

175
2j.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



"FERTILIDAD EN CERDAS INSEMINADAS CON SEMEN DILUIDO EN GEPZ O EN BTS"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
ELIZABETH PEREZ SANCHEZ

Asesores: M.V.Z. Joaquín Becerril Angeles
M.V.Z. Mario E. Haro Tirado
M.V.Z. Ricardo Navarro Fierro
M.V.Z. Jesús Conejo Nava



MEXICO, D. F.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

1989.



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

| | <u>Página</u> |
|-------------------------|---------------|
| RESUMEN..... | 1 |
| INTRODUCCION..... | 2 |
| MATERIAL Y METODOS..... | 7 |
| RESULTADOS..... | 9 |
| DISCUSION..... | 13 |
| LITERATURA CITADA..... | 14 |

RESUMEN

PEREZ SANCHEZ ELIZABETH: Fertilidad en cerdas inseminadas con semen diluido en GEPZ o en BTS. (Bajo la asesoría de: Joaquín Becerril A., Mario E. Haro T., Ricardo Navarro F. y Jesús Conejo N.)

Se utilizaron 93 cerdas híbridas recién destetadas distribuidas al azar en 2 grupos. El grupo 1, de 30 cerdas, se inseminó con semen diluido en BTS (Beltsville Thawing Solution) durante los 3 primeros días de conservación, con 10 cerdas en cada día. El grupo 2, de 63 cerdas, se inseminó con semen diluido y conservado en GEPZ (Granja Experimental Porcina Zapotitlán) hasta por 7 días, con 9 cerdas por día. Se comparó la capacidad fertilizante del espermatozoide de los diluyentes en los 3 primeros días mediante la prueba exacta de Fisher. La fertilidad durante los 3 primeros días fue mayor para el semen diluido en BTS (93.33%) comparado con el GEPZ (76.2%) ($P < 0.05$); la fertilidad de GEPZ se mantuvo sin cambios significativos los siete días de análisis. El semen diluido en GEPZ permitió camadas significativamente más numerosas, con más lechones nacidos vivos y con mayor peso de la camada al nacimiento ($P < 0.05$), el número de lechones nacidos muertos fue similar en ambos diluyentes ($P > 0.05$), por lo que se podría recomendar el uso de GEPZ como conservador de semen por un mayor número de días sin que se afecte el número de lechones nacidos vivos, lechones nacidos total y peso de la camada al nacimiento, y se recomendaría usar BTS cuando no se requiera un almacenaje mayor a 3 días y se quiera conservar un elevado índice de fertilidad, aunque las camadas podrían resultar menos numerosas y pesadas.

INTRODUCCION

Dentro de la producción porcina, la Inseminación Artificial (IA) juega un papel muy importante como factor zootécnico y de organización para lograr una producción más intensiva. La implementación de la IA ha permitido aumentar la capacidad reproductiva de los verracos, adecuar los programas reproductivos mediante la sincronización del estro y mejoramiento genético; además, en los hatos en que se utiliza, el progreso genético es más rápido, puesto que los animales utilizados, cuya calidad genética ha sido comprobada y calificada positivamente mediante pruebas de comportamiento, incrementan el nivel de producción de la siguiente generación gracias a su aporte genético (19,29). No obstante, su ejecución requiere del personal capacitado y material adecuado. Por otra parte, por medio de la IA se reduce la posibilidad de transmitir enfermedades a las cerdas inseminadas y consecuentemente a la granja (19,37). El grado de eficacia de la aplicación del semen por medio de instrumentos, es distinto en las diferentes especies animales.

Algunos factores que pueden influir en la eficiencia de la IA son: La metodología en la detección correcta de calores, la aplicación de la IA en el momento y con la técnica adecuada, época del año, condiciones generales de la explotación y la calidad en la preservación del semen, por lo que desde hace tiempo se han investigado técnicas que influyen positivamente en los resultados obtenidos. Un aspecto muy importante es el referente a la utilización de diluyentes que mantengan o preserven la capacidad fertilizante del espermatozoide en estado líquido por varios días (5).

Existen 2 métodos de conservación de semen de verraco; El sólido y el líquido. El sólido tiene varias limitaciones por lo que en la actualidad la conservación de semen en estado líquido es una mejor alternativa; sin embargo el periodo de conservación de semen en estado líquido es relativamente corto (2 a 3 días) por lo que es conveniente buscar nuevos procedimientos para alargar el periodo de conservación.

La obtención de buenos resultados en la IA en cerdos depende del nivel de desarrollo de las técnicas de procesamiento, conservación y aplicación del semen, las cuales han tenido grandes avances en las últimas décadas. El desarrollo de técnicas adecuadas de congelación y descongelación del semen lo han llevado a una ilimitada preservación para su utilización, pero a causa del alto costo del material usado para ello, a lo laborioso del método y a los bajos porcentajes de sobrevivencia espermática después del descongelamiento, que resulta en bajos porcentajes de concepción cuando se insemina, ha causado que el método de preservar y utilizar semen congelado solo se realice para semen de las mejores razas como herramienta para mejoramiento genético (6,27).

Graham et al. (9), afirman que la preservación del semen es un aspecto crucial para poder implantar la técnica de la IA. La preservación de semen de cerdo puede efectuarse en estado líquido, para lo cual se han utilizado diversos diluyentes que lo conservan en un rango que va de 2 a 3 días (29), o bien, en el estado sólido congelado, para el que son usados otros diluyentes que satisfacen las necesidades metabólicas del espermatozoide bajo estas condiciones de almacenamiento. En ésta última forma, el semen puede permanecer almacenado por tiempo indefinido (33).

Hasta ahora, la preservación de semen de verraco por congelación presenta varias limitaciones, éstas son:

a) La necesidad de una alta dosis de espermatozoides (6×10^7 espermatozoides por dosis) a fin de obtener una fertilidad razonable bajo condiciones de campo. Esto hace que el costo de las dosis de semen congelado se incremente, comparado con la de semen líquido.

b) Los procedimientos de evaluación de la calidad del semen a nivel de laboratorio son aún limitados para predecir el potencial de fertilidad de los verracos.

c) Hay una variación considerable entre verracos en la capacidad fertilizadora del semen congelado.

d) El método de procesamiento del semen congelado es complicado y se lleva más tiempo en comparación con el procedimiento usado para semen líquido.

e) Es necesario que los productores o inseminadores dispongan sin dificultad de un proveedor de nitrógeno líquido.

f) El momento de la inseminación en relación a la ovulación y por lo tanto, la detección de calores es mucho más crítica si se desea obtener una fertilidad aceptable.

g) La tasa de concepción y el tamaño de la camada obtenidos con semen congelado son más bajos que los obtenidos con semen líquido.

En la IA la dilución espermática interesa sobre todo para conservar la capacidad fecundante del espermatozoide, así como incrementar el rendimiento del eyaculado. El uso de semen diluido ha sido más amplio, gracias a que su implementación es más económica. Desde la época de los sesentas se han desarrollado diluyentes efectivos que preservan la capacidad fertilizante del espermatozoide y actualmente los diluyentes más utilizados son el Beltsville Thawing Solution (BTS), Kiev o Guelph, Beltsville Liquid Extender (BL-1), Illinois Variable Temperature (IVT), el SCK-7, Milk Extender y Zorlesco (6,12,32).

Estudios realizados por Pursel (29), indican que los diluyentes que han resultado ser mas satisfactorios sobre la base de la preservación de la motilidad, son aquellos que contienen glucosa, yema de huevo o leche como la fuente principal de nutrientes.

Koh *et al.* (18) y Ramirez (32), evaluaron un diluyente a base de leche descremada-glucosa y obtuvieron resultados aceptables en cuanto a porcentaje de fertilidad (79.9%) empleando una concentración espermática de 5×10^9 por dosis de IA.

Experimentos comparativos a nivel de campo han situado al diluyente BTS como el mejor preservador de la integridad y funcionalidad del espermatozoide de cerdo para la IA (1,2,3,12,30) seguido por el Kiev (12,13,26,27).

Aalbers *et al.* (2) compararon la fertilidad del semen de cerdo almacenado en BTS, Kiev, Zorlesco y Modena a $18 \pm 2^\circ \text{C}$ utilizando dosis con una concentración de 3×10^9 espermatozoides y aplicados en diferentes granjas al tercer día de colección, encontraron porcentajes de pariciones que varían de 59 a 100% para BTS; 47 a 87% para Kiev; 50 a 73% en Zorlesco y 49 a 74% en Modena.

En otro experimento, Pursel (30), al comparar los diluyentes BL-1, BTS, Kiev y Modena a 3 temperaturas diferentes (15,19 y 23°C) y a 7 días de almacenaje en 2 diferentes tipos de tubo conteniendo cada uno 70 ml con una concentración de 40×10^9 espermatozoides por ml, encontró que el porcentaje de motilidad en semen almacenado en BTS fué superior al almacenado en los otros diluyentes. El porcentaje de espermatozoides con NAR (Espermatozoides con Acrosoma Normal) fué similar en BTS y Kiev y disminuyó significativamente en el BL-1 y en el Modena.

En otro experimento Aalbers *et al.* (2), utilizaron semen diluido en BTS y almacenado a $16-18^\circ \text{C}$ por periodos de 2 a 10, 20 a 28, 26 a 34 y 44 a 52 hrs. El porcentaje de espermatozoides con NAR fué 71.1, 77.2, 61.5 y 61.6 respectivamente. Al inseminar cerdas primerizas obtuvieron porcentajes de pariciones de 75.6 a 76.4 y tamaño de la camada de 9.4 a 9.7, éstos resultados no fueron afectados significativamente por el tiempo de almacenaje. Por otro lado cuando inseminaron cerdas adultas, el porcentaje de pariciones fué significativamente superior para el semen almacenado de 20 a 28 hrs, que para el semen almacenado de 44 a 52 hrs (82.9 vs 78.5).

El espermatozoide de cerdo es muy sensible al cambio de temperatura, ya sea disminución o aumento, la primera es más detrimental sobre la morfología del espermatozoide que la segunda (6,11). Esto exige que el semen después de diluido se mantenga a un rango de temperatura de almacenaje entre 15 y 18°C que es el ideal (12). Mantener este rango es difícil si el semen se transporta a otros lugares para su utilización.

Por otro lado, durante el procesamiento del semen para su dilución y almacenaje ocurren cambios en la motilidad y morfología acrosomal (15,40), que se incrementan durante el periodo de almacenaje debido a la presencia de proteínas básicas del plasma seminal que aumenta la permeabilidad celular del espermatozoide, permitiendo la salida de cationes y enzimas como la transaminasa glutámica oxalacética, hialuronidasa, acrosina y otras (7,23,24,28,35,40), que se consideran necesarias para apoyar el proceso de capacitación o maduración espermática (31). Además el acúmulo de productos metabólicos como amoníaco, ácido láctico, ácido pirúvico y ácido carbónico, también dañan al espermatozoide (17,28). Lo anterior ha motivado que el semen se utilice durante los primeros 2 o 3 días después de diluido, ya que su aplicación después de este periodo no es costeaible, pues resulta de bajos porcentajes de concepción, mayor riesgo de reabsorción embrionaria por gametos viejos y, en consecuencia camadas pequeñas (2,3,12,27,32).

Como es inevitable el daño que sufren algunos espermatozoides durante su almacenaje y dada la importancia de su integridad y fisiología al momento de inseminar, se considera necesario que para evaluar el semen, no solo se determine la motilidad, sino también se evalúe el porcentaje de espermatozoides con NAR para valorar la calidad del semen, ya que algunos espermatozoides aunque presentan motilidad progresiva también presentan daño acrosomal (16,28,34,35,36,38,39).

Al obtener los resultados de motilidad a diferentes periodos de almacenaje, se puede decidir cual es el tiempo máximo para poder utilizarlo en IA sin tener un decremento significativo en su capacidad fertilizante.

Sin embargo, en la práctica actual el semen diluido es aprovechado para la inseminación dentro de los 2 a 3 días después de su preparación constituyendo esto una limitante importante. Por ello es necesario el desarrollo de nuevos diluyentes que mantengan la capacidad fertilizante del espermatozoide por periodos mayores a 4 días (17).

El ciclo estral de las hembras domésticas puede dividirse de una manera arbitraria en cuatro fases: estro, metaestro, diestro y proestro. Siendo el estro la fase más importante, ya que es el periodo de receptibilidad sexual y ocurre la ovulación en la mayoría de las especies domésticas.

Este periodo se caracteriza por una serie de signos graduales en la conducta del animal como: edematización de la vulva, inquietud y búsqueda del macho. Durante las etapas tempranas del estro son más acentuados estos cambios (22).

Según Graham *et al.* (9), la detección del estro y el momento de la IA pueden ser los factores responsables de la gran variabilidad de los resultados en la IA porcina. Estudios realizados por Einarsson (8), determinan que al considerarse

las relaciones entre porcentaje de parición y número de espermatozoides por dosis, también se debe tomar en cuenta el intervalo entre la inseminación y la ovulación, ya que lo mejor es inseminar cerca del momento de la ovulación, tomando en cuenta que ésta ocurre alrededor de las 36 a 40 horas de iniciado el estro. El porcentaje de fertilización en cerdas inseminadas durante la fase temprana del estro podría mejorarse por incremento de la concentración espermática en la dosis de inseminación.

El sitio de depósito del semen según Hancock y Hovell (10), es un factor que determina el tamaño de la dosis espermática necesaria para alcanzar un nivel particular de fertilidad, por lo que se ha recomendado que el semen sea depositado intrauterinamente para asegurar la fertilización.

OBJETIVO

El propósito de éste trabajo fué evaluar comparativamente el porcentaje de fertilidad, tamaño y peso de la camada en cerdas inseminadas artificialmente con semen diluido en BTS y en GEPZ a diferentes días de su preparación.

MATERIAL Y METODOS

Este trabajo se realizó en la Granja Experimental Porcina Zapotitlán de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México que se encuentra ubicada en la parte sureste de la Cuenca del Valle de México, a la altura del Km 21.5 de la carretera México-Tulyehualco en la calle Manuel M. López s/n, dentro del perímetro del pueblo de Zapotitlán, Delegación Tlahuac, Distrito Federal. Su localización geográfica es de los 19 18' latitud norte y a los 99 2' 30" de longitud al oeste del meridiano de Greenwich, a una altura de 2242 Mts sobre el nivel del mar y a una presión de 558 mm de Hg. Según la clasificación de Köppen, ésta región pertenece al tipo CW templado con lluvias en verano (4).

Se utilizaron 93 cerdas híbridas recién destetadas distribuidas al azar en 2 grupos de 30 y 63 cerdas respectivamente. El grupo 1 de 30 cerdas se inseminó con semen diluido en BTS durante los 3 primeros días de conservación con una distribución de 10 cerdas para cada día, y el grupo 2 de 63 cerdas se inseminó con semen diluido en BEPZ durante 7 días de conservación con una distribución de 9 cerdas para cada día. Se utilizaron 2 sementales reproductivamente sanos para la detección de calores (recoladores) y un total de 11 sementales para la colección de semen, de los cuales 2 eran colectados el mismo día, siendo uno de raza Hampshire y el otro de raza Landrace o Yorkshire. La detección del estro en las cerdas recién destetadas se efectuaba dos veces al día (08:30 y 18:30 horas). Se determinaba que la cerda estuviera en estro sólo cuando permanecía estática a la prueba de presión en el dorso, ante la presencia y estímulo del semental. Solo las cerdas que exhibían esa conducta eran servidas mediante la IA. A las cerdas de ambos grupos se les proporcionaba doble IA de la siguiente forma: Si la aceptación del macho se detectaba en la mañana del día uno, la primera IA se realizaba en la tarde del mismo día, y la segunda IA en la mañana del día dos; En caso de que aceptara al macho en la tarde del día uno, la primera IA se efectuaba en la mañana del día dos y la segunda IA en la tarde del mismo día.

El semen era colectado de dos verracos de raza diferente utilizando la técnica de la mano enguantada descrita por Melrose (21), inmediatamente después de la colección se evaluaba el semen de ambos verracos en forma individual, y para la preparación de las dosis se consideraba el promedio de los valores de motilidad, concentración y morfología de ambas muestras. Posteriormente se procedía a mezclar el semen colectado de ambos sementales con el fin de disminuir el efecto que podría tener el utilizar un solo macho e incrementar el índice de fertilidad. Se preparaba la mitad de las dosis a una concentración de 5×10^9 espermatozoides en el diluyente BEPZ y el resto, con igual concentración en el diluyente BTS.

El semen diluido en BTS se utilizó durante los primeros tres días después de su dilución (día 1=día de dilución). El semen diluido en BEPZ se utilizó dentro de un periodo de siete días después de su dilución.

El equipo para efectuar la IA consistió en un catéter de hule latex Melrose (21), el cual es flexible y tiene un extremo que semeja la espiral del pene del verraco, botellas de plástico con capacidad de 100 ml en las que contenía la muestra de semen líquido, gasas y toallas de papel desechable limpias y secas. El equipo para inseminar se mantenía perfectamente limpio y seco. La esterilización se realizaba por ebullición en agua bidestilada. Al momento de realizar la IA se limpiaba la vulva de las cerdas con toallas desechables, se conectaba el catéter mediante un adaptador con las botellas que contenían la muestra de semen diluido, éste se depositaba lentamente en el útero, previa fijación del catéter al cervix.

De los 18 a 21 días siguientes se observaba individualmente si las cerdas retornaban a calor. A los 30 y a los 60 días después del servicio se diagnosticaba la gestación con un aparato de ultrasonido.

La comparación de fertilidad cerdas (cerdas paridas/cerdas inseminadas) se hizo durante los tres primeros días de conservación de ambos diluyentes mediante la prueba exacta de Fisher, y se estimó la potencia relativa de cada diluyente para conservar la capacidad fecundante del semen (25).

El número total de lechones, el número de nacidos vivos, el número de mortinatos y el peso total de los lechones nacidos vivos se comparó mediante un Análisis de Covarianza que incluyó el efecto del tipo de diluyente y el efecto lineal y cuadrático del tiempo.

RESULTADOS

A lo largo de los tres primeros días se observó una diferencia significativa en la fertilidad en favor del BTS (93.3% vs 76.2%) ($P < 0.05$) (gráfica 1). La fertilidad en el semen diluido en GEPZ no tuvo cambios significativos durante los siete días ($P > 0.05$) (cuadro 1).

El semen diluido en GEPZ produjo camadas significativamente más numerosas, con más lechones nacidos vivos (gráfica 2) ($P < 0.05$), pero con una cantidad similar de lechones nacidos muertos ($P > 0.05$) (cuadro 2). Además, como se aprecia en la gráfica 3, las camadas fueron más pesadas al usar GEPZ ($P < 0.05$). No se encontró efecto significativo lineal ni cuadrático del tiempo de almacenamiento ($P > 0.05$).

Cuadro 1

Preservación de la fertilidad en ambos diluyentes a diferentes días de almacenamiento.

| Diluyente | Días de almacenamiento | | | | | | | Global |
|-----------|------------------------|-------|-------|------|------|------|------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | |
| BTS | 80 | 100 | 100 | 8 | 8 | 8 | 8 | 93.3 |
| | 8/10 | 10/10 | 10/10 | | | | | 28/30 |
| GEPZ | 66.7 | 77.8 | 77.8 | 88.9 | 77.8 | 88.9 | 55.6 | 76.2 |
| | 6/9 | 7/9 | 7/9 | 8/9 | 7/9 | 8/9 | 5/9 | 48/63 |

† El diluyente BTS sólo se aplicó los 3 primeros días de almacenamiento.

Cuadro 2.

Promedio y desviación estándar de tamaño y peso de la camada.

| Diluyente | lechones nacidos total | lechones nacidos vivos | lechones nacidos muertos | peso de la camada |
|-----------|------------------------|------------------------|--------------------------|-------------------|
| BTS | 10.75±3.45a | 10.29±3.96a | 0.46±1.77a | 13.48±3.48a |
| GEPZ | 11.23±2.68b | 10.80±2.75b | 0.43±0.90a | 15.01±3.36b |

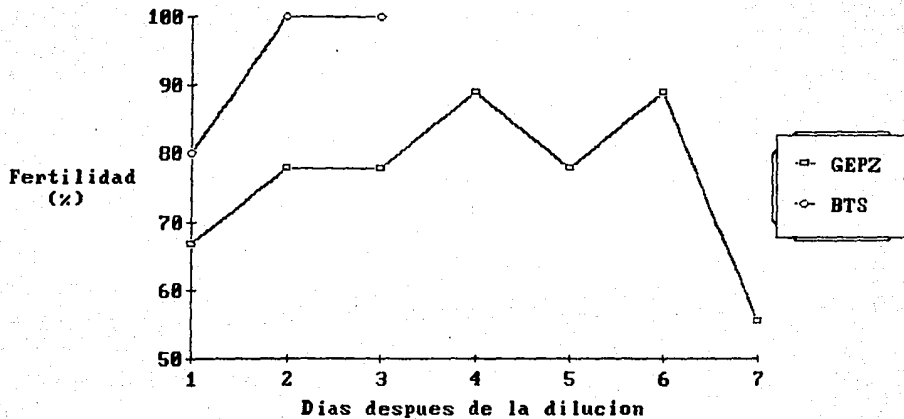
Procedio ± desviación estándar

a, b letras distintas en la misma columna indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

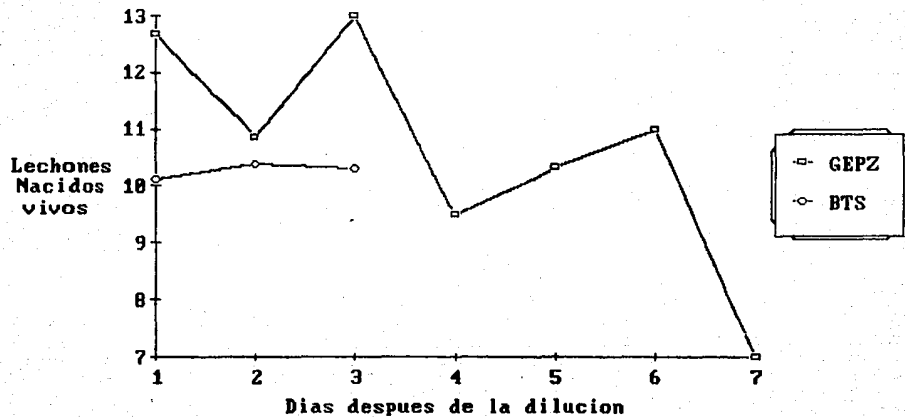
9

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

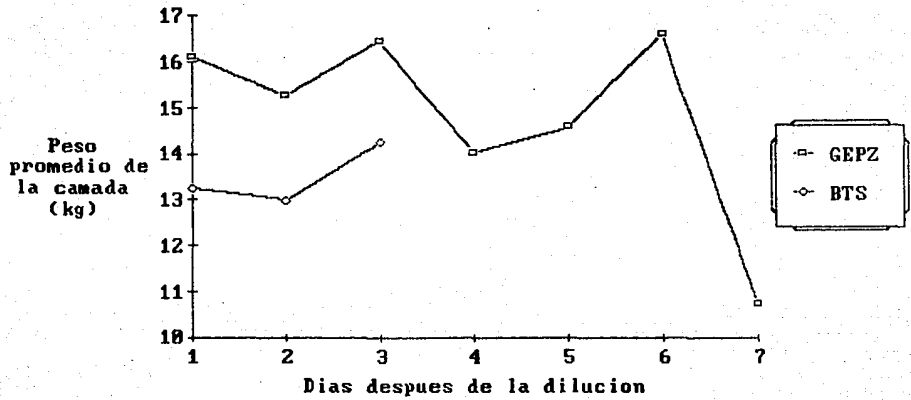
Grafica 1
Fertilidad en ambos diluyentes a lo largo
del tiempo de almacenamiento



Grafica 2
Promedio de lechones nacidos vivos en los
distintos dias de almacenamiento



Grafica 3
Peso promedio de las camadas nacidas al usar
cada
diluyente a diferentes dias de almacenamiento



DISCUSION

La preservación de la fertilidad fué mayor para el diluyente BTS que para el diluyente GEPZ. Sin embargo el diluyente GEPZ conserva el semen durante 7 días sin detrimento de la capacidad fecundante del semen por lo que se recomienda usar el diluyente GEPZ para un mayor tiempo de almacenaje.

Graham et al. (9), afirman que la preservación de semen puede efectuarse conservándolo en estado líquido, para lo que se han utilizado diversos diluyentes que lo conservan en un rango que no sobrepasa los 3 días (29), por lo que es una ventaja utilizar el diluyente GEPZ que lo conserva por un periodo de hasta 7 días.

Aalbers et al. (2) compararon la fertilidad del semen de cerdo almacenado en BTS, Kiev, Zorlesco y Modena utilizando dosis con una concentración de 3×10^7 espermatozoides y aplicado en diferentes granjas al tercer día de su preparación, encontraron porcentajes de pariciones que variaron de 59 a 100% para BTS, 47 a 87% para Kiev, 50 a 73% en Zorlesco y 49 a 74% en Modena.

Manko (20), realizó un estudio de concepción en cerdas inseminadas con semen diluido en GKHTsSN-RU1 y GKHTsS en relación con el tiempo de almacenaje que fué de 1 a 4 días teniendo como resultado 92.3% para GKHTsSn-RU1 y 89.7% para GKHTsS del día 1 al día 3, y después del día 4 el resultado fué de 73.3% y 70.6% respectivamente.

Johnson (14), llevó a cabo un estudio de la fertilidad de cerdas inseminadas con diversos tipos de diluyentes como BTS, Kiev, Modena y Zorlesco utilizando un total de 6000 cerdas, y obtuvo como resultado una fertilidad de 80.3% y 78.9% para el primero y segundo día de almacenamiento, y 74.6% después del tercer día de conservación para BTS que fué el diluyente que mantuvo una mayor fertilidad comparado con los demás diluyentes.

De acuerdo con los resultados se podría recomendar el uso de GEPZ como conservador de semen por un mayor número de días sin que se afecte al número de lechones nacidos vivos, lechones nacidos total y peso de la camada al nacimiento, y se recomendaría usar BTS cuando no se requiera un almacenaje mayor a 3 días y se quiera conservar un elevado índice de fertilidad, aunque las camadas podrían resultar menos numerosas y pesadas.

LITERATURA CITADA

1. Aalbers, J.G.; Johnson, L.A.; Rademaker, J.H.M. and Grooten, H.J.G.: Use of boar spermatozoa for A.I.: Fertility and morphology of semen diluted in BTS and used for insemination within 24h. or 25h. after collection. Pig News Inf. 6.2:174 (1985).
2. Aalbers, J.G.; Rademaker, J.H.M.; Grooten, H.J.G. and Johnson, L.A.: Fecundity of boar semen stored in BTS, Kiev, Zorlesco and Modena extender under field condition. J. Anim. Sci. 57 Suppl. 1:314-315 (1983).
3. Aalbers, J.G. and Smith W.J.: Used of semen more than 24 hours old in pig A.I. Pig News Inf. 5,4:390 (1984).
4. Andrade, V., García, N., Sánchez, H. y Valle: Geografía Dos. Ed. Trillas. México, D.F., (1981).
5. Armenta, D.E.R.: Sensibilización de cerdas primerizas con machos infértiles previa a la inseminación artificial y su efecto en su número de embriones. Tesis de Licenciatura Fac. Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., 1986.
6. Bamba, K. and Cran, D.G.: Effect of rapid warming of boar semen on sperm morphology and physiology. J. Reprod. Fert.; 75:133-138 (1985).
7. Berger, T. and Clegg, E.D.: Effect of male accessory gland secretions on sensivity of porcine sperm acrosomes to cold shock, initiation of motility and loss of cytoplasmic droplets. J. Anim. Sci. 60. 5:1295-1302 (1985).
8. Einarsson, B.: Site, transport and fate of inseminated semen. Proc. 9th Int. Congr. Anim. Reproduction and Artificial Inseminated. (Madrid) 1:147-158 (1980).
9. Graham, E.F., Crabo, B.G. and Pace, M.M.: Current status of semen preservation in the ram, boar and stallion. J. Anim. Sci. 11 suppl. 47: 80:110 (1978).
10. Hancock, J.L. and Hovell, G.J.R.: The effect of semen volumen and number of spermatozoa on the fertility of intrauterine insemination of pigs. Anim. prod. 3:153-161 (1961).
11. Im, K.S. and Chung, C.Y.: Studies on the storage of fresh and frozen boar semen. Pig News Inf. 2. 1:72 (1981).

12. Johnson, I.A.; Aalbers, J.G.; Willems, C.M.T.; Rademaker, J.H.M. and Rexroad, Jr. C.E.: Use of boar spermatozoa for artificial insemination III. Fecundity of boar spermatozoa stored in Beltsville liquid and Kiev extender for three days at 18 C J. Anim Sci. 54: 132-136 (1982).
13. Johnson, I.A.; Aalbers, J.G.; Willems, C.M.T.; and Rademaker, J.H.M.: Fertility of boar semen stored in BL-1 and Kiev extenders at 18 C for three days. Pig News Inf. 2: 4:415 (1981).
14. Johnson, L.A.: Artificial insemination of swine: Fertility using several liquid semen diluents. In Proceedings of the 8th International Pig Veterinary Society Congress, Ghent, Belgium, Aug. 27-31 1984. Ghent, Belgium, University Faculty of Veterinary Medicine (1984) 293.
15. Jones, R.C.: The plasma membrane of ram, boar and bull spermatozoa. J. Reprod. Fert. 33: 179-183 (1973).
16. Kennedy, U.P.; Swift, Ann, M.; Parrish, R.F. and Polakiski, K.L.: Proacrosin conversion inhibitor. J. Biol. Chem. 257: 6:3095-3099 (1982).
17. Khomyak, I. I.: The formation of ammonia during the incubation and storage of boar semen. Pig. News Inf. 5: 2:182 (1984).
18. Koh, T.J., Crabo, B.G., Teon, A.L. and Graham, E.F.: Fertility of liquid boar semen as influenced by breed and season. J. Anim Sci. 42: 138-144 (1976).
19. Koning I.: Inseminación de la cerda. Ed. Acribia, Zaragoza España 1979.
20. Man ko, Yu.G.: A study of conception rate of sows in relation to storage duration of semen diluted in GkhTsSV-RU1 and GkhTsS diluents. Kontrol, Standartiz; primeneniye khimioterapeut i biol aktiv preparator korm dobabok; premikov Moscow, USSR (1986) 30-33.
21. Melrose, D.R.: A Review of progress and of possible developments in artificial insemination of pigs. The Veterinary Record 78: 159-167, 1966.
22. Meza, G.J.L.: Estudios morfológicos del ciclo estral en el porcino. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1979.
23. Moore, H.D.M.; Hall, G.A. and Hibbitt, K.G.: Seminal plasma proteins and the reaction of spermatozoa from intact boars and from boars with out seminal vesicles to cooling. J. Reprod. Fert. 47: 39-45 (1976).

24. Moore, H.D.M.; and Hibbitt, H.G.: The binding of labelled basic proteins by boar spermatozoa J. Reprod. Fert. 46:71-76 (1976).
25. Navarro, R.R.: Introducción a la Bioestadística, Análisis de Variables Binarias. McGraw-Hill, México 1987.
26. Paquignon, M.; Bussiere, J.; Bariteau, F. and Kerangat, G.: Efficiency of Guelph and SCK-7 diluents for prolonged storage of liquid boar semen. Pig News Inf. 2. 4:416 (1981).
27. Paquignon, M. and Courrot, M.: Advances in boar semen preservation Technology in France.: Pig News Inf. 2. 4:397-400 (1981).
28. Pérez y P.F.: Reproducción Animal: Inseminación Artificial y trasplante de embriones. Científico-Médica, Barcelona, España. 1985
29. Pursel, V.G.: Advances in preservation of swine spermatozoa. P. 145-158 In: Bettsville symposia in agricultural research. Animal Reproduction. All enheld, Osmun and Co., Montclair New Jersey 1976.
30. Pursel, V.G.: Preservation of boar semen above 15 C Effects of storage temperature, extender and container J. Anim. Sci. 57 Suppl. 1:125-126 (1983).
31. Pursel, V.G.; Johnson, L.A. and Rademakers: Acrosome morphology of boar spermatozoa incubated before cold shock. J. Anim. Sci. 34:278-283 (1972).
32. Ramírez, R.R.A.: Evaluación de dos tipos de diluyentes para preservar el semen de cerdo en estado líquido. Tesis de Licenciatura Fac. Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México México, D.F. 1984.
33. Reed, H.C.B.: Control of pig reproduction. Artificial Insemination. Meat and Livestock Commission Pig Breeding Centre. Ed. Fac. Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1981.
34. Strzezek, J. and Sławeta, R.: Biochemical and morphological changes in boar semen during storage at 15 - 18 C. Pig News Inf. 2. 1:137 (1983).
35. Strzezec, J.; Smigielaska, J. and Liminowicz, J.: Metabolism of boar semen diluted in defferents diluents and stored at 18 - 20° C. Pig News Inf. 3. 1-116 (1982).

36. Susuki, H. and Niwa, T.: Variation in intracellular enzymes, specially glutamic oxalacetic transaminase and hyaluronidase during storage of boar spermatozoa. Pig News Inf. 5. 1:62 (1984).
37. Thacker, G. J.; Larsen, R. E.; Joo, H. J. and Lemay, H. D.: Swine diseases transmissible with artificial insemination. J. Am. Vet. Med. Assoc. 185. 5:511-516 1984.
38. Triana, L. R.; Babcock, D. F.; Lorton, S. P.; First, N. L. and Lardy, H. A.: Release of acrosomal hyaluronidase follows increased membrane permeability to calcium in the presumptive capacitation sequence for spermatozoa of the bovine and other mammalian species. Biol. Reprod. 23:47-59 (1980).
39. Vázquez, I.: Valoración de acrosomas normales en células espermáticas de verraco. Zoot. 29: (10-12): 507-512 (1980).
40. Vengust, M.; Illera, M. L.; Senegacnik, J.; Patac, D. and Bester, M.: Relation between some boar semen characters and adaptability to liquid storage and freezing. Pig. News Inf. 5. 4-489 (1984).