

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

TÍTULO:

**EFECTO DE DOS DILUYENTES DE LARGA DURACIÓN PARA SEMEN  
PORCINO SOBRE LA MOTILIDAD, ANORMALIDADES ESPERMÁTICAS,  
DAÑO ACROSOMAL Y LIPOPEROXIDACIÓN DE LOS ESPERMATOZOIDES**

**SUSTENTANTE: HERNÁNDEZ LÓPEZ DAVID**  
**PASANTE DE LA CARRERA DE MVZ**

**ASESOR: M en C. ROBERTO GUSTAVO MARTÍNEZ GAMBA**

**COASESOR: DR. ANTONIO DÍAZ CRUZ**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

# ÍNDICE

<b>1. Resumen</b> .....	3
<b>2. Introducción</b>	
1.1. Producción porcina.....	4
1.2. El macho reproductor.....	4
1.3. La inseminación artificial.....	5
1.4. Los diluyentes.....	5
1.5. Calidad del espermatozoide, antioxidantes, daño oxidativo.....	6
1.6. Justificación.....	8
1.7. Objetivo.....	8
<b>3. Material y Métodos</b>	
3.1. Hipótesis.....	9
3.2. Localización.....	9
3.3. Animales experimentales.....	9
3.4. Procedimiento experimental.....	9
3.5. Variables a evaluar.....	10
3.6. Análisis estadístico.....	10
<b>4. Resultados</b> .....	11
<b>5. Discusión</b> .....	13
<b>6. Conclusiones</b> .....	15
<b>7. Bibliografía</b> .....	16

## **1. RESUMEN**

El efecto de dos diluyentes de larga duración sobre motilidad, anormalidades, daño acrosomal y lipoperoxidación de los espermatozoides fue evaluado en 4 sementales en una granja comercial de 200 vientres, cada semana se colectó a los 4 sementales y a partir de cada eyaculado se realizó la evaluación del semen por espermatobioscopia, se procedió a diluirlo (a 4 mil millones/dosis) con dos diluyentes; el primero es GEDIL 50 G (GENES DIFFUSION IMV) (Diluyente A) y VITASEM LD (MAGAPOR S.L.) (Diluyente B). De cada eyaculado se emplearon dos dosis diluidas con el diluyente A y dos con el diluyente B. Todas las dosis fueron mantenidas en una cámara térmica a una temperatura de 17 °C. Cada dosis se evaluó en cuanto a motilidad, anormalidades y daño acrosomal a los ocho días de preparadas. Este procedimiento se repitió por seis semanas. Para la evaluación de la lipoperoxidación se empleo la prueba de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acuerdo al procedimiento descrito por Ohkawa et al. (1979), y en cada una de las pruebas de TBARS se llevó a cabo una repetición. Para el análisis estadístico de las variables evaluadas se les realizó una prueba t de Student para establecer la diferencia entre diluyentes, se realizó un bloqueo por macho y semana de evaluación. Los resultados obtenidos nos indican que no hubo diferencia entre los dos diluyentes, ambos pueden ser utilizados con valores aceptables a los 8 días de conservación, y la prueba de Tbars puede ser utilizada como un estudio complementario para la evaluación de semen porcino.

## **2. INTRODUCCION**

### 2.1 Producción porcina.

En la actualidad, los animales que se utilizan en la cría intensiva de ganado porcino se caracterizan por su elevada eficiencia productiva. Estos animales se someten a ciclos productivos y reproductivos muy intensos en donde se espera un elevado número de crías por parto, un intervalo corto de una generación a otra y una heredabilidad elevada de los caracteres de interés económico. Esta mejora genética ha requerido a su vez del establecimiento paralelo de mejores condiciones sanitarias, de manejo, ambientales y alimentarias para poder alcanzar los resultados productivos actuales (Buxade, 1996).

Algunas medidas importantes para valorar la productividad de las cerdas en explotaciones intensivas son la determinación del número de lechones destetados o vendidos por cerda al año, lo cual impacta sobre la rentabilidad global de la granja. Del mismo modo se considera también la edad del hato reproductor y las pautas de eliminación (Gordon, 1997).

### 2.2 El macho reproductor.

El macho es un reproductor no estacional y llegan a la pubertad desde los cinco y medio a seis meses pero la pubertad puede retrasarse hasta los siete meses de edad, el uso controlado del macho puede iniciarse poco después de la pubertad, pero deberá limitarse hasta la madurez y aquellos que tienen menos del año de edad no es recomendable que monten más de una vez a la semana, su eyaculado puede variar de 70 a 500 ml y la mayor parte de los espermatozoides se liberan en la segunda fracción, la fracción de gel es producida por las glándulas bulbouretrales (de Cowper), mientras que el fluido libre de gel se deriva principalmente de las vesículas seminales y de la próstata. Las vesículas seminales proveen la mayor parte de la proteína y fructuosa en el eyaculado, mientras que las secreciones prostáticas son altas en electrolitos. Estas secreciones aumentan la motilidad espermática. Los adultos producen de cinco a quince billones de espermatozoides por día. Una dosis de inseminación para la cerda debe tener por lo menos dos mil millones de espermatozoides (Gadea, 2005).

### 2.3 La inseminación artificial.

La inseminación artificial (I.A.) en la producción porcina ha tenido importantes avances tecnológicos, científicos e inclusive comerciales debido a las enormes ventajas que ofrece esta técnica para la producción. Entre los factores que han favorecido el desarrollo de esta técnica se encuentran las ventajas en la diseminación del material genético, unido a que los resultados obtenidos con esta técnica igualan o incluso mejoran los sistemas con monta natural.

En la industria del cerdo, la IA con semen refrigerado se ha venido utilizando con bastante éxito en esta especie desde hace 20 años en la mayoría de los países desarrollados. De hecho el 99% de las veces que se comercializa para la IA es semen refrigerado, obteniéndose resultados de un 83% de partos con una prolificidad media de 10-11 lechones por camada (Medrano, 2005).

La gran difusión de la IA en las granjas ha originado la creación de un mercado donde se ofertan un gran número de diluyentes, para su uso de forma rutinaria en la dilución y conservación de semen refrigerado a 15-18°C. Estos están diseñados para lograr mantener la capacidad fertilizante de los espermatozoides durante varios días, siendo una de las cuestiones más importantes que tiene que solventar el hecho de permitir a los espermatozoides conservar una óptima utilización de las fuentes energéticas presentes en su composición (Medrano, 2005).

### 2.4 Los diluyentes.

Teniendo en cuenta eso, los diluyentes han sido subdivididos en 2 grupos, basados en la longitud de tiempo que son capaces de preservar el semen en estado líquido sin apreciable pérdida de su fertilidad. Estos grupos reciben el nombre de diluyentes de corta duración (cuando conservan el semen 1-2 días) y diluyentes de larga duración (cuando conservan el semen por más de 3 días). En estos últimos, además de conservarse durante mayor periodo de tiempo, se encuentren nutrientes para la obtención de energía y la protección a largo plazo de la célula frente al choque por frío, y además, mediante una solución tamponada, son capaces de controlar los efectos dañinos de las fluctuaciones del pH, así como el mantenimiento de un apropiado balance osmótico. Por lo tanto el control de todos estos

aspectos es fundamental para la optimización del diseño de estos diluyentes (Medrano, 2005).

La elección del diluyente debe ir asociada al tipo de uso que se vaya a hacer de él. Cuando el tiempo de conservación sea inferior a tres días, la elección más racional sería la utilización de un diluyente de corta duración con costos menores y con unos resultados equivalentes a los de diluyentes larga duración. Cuando lo que se pretende es conservar dosis seminales más allá de cuatro días (largas distancias, evaluaciones sanitarias del semen, etc.) se deben utilizar diluyente de larga duración y aumentar la concentración de la dosis para compensar las pérdidas por envejecimiento de los espermatozoides. En cualquier caso la elección del diluyente debe realizarse con el objetivo de optimizar los resultados de fertilidad y prolificidad en las condiciones particulares de cada explotación porcina, ya que su repercusión en el rendimiento económico de la explotación es crucial.

Al mismo tiempo, se han creado un gran número de empresas dedicadas al diseño y producción de diluyente que han facilitado una amplia oferta y han desarrollado un sector con una importante actividad comercial y económica (Pig International, 1998) en la que hay una gran competencia entre los distribuidores. En cualquier caso, y de forma general, los diluyentes de larga duración son más caros que los de corta duración, debido a la adición de componentes de alto precio como el TRIS, BSA, etc., y a que necesitan un mayor tiempo de pesado en su elaboración al ser un medio complejo con mayor número de componentes (Gadea, 2005).

### 2.5 Calidad del espermatozoide, antioxidantes, daño oxidativo

Por calidad seminal se entiende el conjunto de parámetros que caracterizan la viabilidad de la célula espermática. En un principio se hacía referencia a los caracteres que definen la morfología y el movimiento de los espermatozoides (Larsson, 1986), pero posteriormente se le han añadido otra serie de parámetros que tienen por objetivo cuantificar de algún modo la funcionalidad del espermatozoide (Berger *et al.*, 1996).

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 espermograma 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. Por último, es necesario mencionar el especial interés que tiene el estudio de la desestabilización del sistema antioxidante del espermatozoide durante la congelación. En este sentido, se conoce que los procesos de refrigeración y congelación producen una alteración física y química de las membranas espermáticas que tiene como consecuencia la reducción de la viabilidad celular y de su capacidad fecundante. Las alteraciones producidas por la reducción de la temperatura están asociadas con el denominado estrés oxidativo, lo que está inducido por la generación de agentes oxidantes (ROS) (Chatterjee *et al.*, 2001). La consecuencia final es la peroxidación de los lípidos y una alteración grave de la funcionalidad espermática (Selles, 2008).

Recientemente se ha investigado que el semen representa un complejo sistema redox que combina el potencial antioxidante del plasma seminal y de los espermatozoides con el potencial pro-oxidante del espermatozoide a través de la generación de ROS. El sistema defensivo antioxidante incluye una actividad enzimática (superóxidodismutasa, glutatión reductasa, glutatión peroxidasa y catalasa), así como la presencia de diversas sustancias con actividad antioxidante (glutatión reducido (GSH), urato, ácido ascórbico, vitamina E, taurina, hipotaurina, carotenoides y ubiquinonas). El glutatión (L-gglutamyl-L-cisteinilglicina) es un tri-péptido distribuido en todas las células del organismo y juega un papel decisivo en el mecanismo de defensa intracelular frente el estrés oxidativo. La enzima glutatión peroxidasa usa GSH como agente para reducir el peróxido de hidrógeno hasta agua y el lipoperóxido hasta alquil-alcohol. Por otro lado, la forma oxidada del glutatión (GSSG) se reduce hasta GSH mediante la enzima glutatión reductasa usando NADPH como cofactor. El contenido de glutatión (principal agente antioxidante no enzimático) se reduce durante el proceso de congelación (Gadea *et al.*, 2004; Molla *et al.*, 2004), así como también sucede la alteración de las proteínas de la membrana espermática.



## 2.6 Justificación.

La elección de un diluyente de larga duración debe estar basada en la calidad de la dosis después de un periodo largo de conservación, misma que se puede evaluar con las técnicas convencionales de evaluación de dosis, como sería la espermatobioscopía; sin embargo, en la actualidad existen otras pruebas de reciente aplicación en la evaluación del semen, si bien se han aplicado con regularidad en muestras de sangre, estas permiten evaluar directamente sobre la célula espermática la lipoperoxidación la cual, se puede encontrar presente después de un tiempo determinado en el que las células espermáticas al morir liberan los liposacáridos de las membranas celulares los cuales por medio de estas pruebas son detectados y son con los que podemos determinar si hay daño celular, a la vez la protección que ofrecen los diluyentes y por consecuencia la viabilidad que tenga la dosis seminal. Esto es importante ya que en la producción porcina el 50 % de la fertilidad la aporta el semental y en este caso al usar inseminación artificial sería el buen estado en que se encuentren las dosis seminales al determinar el tiempo en que nos ayuda un diluyente y saber si en realidad los diluyentes nos ofrecen la protección adecuada durante los días que nos indican.

## 2.7 OBJETIVO.

Evaluar dos diluyentes de larga duración de tipo comercial, en cuanto a motilidad, anormalidades, daño acrosomal; y por medio de una prueba que nos permite identificar la lipoperoxidación de los espermatozoides.

### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.1 HIPOTESIS**

No existirá diferencia en cuanto a la lipoperoxidación, ni alteración en las características de motilidad, anormalidades y daño acrosomal en dosis de semen preparadas con dos diluyentes comerciales de larga duración.

#### **3.2 Localización**

El trabajo de campo se realizó en una granja porcina de ciclo completo en dos sitios con 200 hembras, ubicada en la localidad de Axapusco en el municipio del mismo nombre en el Estado de México. En esta granja se emplea IA en el 100% de los casos y tiene cuatro sementales de los que se obtienen las dosis.

#### **3.3 Animales experimentales**

Para el experimento se emplearon cuatro verracos con las siguientes características:

- Semental de 14 meses, de la línea Body de la empresa genética Hypor (1).
- Semental de 18 meses de raza Landrace proveniente de una granja productora de pie de cría denominada Gena (2).
- Semental de 18 meses híbrido de Duroc-Pietrain proveniente de una granja productora de pie de cría denominada Gena (3).
- Semental de 36 meses de raza Duroc obtenido en la misma granja como autoreemplazo (4).

#### **3.4 Procedimiento experimental**

Cada semana se colectaron los 4 cerdos antes citados y a partir de cada eyaculado se realizó la evaluación del semen por espermatobioscopia, y se procedió a diluirlo (a 4 mil millones/dosis) con dos diluyentes; el primero es GEDIL 50 G (GENES DIFFUSION IMV) (Diluyente A) y VITASEM LD (MAGAPOR S.L.) (Diluyente B). De cada eyaculado se emplearon dos dosis diluidas con el diluyente A y dos con el diluyente B. Todas las dosis serán mantenidas en una cámara térmica a una temperatura de 17 °C.

Cada dosis se evaluará para el porcentaje de motilidad, anormalidades y daño acrosomal a los ocho días de preparadas. Este procedimiento se repetirá por seis semanas.

Para la evaluación de la lipoperoxidación se empleó la prueba de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acuerdo al procedimiento descrito por Ohkawa y colaboradores (1979). En este, alícuotas de 100  $\mu$ l se tomaron por duplicado de cada muestra y se les añadió 1ml de una solución acuosa de ácido tiobarbiturico al 0.8% y 2ml de HCl al 20% ajustando a pH 2.5. Las muestras se mantuvieron en ebullición 60 min y se enfriaron en hielo durante 5 min. Posteriormente se les agregó 5 ml de n-butanol y se agitaron vigorosamente para luego centrifugarse 10 min a 4000 rpm. Los sobrenadantes se leyeron a 532nm para obtener las absorbancias. Los cálculos se hicieron con base a curvas patrón usando diferentes concentraciones (10-80  $\mu$ M) de malondialdehído (MDA), obtenido a partir de la hidrólisis ácida de 1,1,3,3- tetraetoxipropano (Gutteridge 1975). Los resultados se reportan en nmol/mg de proteína. En cada una de estas pruebas se llevó a cabo una repetición.

### 3.5 Variables a evaluar

Se obtuvieron los porcentajes de motilidad (M), daño acrosomal (DA) y de anormalidades (A). Para la prueba de TBARS se midió el grado de absorbancia, en nmol/mg de proteína.

### 3.6 Análisis estadístico

Para las variables antes citadas se realizó una prueba t de Student para establecer la diferencia entre diluyentes. Se realizó un bloqueo por macho y semana de evaluación.

## **4. RESULTADOS**

Los resultados obtenidos para el diluyente a los 8 días después de la colecta y preparación de las dosis seminales para la motilidad indica que no hubo diferencia significativa ( $P > 0.05$ ), al igual que para la prueba de Tbars, anormalidades y daño acrosomal (Tabla 1).

**Cuadro 1. Promedios y desviaciones estándar por tipo de diluyente (DA/DB) a los ocho días de conservación.**

Variable	DA	DB	P
	Media	Media	
Motilidad (%)	71.25±9.23	68.95±11.51	0.450
Anormalidades (%)	23.37±12.61	21.41±11.04	0.569
Daño Acrosomal (%)	0.25±0.53	0.25±0.67	0.100
Lipoperoxidación (nmol MDA/mg)	0.891±0.07	0.873±0.09	0.455

En cuanto a los resultados obtenidos para las variables por cerdo a los 8 días después de la colecta y preparación de las dosis seminales, se observa que para la motilidad, la prueba de Tbars y anormalidades no hubo una diferencia significativa ( $P > 0.05$ ), pero para el daño acrosomal se observó una diferencia ( $P < 0.05$ ) entre el macho 1 y el 4 (Tabla 2).

**Cuadro 2. Promedios y desviaciones estándar por semental a los ocho días de conservación.**

Variable	1	2	3	4	P
	Media	Media	Media	Media	
Motilidad (%)	70.41±10.96	72.5±8.66	67.08±8.38	70.41±13.39	0.6563
Anormalidades (%)	15.66±10.04	24±12.03	21.41±9.56	28.5±12.66	0.053
Daño Acrosomal (%)	0	0.16	0.16	0.66	0.0344
Lipoperoxidación (nmol MDA/mg)	0.885±0.874	0.901±0.069	0.858±0.066	0.885±0.107	0.653

Inicialmente se tomaron a cada uno de los cerdos utilizados en el experimento las variables de volumen, motilidad, concentración y temperatura de semen, en los que se observa que hubo una diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) para las variables de volumen y motilidad; para las variables de concentración y temperatura del semen no hubo diferencias significativas ( $P > 0.05$ ). (Tabla 3).

**Cuadro 3. Promedios y desviación estándar por semental al inicio de la prueba**

Variable	1	2	3	4	
	Media	Media	Media	Media	<i>P</i>
Volumen (ml)	295±23.15	166.66±13.02	226.66±50.69	191.66±19.46	0.0001
Motilidad (%)	89.16±1.94	82.5±2.61	80.83±1.94	81.66±3.89	0.0001
Concentración	8.56±8.39	5.57±4.86	6.36±6.25	9.64±9.94	0.5334
T° de semen	36.83±0.24	36.83±0.24	36.83±0.24	37.16±0.24	0.699

Cabe hacer mencionar que también se obtuvieron las variables de cada semana y repetición en donde no hubo algún efecto. ( $P \geq 0.05$ ).

## 5. DISCUSIÓN

La motilidad es uno de los parámetros más importantes para la evaluación de las dosis seminales porque el movimiento de los espermatozoides indica actividad metabólica, la integridad de las membranas, y también es importante para la fertilización ( Kaeoket *et. al.* 2010)

Los resultados que se obtuvieron en cuanto a la espermatobioscopía no fueron tan diferentes de los que se han publicado; Kaeoket *et. al.* indican en su estudio que sobre el día 8 el porcentaje de motilidad espermática, para el diluyente Vitasem LD estuvo en una media de 69.0 % y DS de  $\pm 12.4$  en comparación con este estudio.

En el estudio para el daño acrosomal se obtuvo (0,25%), mientras que otros autores hallaron entre 1 – 5% de acrosomas anormales (Serrano *et. al.*, 1996; Rueda *et. al.*, 2006).

Los valores promedio de anomalías espermáticas en el semen fresco de verracos normales, tienen variaciones debidas a numerosas causas que caracterizan cada tipo de producción en esta especie (Rozeboom, 2004). El porcentaje de anomalías varía, aproximadamente entre el 7 y 30 % (Serrano *et al.*, 1996; Crabo, 1997; Flowers, 1998; Rueda *et al.*, 2006), con un límite de 30% (Rozeboom, 2004) y un promedio de 17 % (Martín Rillo, 1982; Gibson, 1983; Torretta *et. al.* 2010).

Como se puede observar no existe una diferencia significativa para ninguna de las variables que se obtuvieron para los dos diluyentes en lo que se refiere a la motilidad, anomalías y daño acrosomal.

Con respecto a la prueba de Tbars después de ocho días de conservación de las dosis seminales, cabe hacer mencionar que la función de los diluyentes es aportar los nutrientes necesarios para el mantenimiento metabólico de la célula espermática (glucosa), la protección frente al shock térmico por frío (BSA), controlar el pH del medio (Bicarbonato, TRIS, HEPES), la presión osmótica (sales NaCL, KCl) y la inhibición del desarrollo microbiano (antibióticos) (Gadea, 2005).

También se puede observar que la motilidad que tenemos en la tabla 3 que fue al tomar la dosis de semen y hacer la espermatobioscopía es mayor que cuando se tomó en el diluyente a los ocho días como se muestra en la tabla 1, las peculiares particularidades que presenta el espermatozoide porcino hace que sea muy sensible al shock por frío (Pursel *et al.*, 1973), que produce una alteración de la viabilidad espermática. En concreto la composición lipídica de sus membranas parece ser la responsable de esta situación. Así, cuando se reduce la temperatura los movimientos laterales de los fosfolípidos que componen la membrana se ven reducidos y se producen separaciones de fases lipídicas, situación asociada a alteraciones irreversibles de las proteínas de las membranas. Todo hace que se altere la funcionalidad de la membrana espermática y la viabilidad celular se vea comprometida (revisado por White, 1993). Esta susceptibilidad al choque por frío, supone en la práctica que las muestras seminales deban ser conservadas a 15-20°C, ya que una

reducción en la temperatura de almacenamiento limita la viabilidad de las muestras seminales (Paulenz *et al.*, 2000; Gadea, 2005) por lo cual se puede observar que a pesar de mantener las dosis a 17°C y al hacer la prueba de tbars se detecta que existe una lipoperoxidación en las dosis seminales a los ocho días de conservadas.

En la tabla 2 se observa que no hubo diferencias entre los sementales y sus dosis a los 8 días solo para el daño acrosomal, esto se puede explicar al recordar que el acrosoma es una de las estructuras más susceptibles en el espermatozoide a sufrir daño; después de diluido el semen factores como el estrés térmico, el periodo de conservación y el efecto del diluyente, en dependencia de los reactivos que formen parte de él, pueden representar factores altamente negativos para el acrosoma ( Torretta *et. al.* 2010)

En la patología de daño acrosomal y anormalidades, se encontró variabilidad estadísticamente significativa entre verracos (factor aleatorio). En concordancia con Mazzarri y Fuentes (1978) y Fuentes *et. al.*, (1989), quienes observaron un amplio rango entre las características espermáticas, debido a las grandes variaciones individuales por efectos de factores intrínsecos (raza y edad) y extrínsecos (clima y manejo) (Torretta *et. al.* 2010).

La variabilidad encontrada entre sementales debido a la edad y raza de cada uno de ellos en los que vemos que la motilidad y volumen del eyaculado es evidente que el semental 1 es diferente a los demás, esto debido a que proviene de una casa genética especializada en producir sementales de alta calidad y es el más joven de todos, en comparación a los demás verracos como 2 que proviene de la misma granja y el 3 y 4 que son de otra granja. Levis (2000) sugiere que se revisen diversos aspectos no bien estudiados de la inseminación artificial, tales como las diferencias individuales, ya que no todos los machos interactúan de igual manera con los medios utilizados (Weitze, 1990), así como se han encontrado interacciones raza-diluyente (Richter y Claus, 1990).

## 6. CONCLUSIONES

Las conclusiones a las que se llegaron fue que ambos diluyentes pueden ser utilizados hasta ocho días después de ser preparadas las dosis seminales como lo recomiendan los fabricantes, ya que tuvieron resultados aceptables y no hubo diferencia entre ambos diluyentes después de este tiempo. La prueba de Tbars es una prueba de laboratorio complementaria que puede ser utilizada para identificar la lipoperoxidación que existe en las dosis seminales y poder determinar si hay daño celular.

## **7. BIBLIOGRAFÍA**



- BENZIE I Y J STRAIN. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *MethodsEnzymol* 299, 15-27.
- BUXADE, C (1996) Zootecnia bases de producción animal, tomo VI. Ed. Mundiprensa, España.
- CÓRDOVA, A., Ruiz, C., Córdova, C., Córdova,M., Guerra,J., Rodríguez,B., Arancibia,K. (2009). Estrés oxidativo y antioxidantes en la conservación espermática.*Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 2009 3(1): 01-38.
- CHIHUAILAF, R., Contreras, P., Wittwer F., (2002). Patogenesis del estres oxidativo: Consecuencias y evaluación en salud animal. *Revista Veterinaria México.*, 33 (3) 2002.
- GADEA J., SELLÉS E., TOMÁS P., RUIZ S., 2001. El valor del análisis seminal porcino en las condiciones de explotación comercial. *ITEA* 22, 829-831.
- GADEA, J. (2005) Los diluyentes de inseminación artificial porcina.*SpanishJournal of AgriculturalResearch* 1: 17-27
- GORDON, I. (1997) Reproducción controlada del cerdo. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza (España).
- GUTTERIDGE J. (1975) The use of standards for malonyldialdehyde.*Anal Biochem* 69, 518-526.
- HERNÁNDEZ , J. (2009). Evaluación de un nuevo diluyente para semen porcino*REDVET* Revista electrónica de Veterinaria, Vol. 10, Núm. 4, abril-sin mes, 2009, pp. 1-11 Veterinaria Organización, España.
- KAEOKET, K., Srisowanna, T., Wichaidit, U.,Chanapiwat, P.,Manee-in, S. Comparative Study on Six Different Long Term Commercial Extenders for Fresh Boar Semen*Thai J. Vet. Med.* 2010.40(3): 257-263.
- KIRSCHVINK, N.,Moffarts,B.,Lekeux,P. (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses.*TheVeterinaryJournal* 177 (2008) 178–191.
- MEDRANO A. (2005) Estudio del metabolismo energético de los espermatozoides porcinos y su repercusión en el diseño de diluyentes optimizados para la conservación de semen refrigerado, Universidad Autónoma de Barcelona Bellaterra.
- MOLLA, E. (2004) Freezing procedure produces a reduction in the human spermatozoa glutathione content. *J. Andrology.*25 (suppl.) 45. Abstr.

- NORDBERG, J., Arnóer, E. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. Free Radical Biology & Medicine, Vol. 31, No. 11, pp. 1287–1312.
- OHKAWA H, N OHISHI, K YAGI. (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 95, 351-358.
- SELLÉS, E. (2008) Evaluación de la capacidad fecundante de espermatozoides porcinos refrigerados y congelados. Tesis doctoral. Universidad de Murcia, España.
- TORRETTA, M., Rabaglino, M., Ferrero, S. (2010). Caracterización cuali-cuantitativa de patologías espermáticas estudio comparativo de la incidencia de anormalidades espermáticas en semen porcino fresco y refrigerado. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, vol. 11, núm. 12, diciembre, 2010, pp. 1-20 Veterinaria Organización Málaga, España.