. J. 1988. Comparación de dos técnicas de espermogramas para la evaluación del semen porcino. *Revista Cubana de Reproducción Animal.* Vol. 1. pp. 111-117.
- MINAGRI, 1985. Producción Porcina. Verracos. Evaluación espermática. DNMCC. Cuba. p. 15.
- Mirjyn, A. 1999. Stimulation and detection of heat in gilts and sows, w/ flowers. *Tech. Report.* Vol. 12.
- Monga, M. y Roberts, J. A. 1994. Spermagglutination by bacteria: receptor-specific interactions. *Journal of Andrology.* Vol. 15. pp. 151-156.
- Moreno, D. F. 2000. Comparación de 3 diferentes catéteres en Inseminación Artificial en Porcinos. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito, Ecuador.
- NRAG-1010/89: Clasificación microbiológica. Diagnóstico Veterinario. Métodos de ensayo.
- OIE. 2007. Código Sanitario para los Animales Terrestres Parte 3. Título 3.2. Capítulo 3.2.2. Anexo. 3.2.2. Semen de Verracos. Disponible en: http://www.oie.int/esp/normes/mcode/es_chapitre_3.2.2.htm. [Consultado el 26 de Abril de 2011].
- Padilla, M. 2007. Manual de Porcicultura. Ministerio de Agricultura y Ganadería. San José, Costa Rica.

- Pérez, D.; Dora, J. y Lozana, J. 1997. Comportamiento reproductivo de verracos de los genotipos (D x H) y Hampshire. *Jornada Científica Internacional. Porcinocultura*. p. 39.
- Pineda, Y. y Santander, J. 2007. Evaluación de la flora bacteriana del semen de verracos en granjas porcinas de Venezuela. *Zootecnia Tropical*. Vol. 25. No. 3. pp. 173-177.
- Quintero, A. 2003. Estudio sobre la dinámica de poblaciones espermáticas en semen de caballo, cerdo y conejo. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Barcelona, España.
- Quintero, A.; González, D.; Garde, J. J.; Esteso, M. C.; Fernández, M. R.; Carvalho, J. L.; Mejía, W. y León, G. 2009. Valoración morfométrica de la cabeza del espermatozoide del cerdo doméstico según su edad. *Revista Científica, FCV-LUZ*. Vol. XIX. No. 2 pp. 153-158.
- Rocha, G.; Castañeda, J. y Valencia, J. J. 2005. Factores que afectan la producción de dosis de semen en centros de inseminación artificial porcina. *Rev. AIA*. Vol. 9. No. 3. pp. 33-43.
- Rodríguez, D.; Macenat, R.; Abeledo, C. M. y Gutiérrez, M. 2010. Valoración de la calidad espermática de sementales CC21 y L35 en una granja porcina. *Revista Computarizada de Producción Porcina*. Vol. 17. No. 1.
- Rodríguez, H. y Ericsson, B. 2000. Evaluación del semen de verraco y su relación con fertilidad en inseminación artificial en suínos. En: *III Simposio Internacional MINITUB*. Flores da Cunha– RS – Brasil. pp. 11-33.
- Rozeboom, K. J. 2000. Evaluating semen quality (en línea). *Animal Science Facts*, North Carolina, US. Disponible en: <http://mark.asci.ncsu.edu/Publications/factsheets/812s.htm>. [Consultado el 13 Diciembre de 2011].

- Rueda, M.; Arias, T.; Caballero, N.; Tosar, M. y Acosta, M. J. 2006. Análisis de la calidad espermática de sementales porcinos en dos tipos de porcicultura cubana. *Revista Computarizada de Producción Porcina*. Vol. 13. No. 1. pp. 49-54.
- Sellés, E. 2008. Evaluación de la capacidad fecundante de espermatozoides porcinos refrigerados y congelados. Tesis Doctoral. Departamento de Zoología y Antropología Física. Universidad de Murcia, España.
- Serra, L. 2005. Control sanitario Toros y Semen. Ltda – Uma empresa do grupo CRV. Versión electrónica disponible en: http://www.lagoa.com.br/espanhol/main_texto.asp?idTexto=41. [Consultado el 26 de Abril de 2008].
- Serrano, M.; Pérez, M. C.; Miguel, J. y Milán, J. 1994. Estudio de las anomalías espermáticas de los verracos en relación a raza, tipo y época. *Revista Anaporc*. Vol. 139. pp. 40-57.
- Serrano, M.; Milan, J. L.; Miguel, J. A. y García, P. 1994. Análisis bacteriológico de dosis seminales del verraco. En: *7as Jornadas Internacionales de Reproducción Animal (Ponencias y Comunicaciones)*. Murcia, España. p. 405.
- Serrano, M. 1995. Control bacteriológico del semen de verraco y su relación con la reproducción en la hembra. *Ciencias Veterinarias*. Vol. 24. pp. 767-775.
- Sone, M. 1990. Investigation on the control of bacteria in boar sperm. *Japanese Journal of Animal Reproduction (Japan)*. Vol. 36. No. 5. pp. 23-29.
- Tapia, B. y Córdova, A. 2007. Estrés oxidativo y capacidad fecundante de los espermatozoides. *Avances en Tecnología Porcina*. Vol. 4. No. 10. pp. 35-43.
- Tosar, M.; Mendoza, D.; León, E. y Diéguez, F. J. 2002. Evaluación de verracos por su calidad espermática. *Revista Computarizada de Producción Porcina*. Instituto de Investigaciones Porcinas. La Habana, Cuba.

- Tsakmakidis, I. A.; Lymberopoulos, A. G. y Khalifa, T. A. A. 2010. Relationship between sperm quality traits and field-fertility of porcine semen. *J. Vet, Sci.* Vol. 11. No. 2. pp. 151-154.
- William, J. 1981. Manual de Inseminación Artificial Porcina. La Habana. ISCAH. pp 97-145.
- Williams, S. 2000. Fisiología y endocrinología en el verraco. *VII Simposio Internacional de Reproducción e Inseminación Artificial en Suinos.* Brasil.
- Wlodzimierz, S. 2004. As características sexuais dos machos influenciam o desempenho de suas filhas. *Rev. Especializado em Produção Suína.* Brasil. Vol. II. No. 6. pp. 19-21.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Bacterias más comúnmente aisladas en el semen porcino por diferentes autores.

Sone, M. 1990	Fernández <i>et al.</i> 2001	Althouse y Lu. 2004	Maroto, 2006	Pineda y Santander 2007	Acosta <i>et al.</i> 2011
<u>Pseudomonas sp.</u> (80,4 %)	<u>Escherichia coli</u> (67,5 %)	<u>Enterococcus spp.</u> (20,5%)	<u>Escherichia coli</u> (79 %)	<u>Staphylococcus epidermidis</u> (35,1 %)	<u>Pseudomonas spp.</u> (42,8 %)
<u>Micrococcus sp.</u> (63,0 %)	<u>Proteus spp.</u> (52,5 %)	<u>Stenotrophomonas maltophilia</u> (15,4 %)	<u>Proteus spp.</u> (36 %)	<u>Escherichia coli</u> (24,6 %)	<u>Micrococcus spp.</u> (28,6 %)
<u>Staphylococcus spp.</u> (56,6 %)	<u>Staphylococcus spp.</u> (10 %)	<u>Alcaligenes xylosoxidans</u> (10,3 %)	<u>Serratia spp.</u> (36 %)	<u>Staphylococcus aureus</u> (14,0 %)	<u>Proteus spp.</u> (14,3 %)
<u>Klebsiella spp.</u> (52,2 %)	<u>Klebsiella spp.</u> (2,5 %)	<u>Serratia marcescens</u> (10,3 %)	<u>Enterobacter spp.</u> (29 %)	<u>Pseudomonas aeruginosa</u> (8,8 %)	<u>Pseudomonas fluorescens</u> (7,14 %)
<u>Escherichia coli</u> (41,3 %)	Bacterias anaerobias (2,5 %)	<u>Acinetobacter Iwoffi</u> (7,7 %)	<u>Klebsiella spp.</u> (14 %)	<u>Bacillus spp.</u> (7,0 %)	<u>Streptococcus spp.</u> (7,14 %)
<u>Citrobacter spp.</u> (30,4 %)		<u>Escherichia coli</u> (6,4%)	<u>Staphylococcus spp.</u> (12 %)	<u>Streptococcus spp. β hemolítico</u> (5,3 %)	
<u>Proteus spp.</u> (21,7 %)		<u>Pseudomonas spp.</u> (6,4 %)	<u>Streptococcus spp.</u> (9 %)		
<u>Actinomyces sp.</u> (15,2 %)			<u>Pseudomonas spp.</u> (8 %)		
<u>Serratia spp.</u> (8,7 %)			Bacterias anaerobias (1 %)		
<u>Enterobacter sp.</u> (6,5 %)					
<u>Bacillus sp.</u> (6,5 %)					
<u>Streptococcus sp.</u> (4,3 %)					
Anaerobios (no aislados)					

Nota: Subrayadas las especies bacterianas más comúnmente aisladas en el semen porcino.

Anexo 2: Caracterización de los sementales por Unidades Porcinas.

Unidad	Identificación (Código del semental)	Raza	Edad (Meses)	No. de Muestras por Unidades		
Centro Reproductor Porcino Base Aérea	1	Duroc-Jersey	25	19		
	2	Duroc-Jersey	14			
	3	Duroc-Jersey	37			
	4	Duroc-Jersey	25			
	5	Duroc-Jersey	18			
	6	Duroc-Jersey	37			
	7	Duroc-Jersey	38			
	8	Duroc-Jersey	38			
	10	Duroc-Jersey	38			
	11	Duroc-Jersey	38			
	13	Duroc-Jersey	14			
	14	Duroc-Jersey	21			
	15	Duroc-Jersey	21			
	16	Duroc-Jersey	19			
	17	Duroc-Jersey	19			
	18	Duroc-Jersey	19			
	19	Duroc-Jersey	25			
	21	Duroc-Jersey	14			
	22	Duroc-Jersey	19			
	Centro Reproductor Porcino Curamagüey	3815	Duroc-Jersey		29	20
		3803	Duroc-Jersey		14	
		3807	Duroc-Jersey		14	
3808		Duroc-Jersey	12			
3809		Duroc-Jersey	18			
3812		Duroc-Jersey	12			
3814		Duroc-Jersey	31			
3817		Duroc-Jersey	35			
3801		Duroc-Jersey	26			
3804		Duroc-Jersey	25			
3811		Duroc-Jersey	22			
3813		Duroc-Jersey	14			
3816		Duroc-Jersey	33			
3818		Duroc-Jersey	14			
3821		Duroc-Jersey	38			
3805		Duroc-Jersey	22			
3810		Duroc-Jersey	18			
3820		Duroc-Jersey	38			
3822		Duroc-Jersey	36			
3802		Duroc-Jersey	26			
Centro Multiplicador Genético FAR-I	D-1	Duroc-Jersey	11	10		
	D2	Duroc-Jersey	34			
	Y-3	Yorkshire	11			

	Y-4	Yorkshire	11	
	Y-5	Yorkshire	23	
	Y-6	Yorkshire	11	
	D-7	Duroc-Jersey	23	
	Y-8	Yorkshire	23	
	Y-9	Yorkshire	23	
	Y-11	Yorkshire	11	
Centro Multiplicador Porcino Quemado de Hilario	801	Landrace	33	6
	802	Landrace	33	
	803	Landrace	28	
	804	Landrace	28	
	805	Landrace	28	
	806	Landrace	16	
Total de Muestras				55

Anexo 3: Resultados de los Espermogramas de los sementales por Unidades Evaluadas.

Sistema de Registros Primarios de Producción, Control de Espermogramas																																						
Empresa Agropecuaria Militar Villa Clara - Cienfuegos																																						
Fecha: Junio/2011																																						
Establecimiento: Granja Pecuaria Militar 13 de Marzo																																						
Unidad: Centro Reproductor Porcino Base Aerea																																						
C ó d i g o	Totales			Cabeza y Capuchón								Cuello				Parte Intermedia				Cola				Otros resultados														
	Nemas Totales	No. Patológicos	% Patológicos	Microcefalia	Macrocefalia	Formas degenerativas	Cabeza estrecha	Capuchón desprendido	Capuchón desprendiéndose	Periforme	Cod. Parte Anterior Acrosoma	Capuchón roto	Cabeza suelta	Total	% Total	Estrecho	Retroaxial	Abaxial	Desviado	Gota protoplasmática	Total	% Total	Abreviada	Engrosada	Estrecha	Doblada	Gota protoplasmática	Total	% Total	Torsión de cola	Gota protoplasmática	Espiral	Total	% Total	Volumen (ml)	Motilidad (%)	Concentración (No./ml)	Aglutinación
1	200	8	4			2						2	4	2		2				2	1								2			2	1	155	85	500	+	
2	200	5	2,5									4	4	2		1				1	0,5											90	85	500	+			
3	200	4	2									2	2	1		2				2	1										125	85	500	+				
4	200	10	5			4						2	6	3		2				2	1							2			2	1	85	85	490	++		
5	200	16	8			6						2	8	4		2				2	1				3	3	1,5			3	3	1,5	115	80	475	+		
6	200	20	10			4						4	8	4		6				6	3							4	2	6	3	150	80	500	+			
7	200	14	7			3						6	9	4,5		4				4	2							1		1	0,5	215	85	490	+			
8	200	12	6			6						2	8	4		2				2	1							2		2	1	115	85	495	+			
10	200	14	7									6	6	3		4				4	2				3	3	1,5			1	1	0,5	160	60	420	+		
11	200	16	8			5						3	8	4		4				4	2				4	4	2					160	50	480	+			
13	200	6	3			2							2	1														2	2	4	2	70	85	500	+			
14	200	4	2			2							2	1		2				2	1											70	Necro	490	+			
15	200	14	7			6						4	10	5		3				3	1							1		1	0,5	80	85	500	+			
16	200	8	4			2						2	4	2		2				2	1							2		2	1	180	30	500	+			
17	200	12	6			2					2	2	6	3		4				4	2							2		2	1	170	45	450	+			
18	200	4	2									4	4	2																		135	60	400	+			
19	200	13	6,5									6	6	3		3				3	1,5							4		4	2	35	85	495	+			
21	200	20	10									4	4	2														16		16	8	90	85	500	+			
22	200	6	3			2							2	1														4		4	2	60	85	400	+			

Sistema de Registros Primarios de Producción, Control de Espermiogramas

Empresa Agropecuaria Militar Villa Clara - Cienfuegos

Fecha: Julio/2011

Establecimiento: Granja Pecuaria Militar 13 de Marzo

Unidad: Centro Multiplicador Genético FAR-I

Codigo	Totales			Cabeza y Capuchón									Cuello					Parte Intermedia					Cola					Otros resultados										
	Nemas Totales	No. Patológicos	% Patológicos	Microcefalia	Macrocefalia	Formas degenerativas	Cabeza estrecha	Capuchón desprendido	Capuchón desprendiéndose	Periforme	Cod. Parte Anterior Acrosoma	Capuchón roto	Cabeza suelta	Total	% Total	Estrecho	Retroaxial	Abaxial	Desviado	Gota protoplasmática	Total	% Total	Abreviada	Engrosada	Estrecha	Doblada	Gota protoplasmática	Total	% Total	Torsión de cola	Gota protoplasmática	Espiral	Total	% Total	Volumen (ml)	Motilidad (%)	Concentracion (No./ml)	Aglutinacion
D-1	200	5	2,5			2						2	2	1														3		3	1,5	150	85	495	+			
D2	200	14	7			3						4	7	3,5		3					3	2						4		4	2	145	85	500	+			
Y-3	200	16	8			3						5	8	4		4					4	2						4		4	2	185	85	500	+			
Y-4	200	22	11			3						3	15	7,5		4					4	2						15		15	7,5	125	85	500	+			
Y-5	200	10	5									6	6	3														4		4	2	135	85	500	+			
Y-6	200	8	4			2						2	4	2		2					2	1						2		2	1	105	85	500	+			
D-7	200	15	7,5			6						4	10	5		2					2	1						3		3	1,5	160	85	500	+			
Y-8	200	18	9			5						10	15	7,5														3		3	1,5	200	85	500	+			
Y-9	200	18	9				5					3	8	4		6					6	3							4		4	2	165	85	500	+		
Y-11	200	10	5			2						3	5	2,5		2					2	1						3		3	1,5	100	85	500	+			

Sistema de Registros Primarios de Producción, Control de Espermiogramas																																						
Empresa Agropecuaria Militar Villa Clara - Cienfuegos														Fecha: Agosto/2011																								
Establecimiento: Granja Pecuaria Militar 13 de Marzo																																						
Unidad: Centro Multiplicador Porcino Quemado de Hilario																																						
Codigo	Totales			Cabeza y Capuchón										Cuello				Parte Intermedia				Cola				Otros resultados												
	Nemas Totales	No. Patológicos	% Patológicos	Microcefalia	Macrocefalia	Formas degenerativas	Cabeza estrecha	Capuchón desprendido	Capuchón desprendiéndose	Periforme	Cod. Parte Anterior Acrosoma	Capuchón roto	Cabeza suelta	Total	% Total	Estrecho	Retroaxial	Abaxial	Desviado	Gota protoplasmática	Total	% Total	Abreviada	Engrosada	Estrecha	Doblada	Gota protoplasmática	Total	% Total	Torsión de cola	Gota protoplasmática	Espiral	Total	% Total	Volumen (ml)	Motilidad (%)	Concentracion (No./ml)	Aglutinacion
801	200	16	8			4						4	8	4		4				4	2								4		4	2	185	75	500	+		
802	200	6	3			2							2	1														2	2	4	2	130	85	500	+			
803	200	7	3,5									4	4	2														3		3	1,5	125	70	480	+			
804	200	10	5			4						3	7	3,5		1				1	0,5							2		2	1	110	75	470	+			
805	200	10	5			6							6	3		2				2	0,5								2	2	1	175	85	500	+			
806	200	8	4									4	4	2		2				2	1							2		2	1	110	80	450	+			

Anexo 4: Pruebas de Correlaciones No Paramétricas para las variables Edad y Volumen.

Spearman Rank Order Correlations (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina) MD pairwise deleted
Marked correlations are significant at $p < ,05000$

	Edad (Meses)	Volumen (mL)
Edad (Meses)	1,000000	0,052450
Volumen (mL)	0,052450	1,000000

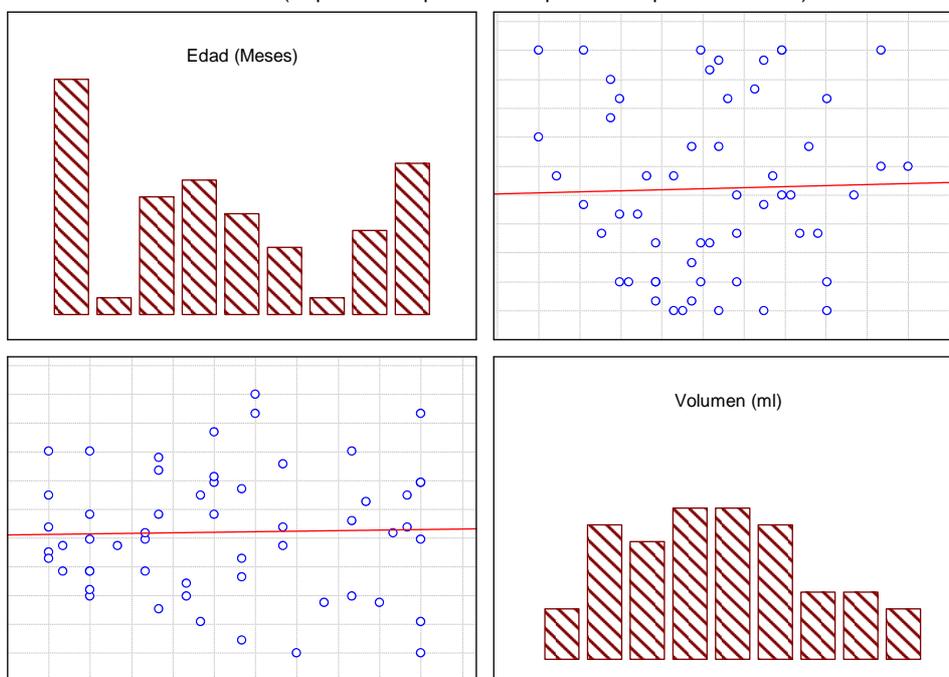
Gamma Correlations (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina) MD pairwise deleted
Marked correlations are significant at $p < ,05000$

	Edad (Meses)	Volumen (mL)
Edad (Meses)	1,000000	0,031318
Volumen (mL)	0,031318	1,000000

Kendall Tau Correlations (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina) MD pairwise deleted
Marked correlations are significant at $p < ,05000$

	Edad (Meses)	Volumen (mL)
Edad (Meses)	1,000000	0,030115
Volumen (mL)	0,030115	1,000000

Correlations (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina 28v*55c)



Anexo 5: Pruebas de Correlaciones No Paramétricas para las variables Edad y Motilidad.

Spearman Rank Order Correlations (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina) MD pairwise deleted Marked correlations are significant at $p <,05000$

	Edad (Meses)	Motilidad
Edad (Meses)	1,000000	-0,200310
Motilidad	-0,200310	1,000000

Gamma Correlations (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina) MD pairwise deleted Marked correlations are significant at $p <,05000$

	Edad (Meses)	Motilidad
Edad (Meses)	1,000000	-0,182078
Motilidad	-0,182078	1,000000

Kendall Tau Correlations (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina) MD pairwise deleted Marked correlations are significant at $p <,05000$

	Edad (Meses)	Motilidad
Edad (Meses)	1,000000	-0,153459
Motilidad	-0,153459	1,000000

Anexo 6: Pruebas de Correlaciones No Paramétricas para las variables Edad y Concentración.

Spearman Rank Order Correlations (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina) MD pairwise deleted Marked correlations are significant at $p < ,05000$

	Edad (Meses)	Concentracion (No./ml)
Edad (Meses)	1,000000	0,000534
Concentracion (No./ml)	0,000534	1,000000

Gamma Correlations (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina) MD pairwise deleted Marked correlations are significant at $p < ,05000$

	Edad (Meses)	Concentracion (No./ml)
Edad (Meses)	1,000000	0,009156
Concentracion (No./ml)	0,009156	1,000000

Kendall Tau Correlations (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina) MD pairwise deleted Marked correlations are significant at $p < ,05000$

	Edad (Meses)	Concentracion (No./ml)
Edad (Meses)	1,000000	0,007473
Concentracion (No./ml)	0,007473	1,000000

Anexo 7: Pruebas de Correlaciones No Paramétricas para las variables Raza y Volumen.

Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks; Volumen (ml) (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina) Independent (grouping) variable: Raza Kruskal-Wallis test: H (2, N= 55) =3,698124 p =,1574

	Code	Valid - N	Sum of - Ranks
Duroc-Jersey	1	42	1079,500
Yorkshire	2	7	253,500
Landrace	3	6	207,000

Median Test, Overall Median = 120,000; Volumen (ml) (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina) Independent (grouping) variable: Raza Chi-Square = 3,322439 df = 2 p = ,1899

	Duroc-Jersey	Yorkshire	Landrace	Total
<= Median: observed	25,00000	2,00000	2,00000	29,00000
expected	22,14545	3,69091	3,16364	
obs.-exp.	2,85455	-1,69091	-1,16364	
> Median: observed	17,00000	5,00000	4,00000	26,00000
expected	19,85455	3,30909	2,83636	
obs.-exp.	-2,85455	1,69091	1,16364	
Total: observed	42,00000	7,00000	6,00000	55,00000

Anexo 8: Pruebas de Correlaciones No Paramétricas para las variables Raza y Concentración.

Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks; Concentracion (No./ml) (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina) Independent (grouping) variable: Raza Kruskal-Wallis test: H (2, N= 55) =5,835875 p =,0540

	Code	Valid - N	Sum of - Ranks
Duroc-Jersey	1	42	1100,500
Yorkshire	2	7	283,500
Landrace	3	6	156,000

Median Test, Overall Median = 500,000; Concentracion (No./ml) (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina) Independent (grouping) variable: Raza Chi-Square = 0,000000 df = 2 p = 1,000

	Duroc-Jersey	Yorkshire	Landrace	Total
<= Median: observed	42,00000	7,000000	6,000000	55,00000
expected	42,00000	7,000000	6,000000	
obs.-exp.	0,00000	0,000000	0,000000	
> Median: observed	0,00000	0,000000	0,000000	0,00000
expected	0,00000	0,000000	0,000000	
obs.-exp.	0,00000	0,000000	0,000000	
Total: observed	42,00000	7,000000	6,000000	55,00000

Anexo 9: Pruebas de Correlaciones No Paramétricas para las variables Raza y Motilidad.

Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks; Motilidad (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina)
Independent (grouping) variable: Raza Kruskal-Wallis test: $H(2, N=55) = 7,133988$ $p = ,0282$

	Code	Valid - N	Sum of - Ranks
Duroc-Jersey	1	42	1076,000
Yorkshire	2	7	294,000
Landrace	3	6	170,000

Median Test, Overall Median = 160,000; Motilidad (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina)
Independent (grouping) variable: Raza Chi-Square = 8,508440 df = 2 $p = ,0142$

	Duroc-Jersey	Yorkshire	Landrace	Total
<= Median: observed	24,00000	0,00000	4,000000	28,00000
expected	21,38182	3,56364	3,054545	
obs.-exp.	2,61818	-3,56364	0,945455	
> Median: observed	18,00000	7,00000	2,000000	27,00000
expected	20,61818	3,43636	2,945455	
obs.-exp.	-2,61818	3,56364	-0,945455	
Total: observed	42,00000	7,00000	6,000000	55,00000

Anexo 9: (continuación)

Mann-Whitney U Test (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina) By variable Raza Marked tests are significant at p <,05000										
	Rank Sum - Duroc-Je	Rank Sum - Yorkshir	U	Z	p-level	Z - adjusted	p-level	Valid N - Duroc-Je	Valid N - Yorkshir	2*1sided - exact p
Motilida d	966,0000	259,0000	63,0000 0	- 2,4000 0	0,01639 6	-2,57951	0,00989 5	42	7	0,014600

Mann-Whitney U Test (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina) By variable Raza Marked tests are significant at p <,05000										
	Rank Sum - Duroc-Je	Rank Sum - Landrace	U	Z	p-level	Z - adjusted	p-level	Valid N - Duroc-Je	Valid N - Landrace	2*1sided - exact p
Motilida d	1013,000	163,0000	110,000 0	- 0,49878 4	0,61793 2	-0,518720	0,60395 6	42	6	0,637192

Mann-Whitney U Test (Reproduccion porcina in Reproduccion porcina) By variable Raza Marked tests are significant at p <,05000										
	Rank Sum - Yorkshir	Rank Sum - Landrace	U	Z	p-level	Z - adjusted	p-level	Valid N - Yorkshir	Valid N - Landrace	2*1sided - exact p
Motilida d	63,00000	28,00000	7,00000 0	2,00000 0	0,04550 1	2,447809	0,01437 3	7	6	0,051282

AGRADECIMIENTOS

A todo el colectivo de profesores de la Maestría Salud Animal Avanzada, por aportarnos sus conocimientos durante estos tres años.

Al Dr. Luis O. Maroto Martín por su apoyo y guía durante el desarrollo de esta investigación.

A mi tutor M.Sc. Alexei del Valle Rodríguez por su empeño y dedicación en cada momento logrando que éste estudio se haga realidad

A mi esposo, mi hijo y demás familiares por estar en el momento que los necesité.

A los trabajadores de la Granja 13 de Marzo y del Centro de Inseminación Artificial que contribuyeron de alguna forma en la realización de este estudio.

Agradezco también a todos los que de una forma u otra ayudaron e hicieron posible la realización de este trabajo.

A todos.....

Muchas Gracias.