

138
294

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACION DE LA MOTILIDAD Y DAÑO ACRO-
SOMAL EN SEMEN DE CERDO ALMACENADO EN
LOS DILUYENTES BTS Y GEPZ.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A I
CAROLINA MARTINEZ MENDOZA

Asesores MVZ (S) Joaquín Becerra A.
Ricardo Navarro F.
Jesús Corzo N.
Marco A. Soto F.



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.

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
I INTRODUCCION.....	3
II MATERIAL Y METODOS.....	5
A). Localización y características del Centro de Inseminación Artificial.....	5
B). Animales Experimentales.....	5
C). Procedimiento Experimental.....	5
III RESULTADOS.....	10
IV DISCUSION.....	11
V LITERATURA CITADA.....	14
VI ANEXOS.....	19

RESUMEN

MARTINEZ MENDOZA CAROLINA. "Evaluación de la motilidad y daño acrosomal en semen de cerdo almacenado en los diluyentes BTS y GEPI" (bajo la dirección de Joaquín Becerra A., Ricardo Márquez P., Jesús Coscojón W. y Marco A. Soto P.).

Se realizó un estudio para evaluar la eficiencia de los diluyentes Beltsville Thawing Solution (BTS) y GEPI para preservar el semen de cerdo a diferentes tiempos de almacenamiento. Se utilizaron seis verracos los cuales se colectaron cinco veces cada uno a intervalos de siete días utilizando la técnica de la mano enguantada. Cada eyaculado se dividió en dos fracciones, una se diluyó en BTS y la otra en GEPI. Se prepararon $40 \mu\text{l}$ para inseminación artificial con una concentración total de 5×10^6 espermatozoides diluidos en un volumen de 100 μl . La motilidad se evaluó con microscopio de campo claro y la morfología acrosomal con microscopio de contraste de fases. Las evaluaciones se realizaron antes de diluir, inmediatamente después de diluir y cada 24 horas hasta la hora 192. El GEPI fue mejor que el BTS para mantener la motilidad ($p < 0.01$): ambos iniciaron en 74.7% pero el GEPI tenía una motilidad 10 veces mayor que el BTS a las 192 h (30.5 vs 3.3%). También el GEPI fue mejor en la conservación de los espermatozoides con acrosoma normal: durante las 192 h mantuvo promedios mayores, aunque la diferencia no fue muy grande ($p < 0.01$). Por otro lado, no se encontró diferencia significativa en DAM, MAR y LAC ($p > 0.05$).

INTRODUCCION

La capacidad fertilizante del semental es de suma importancia dentro de una empresa porcícola, ya que el 50% de la contribución genética a las crías está dado por el macho. Adg más, cada macho adulto proporciona 15 a 20 veces más crías que una cerda (12).

En cerdos, el propósito de manejo reproductivo del verraco consiste en el mantenimiento de una libido y fertilidad óptimas, principalmente cuando se utiliza para inseminación artificial (IA) (12,13,34).

En la actualidad, la IA tiene gran importancia, ya que se permite un mejor uso del material genético del verraco cuyas características zootécnicas han sido probadas (12,13).

Desde el punto de vista productivo, la IA representa una posibilidad para aumentar la eficiencia de la producción de los cerdos, ya que con el eyaculado de un macho adulto se pueden inseminar hasta 20 cerdas y considerando que un verraco se colecta dos veces por semana, en un año se pueden inseminar por lo menos a 2 000 hembras con un solo semental (1,3, 4,3,9).

Se han mencionado entre las ventajas de la IA, mejorar el valor genético del hato y disminuir el riesgo de adquirir en las cerdas enfermedades transmisibles por el semen como sujec ky, parvovirus, brucelosis, leptospirrosis y otras. Pero también la IA tiene varias desventajas, y una de las más importantes es el no poder mantener una buena capacidad fertilizante de los espermatozoides almacenados en estado líquido más allá de 3 días. Esto se debe a que durante el almacenaje la membrana celular de la cabeza del espermatozoide sufre cam-

bios, resultando la liberación hacia el exterior de enzimas, principalmente hialuronidasa, transaminasa glutámica oxalacética y acrosinas, que son importantes para el proceso de capacitación espermática. Además, existe acúmulo de amoníaco, ácido pirúvico, láctico y carbónico, que tienen un efecto adverso sobre la motilidad y sobrevivencia de los espermatozoides (5,17,25,33).

Un buen diluyente para preservar el semen diluido debe poseer las principales características: nutrientes adecuados, sustancias bufferantes, apropiada presión osmótica, electrolitos balanceados, inhibición del crecimiento bacteriano y un volumen adecuado para múltiples inseminaciones (23,27).

Se han utilizado diversos diluyentes que incluyen elementos como: TRIS, dextrosa, ácido cítrico, cafeína, yema de huevo, citrato de sodio, glicina, bicarbonato de sodio, cloruro de potasio, EDTA, cisteína, albúmina sérica bovina y otros, además antibióticos como penicilina, estreptomisina y gentamicina. Esto es con el propósito de conservar en el mayor tiempo posible la capacidad fertilizante de los espermatozoides (10,11,19,22,34).

En estudios comparativos se han evaluado los diluyentes Beltsville Thawing Solution (BTS), Illinois Variable Temperature (IVT), Beltsville Liquid Extender (BL-1), Torlesco, Modena y Kiev, que en la actualidad se usan y se ha recordado su almacenaje a temperaturas de 15 a 22^o C, pero en la mayoría de ellas no se ha logrado una conservación adecuada del semen por más de 3 días (5,14,26,31). Se ha encontrado que el BTS resulta mejor que los demás diluyentes para mantener la capacidad fertilizante de los espermatozoides conservándolos hasta por 3 días (2,5,8,28,29).

Purcell, (27), examinó los efectos de la temperatura a 15, 19 y 23° C sobre el semen almacenado durante 7 días en BL-1, BTS, Kiev y Modena utilizando 40×10^6 espermatozoides por ml y encontraron que a 23° C el porcentaje de motilidad y el porcentaje de espermatozoides con capachón acrosomal normal (NAR), se mantenían mejor durante 7 días en BTS, seguido por el Kiev, BL-1 y Modena.

Aalbers, et al. (2), compararon la fecundidad del semen de cerdo almacenado en BTS, Kiev y Modena a $18 \pm 2^\circ \text{C}$ utilizando $8g$ sis con una concentración de 3×10^7 espermatozoides. Estas dosis se aplicaron en varias granjas al tercer día de la colección y se encontraron porcentajes de pariciones que variaron de 59 a 100% con BTS; 47 a 87% con Kiev; 57 a 73% con Forlesco y 49 a 74% con Modena. También en otro experimento Aalbers, et al. (1), evaluaron los diluyentes BTS, Forlesco y Modena en cuanto a su capacidad para mantener la fertilidad del semen. Se almacenó a 18°C durante 3 días y encontraron que el BTS mantuvo mayor porcentaje de acrosomas normales, lo que estuvo estrechamente relacionado con el porcentaje de fertilidad.

El propósito de este trabajo fué comparar la efectividad del BTS con la del diluyente denominado GENE, mediante la realización de pruebas de laboratorio para evaluar la motilidad y la morfología de los espermatozoides almacenados durante 8 días (193 h).

MATERIAL Y METODOS

A) LOCALIZACION Y CARACTERISTICAS DEL CENTRO DE IA.

El trabajo se realizó en el laboratorio de inseminación artificial de la Granja Experimental Porcina Zapotitlán, dependiente de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Ubicada en la calle Manuel M. López S/O, Centro del perímetro del pueblo de Zapotitlán, a la altura del km 21.5 de la carretera México-Toluca, en la Delegación Tlaxhuac, D.F. Geográficamente, su ubicación es en la Cuenca del Valle de México, a $19^{\circ} 18'$ Latitud Norte y $99^{\circ} 2' 3''$ Longitud Oeste del Meridiano de Greenwich con una altura sobre el nivel del mar de 2 242 m y una presión de 588 mmHg. Esta región se clasifica como templado con lluvias en verano (CW), según Köppen (20).

El laboratorio de inseminación artificial cuenta con 14 sementales, los cuales, se entrenan desde los seis y medio a siete meses de edad en un potrero de monta. Estos sementales se alojan en corrales individuales y se les proporciona 2.5 kg de alimento balanceado al día. Cada semental se colecta regularmente una vez por semana y se cuenta con registros de evaluación individual para cada colección.

B) ANIMALES EXPERIMENTALES.

Las colecciones se realizaron de enero a octubre de 1988, utilizando 4 verracos del programa de IA de las razas yorkshire, hampshire y landrace. De cada uno se obtuvieron 5 eyacuulado a intervalos semanales.

C) PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

Para realizar la colección del semen, se utilizó la técnica de la mano enguantada (16). Antes de coleccionar el semen se exprimieron perfectamente bien las bolsas prepuciales para que fueran expulsados los detritus celulares y restos de orina que podrían dañar a los espermatozoides. Después se coleccionó el semen en un envase térmico de plástico al que se le adaptó una bolsa de polietileno en su interior, y en la boca del mismo, un embudo con una gasa de algodón que servía como filtro para evitar que el semen se acompañara de la porción gelatinosa. Inmediatamente después de la colección, el termo fué tapado y llevado al laboratorio para su posterior evaluación.

Dentro de la evaluación se tomaron en cuenta los siguientes aspectos:

1) MOTILIDAD.

En el momento que llegó el semen al laboratorio, se evaluó el porcentaje de motilidad progresiva de los espermatozoides. Esta prueba se realizó colocando sobre un portaobjetos, una gota de semen, y sobre esta, un cubreobjetos, y todo ello sobre una termoplatina con una temperatura de 37°C para su posterior observación en el microscopio de campo claro con el objetivo 10x (seco débil).

2) MORFOLOGIA.

Se tomó una gota de semen y se realizó un frotis fijo con el colorante Eosina-Nigrosina (17), que contiene los siguientes elementos:

Citrato de sodio.....	2.90g
Migrosina.....	10g
Eosina.....	1.57g
Agua destilada.....	c.b.p. 100 ml

Posteriormente se observó en el microscopio de campo claro, primero con el objetivo 10x (seco débil) y después con el objetivo 40x (seco fuerte) y se efectuó el conteo de 200 espermatozoides para determinar el porcentaje de anomalías.

3) CONCENTRACION.

Con la pipeta de Thoma se realizó una dilución de 1:200 con una solución de citrato de sodio al 2.5% adicionada de aproximadamente 200 ppm de formalina. Esta solución se utilizó como solvente, y el semen, como soluto. Para esto se tomó hasta 0.5 de semen con la pipeta y posteriormente se tomó hasta 101 de la solución de citrato de sodio, con la misma. Después se agitó la pipeta y se tiraron 1 a 4 gotas de la solución, la siguiente gota se colocó en cada cámara del hematocitómetro (cámara cuantaglóbulos) y se procedió al conteo de los espermatozoides con el objetivo 40x del microscopio.

Se contaron los espermatozoides de 5 cuadros, los 4 de los extremos y el del centro. Al contar en cada cuadro se tomaron en cuenta los espermatozoides encontrados dentro y los que se encontraban tocando la línea superior y derecha. Cuando se contó, se movió el tornillo micrométrico del microscopio para observar las diferentes profundidades de la cámara.

Para calcular la concentración espermática se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Conc. esperm./ml} = \frac{\text{No. de esperm. contados} \times 1000}{(1/5) (1/10) (1/200)}$$

1/5 corresponde al número de cuadros contados.

1/10 corresponde a la profundidad de la cámara.

1/200 corresponde al factor de dilución (36).

4) DILUCION Y EVALUACION DE LAS MUESTRAS.

Se elaboró una dilución isotérmica con cada una de las muestras a una concentración de 5×10^9 espermatozoides en un volumen total de 100 ml. Se emplearon los diluyentes B75 (6) y GEPI.

El B75 consta de los siguientes componentes:

Dextrosa.....	37g
Citrato de sodio.....	6g
Bicarbonato de sodio.....	1.25g
EDTA.....	1.25g
Cloruro de potasio.....	0.75g
Gentamicina.....	37mg
Agua destilada.....	c.b.p. 1000 ml

En cuanto al diluyente GEPI, su patente está en trámite.

En cada eyaculado obtenido se prepararon dos fracciones, una con B75 y la otra con GEPI. Estas se mantuvieron en una caja de poliestireno a una temperatura de 15 a 18^o C.

Las dosis se envasaron en botellas de plástico de las que se tomaron muestras a las 0, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 y 192 h después de la dilución inicial para evaluar el porcentaje de motilidad. En cada ocasión, las dosis se mantuvieron durante 5 minutos en baño maría a 39^oC y posteriormente se observaron al microscopio con la técnica ya descrita.

Siguiendo el mismo procedimiento establecido para la moti

lidad, a las 0, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 y 192 h después de la dilución inicial, se tomaron 2 a 3 gotas de semen de Cg de uno de los diluyentes y se colocaron en viales que contenían solución bufferada de Hancock (14) cuya fórmula se enlistaba a continuación:

Na ₂ HPO ₄ 2H ₂ O.....	6.19g
KH ₂ PO ₄	2.54g
Formaldehído.....	125 ml
Na Cl.....	5.41g
Agua destilada.....	c.h.p. 1000 ml

Posteriormente se llevó a cabo la evaluación del porcentaje de espermatozoides con capacidad acrosomal normal (MAR), con acrosoma dañado (DAR), con acrosoma perdido (MAR) y acrosoma degenerado (LAC) (20,24). Para ello, se tomó y colocó una gota de solución entre un porta y un cubreobjetos y se observó con aceite de inmersión en el microscopio de contraste de fases con el objetivo pH 3.

5) ANALISIS EXPERIMENTAL.

En el semen sin diluir se empleó un análisis de varianzas con un modelo que incluyó sesental y colección. Para el semen diluido se aplicó un modelo cuyos factores fueron: tipo de diluyente, tiempo, la interacción diluyente-tiempo, sesental y número de colección. El efecto del tiempo se dividió en la tendencia lineal, cuadrática y cúbica, además de la diferencia de pendientes para estas tendencias (21).

RESULTADOS

Se encontró una diferencia significativa en el porcentaje de motilidad con una distinta tendencia a lo largo del tiempo: el diluyente GEPS conservó mejor el porcentaje de motilidad en todos los tiempos de almacenamiento después de la dilución, apreciándose un descenso más rápido en la motilidad con el STS conforme transcurrieron las horas ($p < 0.01$), según se muestra en la gráfica 1 (anexos).

Además, el GEPS mantuvo en promedio, mejores porcentajes de espermatozoides con MAR ($p < 0.01$), gráfica 2 (anexos).

En los espermatozoides con DAR, MAR Y LAC no hubo efecto significativo del diluyente ($p > 0.05$), gráficas 3, 4 y 5 (anexos).

Se observó un efecto significativo del paso del tiempo con tendencia lineal en todas las variables analizadas ($p < 0.01$), gráficas 1 a 5 (anexos).

Las proporciones de espermatozoides con MAR y LAC muestra con una tendencia cuadrática ($p > 0.05$), gráficas 4 y 5 (anexos).

DISCUSION

El criterio para evaluar la capacidad de conservación de un diluyente se realiza con base en el porcentaje de motilidad progresiva y acrosomas normales. Estas características se ven afectadas regularmente durante el procesamiento del semen y durante el almacenaje (2,4,24,25,35).

En algunos trabajos se han comparado diferentes tipos de diluyentes midiendo el porcentaje de motilidad y el porcentaje de acrosomas normales, encontrándose que la preservación de estas características depende del tipo de diluyente, del tiempo de conservación, de la temperatura de almacenaje y a veces, del recipiente que se utilice (18,26,31,32).

En el presente trabajo al comparar los diluyentes BTS y GEP3, los porcentajes de motilidad fueron favorables para este último a diferentes tiempos de almacenaje. Esto es debido a que tal diluyente reúne mejores cualidades para la conservación de los espermatozoides.

Pursel, (27), comparó los diluyentes BL-1, Kiev y Modena a 3 temperaturas diferentes (15, 19 y 21° C) almacenados durante 7 días. Se encontró que el BTS mantuvo mejores porcentajes de motilidad a 21° C que a 15 y 19° C.

Vengust, et al. (35), evaluaron semen de cerdo después de las siguientes etapas: dilución en TRIS, equilibración y 72 h de almacenaje y encontraron los siguientes porcentajes de motilidad: 75, 73 y 54 respectivamente.

Por otro lado, los espermatozoides con acrosoma normal (NAR), también tuvieron un decremento más notorio con el diluyente BTS que con el diluyente GEP3, lo cual indica, que este último, debido a sus cualidades de preservación, logra mantener en mejores condiciones la integridad de los esper-

matosoides.

Parsel, (27), evaluó los porcentajes de MAR con los diluyentes BTS, Kiev, BL-1 y Modena durante 7 días a 15, 19 y 23^o C y encontraron que los porcentajes de espermatozoides con acrosoma normal fueron similares para BTS, Kiev y significativamente bajos para BL-1 y Modena.

Vengust, et al. (35), evaluaron semen fresco y después de las siguientes etapas: dilución en TRIS, equilibración y 72 horas de almacenaje a temperatura ambiente y encontraron los siguientes porcentajes de MAR como siguen respectivamente: 87, 82, 74 y 62, observando así que el porcentaje de espermatozoides con MAR disminuyó gradualmente conforme al manejo y al tiempo de almacenaje.

En este trabajo no hubo diferencia significativa en el porcentaje de espermatozoides dañados entre ambos diluyentes. Sin embargo, se notó que conforme transcurrió el tiempo de almacenaje, aumentó el porcentaje de espermatozoides con acrosoma dañado.

Aalbers, et al. (1), evaluaron semen diluido en BTS, Kiev, Sorlesco y Modena a 18^o C y almacenado hasta 3 días. Encontraron que el porcentaje de espermatozoides con daño acrosomal fué menor en BTS, lo que estuvo estrechamente relacionado con el porcentaje de concepción del mismo.

Slawata, et al. (36), evaluaron semen de cerdo a 3 diferentes periodos de almacenaje a 15 a 18^o C (0-12, 24-36 y 48-62 h) encontrando los siguientes porcentajes de acrosomas dañados: 13.36, 20.62 y 29.79 respectivamente en cada periodo.

Considerando que la motilidad y la morfología acrosomal están estrechamente relacionadas con los espermatozoides no

males, se encontró que ambas características se mantuvieron mejor con el diluyente GEPE.

Se concluye que el diluyente GEPE resulta mejor que el NTS para preservar el semen de cerdo diluido hasta por 8 días (192 h), ya que logra mantener en condiciones óptimas las características de este.

LITERATURA CITADA

1. Aalbers, J.G.; Rademaker, J.E.M.; Grooten, H.J.G. and Johnson, L.A.: Fecundity of boar semen stored in BTS, Kiev, Borlesco and Modena extenders under field conditions. J. Anim. Sci. 57 suppl. 1:314-315 (1983).
2. Aalbers, J.G.; Johnson, L.A.; Willems, C.H.T.; Rademaker, J.E.M. and Rexrood, C.E.: Fecundity of boar spermatozoa after storage at 18°C for up to three days. J. Anim. Sci. 51 suppl. 1:335 (1981).
3. Aalbers, J.G.; Johnson, L.A.; Willems, C.H.T.; Rademaker, J.E.M. and Rexrood, C.E.: Use of boar spermatozoa for artificial insemination. III Fecundity of boar spermatozoa in Beltsville Liquid and Kiev extenders for three days at 18°C. J. Anim. Sci. 54 1:132-136 (1982).
4. Aalbers, J.G. and Smith, W.J.: Use of semen more than 34 hours old in pig AI. Pig News Inf. 5 4:39 (1984).
5. Amézaga, C.O.: Evaluación del daño acrosomal en espermatozoides de semen de cerdo almacenados en BTS. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1987.
6. Bambs, K. and Cran, D.G.: Effect of rapid warming of boar semen on sperm morphology and physiology. J. Reprod. Fert. 15 1:133-136 (1985).
7. Bambs, K. and Sone, M.: Factors affecting the quality of boar semen stored by means of dialysis. J. Reprod. Fert. 62 193-197 (1981).
8. Howard, E.P. and Tamblin, T.M.: Long-term storage of liquid boar spermatozoa: In vitro parameters. J. Anim. Sci.

- 53 1:54 (1981).
9. Bundy, C.E.; Viggins, R.N. and Christensen, V.W.: Producción porcina. CECSA. 1976.
 10. Chung, C. and IM, K.J.: Studies on the storage of fresh and frozen boar semen. Effects of diluent on viability and fertility. Pig News Inf. 2 1:72 (1981).
 11. Dada, T.I.: Storage media for porcine spermatozoa: Effects of osmotic pressure and pH. Pig News Inf. 3:121 (1984).
 12. Galina, C.; Santiel, A.; Valencia, J.; Becerril, J.; Bustamante, G.; Calderón, A.; Páramo, H. y Zarco, L.: Reproducción de los animales domésticos. LIMUSA. México. 1986.
 13. Hafes, E.S.E.: Reproducción e inseminación artificial en animales. Nueva Editorial Interamericana. México. 1984.
 14. Hancock, J.L.: The morphology of boar sperm. J. Roy. Soc. Soc. 76:84 (1957).
 15. Novotná, J.: The problem of preserving boar semen. Pig News Inf. 3 4:488. 1984.
 16. Hurtgen, J.P.; Larsen, R. and Crabo, B.: Factors affecting the semen quality in the boar. Proc. 9th Congr. Reprod. Madrid, Spain. (1984).
 17. Hurtgen, J.P.: Reproductive examination of the boar. J. Soc. Theriogenology XII 1-48 (1948).
 18. Johnson, L.A.; Ashers, J.G.; Willness, C.M.T. and Rademker, J.H.M.: Fertility of boar semen stored in BL-1 and Klev extenders at 18°C for three days. Pig News Inf. 3 4:415 (1981).

19. Khomyak, I. I.: The formation of ammonia during the incubation and storage of boar semen. Fig News Inf. 5, 2. 182 (1981).
20. Lamfranchi, V.E.: Observaciones estacionales sobre algunos parámetros reproductivos del ganado porcino en el Valle de México. Tesis de Licenciatura. Fag. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México 1983.
21. Méndez, I.: Comentarios sobre el diseño y análisis de experimentos con animales. Com. Tec. 57 Inst. Inv. Mat. Apl. y Sist. Universidad Nacional Autónoma de México, México (1983).
22. Niwa, T. and Hashizume, T.: Studies on the storage of boar semen at 5° C. I. Effect on sperm viability of semen diluent additives and rate of temperature changes. Fig News Inf. 5 1:62 (1984).
23. Paquignon, M. and Courot, M.: Advances in boar semen preservation technology in France. Fig News Inf. 2 4:397-400 (1981).
24. Paquignon, M.; Bussiere, J.; Bariteau, F. and Kainangat, G.: Efficiency of Gosalph and BCK-7 diluents for prolonged storage of liquid boar semen. Fig News Inf. 2 4:416 (1981).
25. Paquignon, M.; Dacheuk, J.L and Courot, M.: In vitro study of factors improving sperm survival during prolonged storage. Fig News Inf. 4 2:165 (1983).
26. Paquignon, M.; Bariteau, F.; Bussiere, J.; Dacheuk, J.L. and Courot, M.: Effects of diluent, dilution rate and seminal plasma on the fertility of sows after prolonged se-

- son storage. Pig News Inf. 4 2:165 (1963).
27. Pursel, V.G.:preservation of boar semen above 15° C. Effects of storage temperature, extender and container. J. Anim. Sci. 37 suppl. 1:125-126 (1963).
28. Pursel, VG.:Advances in preservation of swine spermatozoa. In Metzville Symposium in Agricultural Research, (1979).
29. Ramirez, R.R.A.:Evaluación de dos tipos de diluyentes para preservar el semen de cerdo en estado líquido. Tesis de licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1984.
30. Slaweta, R.; Sikorska, J. and Strzerek, J.:The effect of storing boar semen at 15-18° C for varying lengths of time on the morphology and biological value of spermatozoa. Pig News Inf. 4 (3):251 (1981).
31. Strzerek, J. and Slaweta, R.: Biochemical and morphological changes in boar semen during storage at 15-18° C. Pig News Inf. 7 1:137 (1984).
32. Strzerek, J.; Śnięcińska, J.; Cimnówikz, J.J.; Bączot, H. and Glogowski, J.: Metabolism of boars semen diluted in different diluents and stored at 18° C-20° C. Pig News Inf. 3 1:116 (1982).
33. Thacker, G.J.; Larsen, R.E.; Joe, H.J. and Leman, A.D.: Swine diseases transmissible with artificial insemination. J. Am. Vet. Med. Assoc. 183 5:511-516 (1984).
34. Vázquez, I.:Valoración de los acrosomas normales en células espermáticas de verraco. Zoot. 22 (10-12):207-212 (1980).

35. Varguast, M.; Illera, M.J.; Senegacnik, J.; Petac, D. and Benter, M.: Relation between some boar semen characters and adaptability to liquid storage and freezing. Pig News Inf. 5 4:489 (1964).
36. Villasil, P.F.: Manejo del verraco para la inseminación artificial. Estudio recapitulativo. Tesis de Licenciatura, Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1967.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

ANEXOS

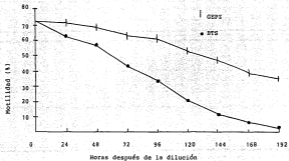


Gráfico 1. Porcentajes de motilidad durante el almacenaje.

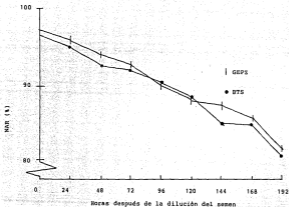


Gráfico 2. Porcentajes de espermatozoides con acrosoma normal (MAR) durante el almacenaje.

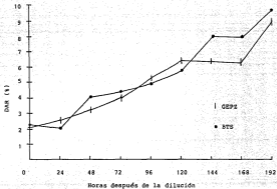


Gráfico 3. Porcentajes de espermatozoides con acrosoma dañado (DAR) durante el almacenaje.

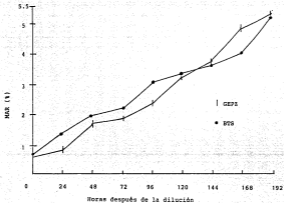
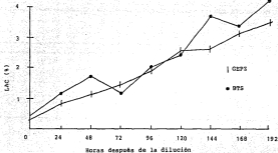


Gráfico 4. Porcentajes de espermatozoides con acrosoma perdido (MAA) durante el almacenaje.



Gráfica 5. Porcentaje de espermatozoides con acrosoma degenerado (DAR) durante el almacenaje.