

Efecto de la Oxitocina y las Prostaglandina F2 alfa (PGF2 α) en la Calidad Seminal de Cerdos en
el Trópico Bajo de Colombia

Jessica Andrea Ascanio Figueroa

Universidad de Pamplona
Facultad de Ciencias Agrarias
Programa de Zootecnia
San José de Cúcuta
2020

Efecto de la Oxitocina y las Prostaglandina F2 alfa (PGF2 α) en la Calidad Seminal de Cerdos en
el Trópico Bajo de Colombia

Jessica Andrea Ascanio Figueroa

Proyecto de investigación presentado como requisito para obtener el título de
Zootecnista

Director

CARLOS MARIO DUQUE CAÑAS

MVZ; Esp; MSc; PhD(c)

Profesor Asociado

Universidad de Pamplona

Facultad de Ciencias Agrarias

Programa de Zootecnia

San José de Cúcuta

2020

Agradecimientos

Agradecerle de manera especial al Dr. Carlos Mario Cañas, director del trabajo de grado, por esa confianza puesta en mí desde el primer día, guiándome siempre en mi estudio.

Al Dr. Leonardo Hernández médico veterinario de la empresa AnimalPro fue un guía en este proceso, aportando cada detalle de sus estudios y su gran experiencia.

Albeiro Silva Torres técnico de la empresa AnimalPro, su propietario German Alfonso Duarte Vargas que facilitaron el acceso y manejo de los reproductores para esta investigación.

Agradecerle a todos aquellos que estuvieron conmigo en este proceso, dándome apoyo para no decaer y seguir luchando con el sueño de terminar mi proyecto de investigación.

A la Universidad de Pamplona por la oportunidad que me brindó para poder superarme como profesional.

Dedicatoria

A Dios por bendecirme y darme siempre fuerza y sabiduría para poder seguir adelante y no dejarme decaer ante los acontecimientos presentes en este largo camino de superación.

A mi familia que siempre ha sido un apoyo y guía incondicional para lograr un triunfo más en mi vida de obtener un título profesional.

A mi hermano por su paciencia, ayuda y acompañamiento en el proceso de terminación de mi trabajo.

A un ser muy especial en mi vida que en el día de hoy no se encuentra conmigo, pero ha sido mi fuente de inspiración.

A José Miguel Álvarez por ser esa persona incondicional en mi vida, por brindarme su amor, paciencia y apoyo a no decaer y seguir luchando por mis deseos y anhelos.

Contenido

	pág.
Resumen	12
Introducción	14
Capítulo 1: El Problema	15
1.1 Planteamiento del Problema	15
1.2 Formulación del Problema	15
1.3 Objetivos	15
1.3.1 Objetivo general	15
1.3.2 Objetivos específicos	15
1.4 Justificación	16
1.5 Hipótesis	17
1.5.1 Hipótesis alternativa (H_a)	17
1.5.2 Hipótesis nula (H_o)	17
1.6 Delimitaciones	17
1.6.1 Delimitación espacial	17
Capítulo II: Marco Referencial	18
2.1 Antecedentes	18
2.1.1 Antecedentes bibliográficos internacionales	18
2.2 Marco Teórico	22
2.2.1 Función de la Oxitocina	22
2.2.2 Prostaglandina	23
2.2.3 Generalidades de la especie porcina	24

2.2.4 Clasificación taxonómica	25
2.2.5 Selección del verraco	26
2.2.6 ¿Qué es un verraco?	27
2.2.7 Anatomía y fisiología del aparato reproductor del cerdo	27
2.2.8 Espermatogénesis	29
2.2.9 Evaluación de la aptitud reproductiva del macho	30
2.2.10 Colecta de semen	30
2.2.11 Examen clínico	30
2.2.12 Evaluación del examen fresco	31
2.2.13 Volumen	31
2.2.14 Concentración espermática	31
2.2.15 Vitalidad	32
2.2.16 Prueba hipoosmótica (HOST)	32
2.3 Marco Contextual	32
2.4 Marco Legal	33
2.4.1 Constitución Política de Colombia de 1991	33
2.4.2 Resolución 020033	33
2.4.3 Resolución 00 3650	33
2.4.4 Decreto 1648 del 2015	33
2.4.5 CONPES 3458 del 2007	33
Capítulo III: Metodología	34
3.1 Tipo de Investigación	34
3.2 Población y Muestra	34

3.3 Fase de Investigación	36
3.3.1 Ubicación del proyecto de investigación	36
3.4 Materiales y equipos	36
3.4.1 Materiales	36
3.4.2 Equipos	36
3.5 Factores de Estudio	37
3.6 Diseño del Proyecto	37
3.6.1 Extracción, colección y evaluación espermática	37
3.6.2 Análisis de laboratorio	39
3.6.2.1 Características Macroscópicas (Volumen, Concentración espermática)	39
3.6.2.1.1 Análisis del volumen espermático	39
3.6.2.1.2 Análisis de concentración espermática	40
3.6.3 Características microscópicas	41
3.6.3.1 Análisis de vitalidad espermática	41
3.6.3.2 Análisis de hinchazón hipoosmótica (HOST)	42
3.7 Metodología Estadística	43
Capítulo IV: Resultados	44
4.1 Volumen	45
4.2 Concentración Espermática	46
4.3 Vitalidad Espermática	47
4.4 Test Hipoosmótico (HOST)	48
Capítulo V: Discusión	50

Conclusiones	53
Recomendaciones	55
Referencias Bibliografía	56
Anexos	64

Lista de Tablas

	pág.
Tabla 1. Clasificación taxonómica	25
Tabla 2. Semana de recolección eyaculatoria de los tratamientos (T0=NaCl, T1=Oxitocina, T2=PGF2 α) en los machos	37
Tabla 3. Efecto de los Tratamientos sobre el Volumen, Concentración Espermática, Vitalidad y Test de Resistencia Hipoosmótica (HOST)	44
Tabla 4. Resultados promedios del volumen eyaculado (mL) de cada macho por tratamiento (NaCl, Oxitocina, PGF2 α)	45
Tabla 5. Resultados promedios en la concentración espermática (millones de SPZ/mL) de cada macho por tratamiento (NaCl, Oxitocina, PGF2 α)	46
Tabla 6. Resultados promedios en vitalidad espermática (%) de cada macho por tratamiento (NaCl, Oxitocina, PGF2 α)	47
Tabla 7. Resultados promedios en tes de resistencia hipoosmótica (%) de cada macho por tratamiento (NaCl, Oxitocina, PGF2 α)	49

Lista de Figuras

	pág.
Figura 1. Anatomía y fisiología del aparato reproductivo del verraco	27
Figura 2. Anatomía genital del cerdo y sus partes.	28
Figura 3. Instalaciones adecuadas de cada verraco	35
Figura 4. Táctica colecta de semen	39
Figura 5. Medida del Volumen en Semen Fresco	40
Figura 6. Medida de la Concentración Espermática en el Espectrofotómetro	41
Figura 7. Evaluación de vitalidad espermática (vivos y muertos)	42
Figura 8. Modelo de Host, Cola Risada	43
Figura 9. Efecto de los Tratamientos (NaCl, Oxitocina y PGF2 α) sobre el Volumen del Eyaculado en (mL) de los machos A y B	45
Figura 10. Efecto de los Tratamientos (NaCl, Oxitocina y PGF2 α) sobre la Concentración Espermática (millones de SPZ / mL) en los Machos A y B	46
Figura 11. Efecto de los Tratamientos (NaCl, Oxitocina y PGF2 α) sobre la Vitalidad Espermática (%) en los Machos A y B	47
Figura 12. Efecto de los Tratamientos (NaCl, Oxitocina y PGF2 α) sobre la Membrana Intacta en Espermatozoides (%) en los Machos A y B	48

Lista de Anexos

	pág.
Anexo A. Lugar de trabajo para la realización de la investigación	64
Anexo B. Verracos estudiados en la investigación	65
Anexo C. Equipos utilizados en la investigación	66
Anexo D. Materiales utilizados en la investigación	67
Anexo E. Uso de suero fisiológico y ampollas Oxitocina, Prostaglandina F2 Alfa	68
Anexo F. Muestra de colecta y evaluación espermática	69
Anexo G. Conteo microscópico de Vitalidad y HOST	70
Anexo H. Evaluación de membrana intacta (Test hipoosmótica HOST)	71

Resumen

El objetivo del estudio fue evaluar los efectos de la Oxitocina y Prostaglandina F2 alfa (PGF2 α) sobre la calidad seminal en cerdos machos. Para investigar el papel de estas hormonas se recolectaron muestras de semen a 2 verracos de las razas Maximus y Pietrian de 14 y 16 meses de edad con la técnica de mano enguantada dos veces por semana y tres repeticiones por cada tratamiento en la finca AnimalPro ubicada en el corregimiento de Urimaco en el municipio El Zulia, departamento Norte de Santander. Los machos se asignaron al azar a tres oportunidades; se les tomaron tres muestras. Como grupo de control se le aplicaron 1mL de suero fisiológico (NaCl) vía IM mientras que a los dos siguientes tratamientos seminales se le administraron (T1): 20 U.I (2mL) de oxitocina sintética vecol (10 U.I.) vía IM, 10min antes de cada recolecta y (T2): 5mg (0,07mL) de PGF2 α Prostal® de DL-Cloprostenol vía IM, 20min antes de cada recolecta. Se recolectaron 18 eyaculados entre los dos machos reproductores; cada recolecta se analizó a través del microscopio (A. KRÜSS OPTRPNIC GERMANY), fotospectrómetro y eosina-nigrosina donde se calcularon las variables respectivas: Volumen (Vo), Concentración Espermática (CE), Vitalidad (V), Membrana Intacta (MI). Los datos obtenidos fueron analizados mediante pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza y se reportaron en error estándar. En Vo se encontraron similitudes ($P \geq 0,05$), pero a diferencia de los tratamientos con NaCl y PGF2 α , la Oxitocina obtuvo mayor volumen de eyaculado. En CE se encontraron diferencias estadísticas ($P \leq 0,01$) en los machos A y B con el uso de los tratamientos de oxitocina y PGF2 α , a diferencia del tratamiento de control NaCl. Para V y MI los valores son similares a los diferentes tratamientos ($P \geq 0,05$). Aunque se hayan encontrado algunas diferencias estadísticas con relación a los tratamientos utilizados, los valores de calidad seminal con la Oxitocina no se ven afectados en comparación a concentración y brindan viabilidad para su uso y

pueden ser considerados una alternativa en verracos con problemas de bajo volumen espermático.

Palabras claves: Semen, porcino, calidad seminal, Oxitocina, PGF2 α .

Introducción

La Oxitocina exógena ha sido conocida como una hormona sexual femenina de estructura peptídica, que cumple funciones en la lactancia, el parto, la contracción del músculo liso y la excitación sexual. Sin embargo, es necesario explicar el papel que emplea la Oxitocina en la fisiología en verracos a la hora de ser implementada en programas reproductivos (Gruson D *et al.*, 2018; Veening JG, De Jong TR, Waldinger MD, Korte SM, Olivier B, 2015).

La PGF2 α es utilizada mayormente para sincronizar hembras, es un compuesto lipídico fisiológicamente activo que se secreta en varios tejidos. Por lo tanto, se ha demostrado que al administrar esta hormona antes de la recolección de semen ha conducido un aumento en la producción de espermatozoides en otras especies (Ibrahim MA *et al.*, 1988; Hess MB *et al.*, 2002; Şen ÇÇ, Akcay *et al.*, 2015).

Según (Guldenaar y Pickering, 1985; Weindl *et al.*, 1986; Ungefroren *et al.*, 1994; Kulkarni *et al.*, 1992; Einspanier y Ivell, 1997), el libido es un comportamiento de deseo sexual de gran importancia en la reproducción del macho. Por lo tanto, se han venido haciendo estudios en Norte América, Europa, y Medio Oriente con roedores, caballos, búfalos, cabros, perros, toros; donde han implementado la aplicación de hormonas Oxitocina y PGF2 α como alternativa para evaluar comportamientos del deseo sexual, concentración espermática, motilidad, vitalidad, volumen. En Colombia son muy escasas las investigaciones que existen sobre el tema.

Capítulo 1: El Problema

1.1 Planteamiento del Problema

La implementación de una genética y la fertilidad en verracos, es un factor importante a la hora de obtener una gran cantidad de preñeces, partos y buenas camadas de lechones. Tanto así, que es necesario la realización del examen andrológico para conocer cuál es la calidad espermática que presenta los machos cuando son usados en programas de monta natural o inseminación artificial (IA) (Gordon, 1997; Cockcroft, 2007; Bascuas et al., 2010).

Sin embargo, en ciertas partes de Colombia como en el departamento Norte de Santander, no se han reportado trabajos de investigación empleando Oxitocina y $\text{PGF2}\alpha$ como alternativa para mejorar la calidad espermática en machos reproductores y así hacerles conocer e incentivar a productores de la región, que no solo estas hormonas son utilizadas en hembras sino también en machos como una gran opción para optimizar animales que son considerados de descarte, trayendo como resultado pérdidas no calculadas dentro de la producción (Lossada, 2013). De aquí surge la motivación de evaluar los efectos de la Oxitocina y la $\text{PGF2}\alpha$ en cerdos machos como elección para optimar alguno de los problemas mencionados anteriormente.

1.2 Formulación del Problema

¿La aplicación de Oxitocina y Prostaglandina f2 alfa ($\text{PGF2}\alpha$) permite mejorar las características seminales en verracos?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general. Evaluar los efectos de la Oxitocina y la $\text{PGF2}\alpha$ en calidad seminal de cerdos en el trópico bajo de Colombia.

1.3.2 Objetivos específicos. Evaluar el volumen espermático en reproductores porcinos tratados con Oxitocina y $\text{PGF2}\alpha$ en el trópico bajo en Colombia.

Evaluar la concentración espermática en cerdos tratados con Oxitocina y PGF2 α en el trópico bajo de Colombia.

Comparar la vitalidad espermática en cerdos tratados con Oxitocina y PGF2 α en el trópico bajo en Colombia.

Describir el efecto de la Oxitocina y la PGF2 α inyectada en forma parental en la funcionalidad de la membrana espermática en porcinos en el trópico bajo en Colombia.

1.4 Justificación

El manejo de nuevas biotecnologías como alternativas reproductivas cada día tiene mayor importancia a la hora de mejorar la calidad, la productividad espermática y la libido en explotaciones porcinas para brindar un alto rendimiento económico al productor (Carpio, 2018). Esto ha hecho que sea necesario la implementación de prácticas reproductivas, como una opción para evaluar los efectos en la aplicación de Oxitocina y Prostaglandina F2 α en verracos.

En las últimas décadas, se introdujeron hormonas específicas (Oxitocina, prostaglandinas, testosterona y GnRH) para aumentar la producción de espermatozoides y el atributo de las deficiencias reproductivas relacionadas con los machos. Las prácticas con mayor notabilidad están basadas en tasaciones como la motilidad, vitalidad, morfología espermática que solo se observaron por medio del microscopio. Este conocimiento se debería utilizar en la explotación porcina de la región con la meta de mejorar la calidad de su producción (Van Der Horst & Maree, 2009).

La aplicación de hormonas, Oxitocina y PGF2 α en machos no se ha trabajado aun en nuestro país con mayor ahínco. Normalmente el uso de hormonas se emplea en hembras que son utilizadas en actividades reproductivas. De esta manera si se obtienen buenos resultados sería

una gran alternativa para los productores implementarla y mejorar problemas reproductivos y su estado económico.

En la investigación que se realizó se planeó evaluar los efectos de la Oxitocina y PGF2 α en la calidad seminal como, la concentración espermática, volumen, vitalidad y funcionalidad de la membrana espermática.

1.5 Hipótesis

1.5.1 Hipótesis alternativa (Ha). La utilización de hormonas oxitocina y Prostaglandina F2 alfa (PGF2 α) para evaluar la calidad seminal, mejora los parámetros como volumen, concentración espermática, vitalidad y membrana espermática en comparación al método habitual.

1.5.2 Hipótesis nula (Ho). La utilización de hormonas exógenas Oxitocina y Prostaglandina F2 alfa (PGF2 α) para evaluar la calidad seminal en los machos, no mejora los parámetros como volumen, concentración espermática, vitalidad y membrana espermática en comparación al método habitual.

1.6 Delimitaciones

1.6.1 Delimitación espacial. El actual informe, se realizó en la finca AnimalPro, municipio de El Zulia en el departamento Norte de Santander, que cuenta con una producción de cerdos de las razas con cruce de maximus y Pietrain. La producción se encuentra ubicada a 243 msnm y una temperatura promedio de 32°C. Dicho estudio se realizó en un tiempo de 1 meses donde se utilizaron dos hormonas sintéticas como la Oxitocina y PGF2 α inyectada vía IM, recolecta seminal, evaluando parámetros de volumen espermático, concentración espermática y membrana intacta.

Capítulo II: Marco Referencial

2.1 Antecedentes

En el departamento de Norte de Santander, la información que se encuentra es poca, donde se evalúe los efectos de la aplicación de hormonas como la Oxitocina y PGF2 α en verracos. Sin embargo, a nivel internacional si se encuentran fuentes de información científicas relacionadas con el tema.

2.1.1 Antecedentes bibliográficos internacionales. Çebi, Tekin, Çil y Akcay (2015) realizaron una investigación para las Universidades de Harran y Ankara, con el objetivo de evaluar los efectos que tiene la Oxitocina exógena y PGF2 α sobre la calidad seminal y la libido sexual en machos. En este sentido, para llevar a cabo la investigación relacionada con el papel que tienen tales hormonas con el proceso de fertilidad masculina, se llevó a cabo la recolección de muestras de semen en este caso de 20 machos Norduz con edades comprendidas entre los 3 a 4 años de edad, con una vagina artificial dos veces por semana con aproximadamente cinco repeticiones durante la temporada de reproducción, asignándose al azar a 5 grupos respectivamente, en el caso puntual del grupo control se les administró 2 ml de cloruro de sodio, 0,9% (p / v)) i.m., mientras que a todos los grupos experimentales se les administró Oxitocina 10 UI, i.v. (Grupo 1, n = 5), Oxitocina 20 UI, i.v. (Grupo 2, n = 5), PgF2 α 5 mg, i.m. (Grupo 3, n = 5) o PgF2 α 10 mg, i.m. (Grupo 4, n = 5) 20 min., antes de cada recolección de semen. Posterior a esto, se demostró que *no existió ninguna diferencia estadística entre los grupos de tratamiento en términos de motilidad (P> 0.05) (p.3)*, a pesar de ello, se puede señalar que el tanto el volumen de semen, como la concentración, la tasa de espermatozoides anormales, la tasa de membrana intacta y asimismo los resultados de la libido reflejaron ser estadísticamente significativos entre los diversos grupos (P <0.05)

Asimismo, Çebi y otros (2015) señalan que, como consecuencia, la oportuna administración de 20 UI de Oxitocina en un lapso de tiempo que oscilo en veinte minutos antes de la recolección de semen en machos no logró mejorías en la calidad general del semen, pero a pesar de esto la libido si aumentó, así como el volumen de semen y las concentraciones de esperma (p. 12).

Finalmente, Çebi y otros (ob. cit.) Refieren que a diferencia de la Oxitocina, se puede referir que la administración de PGF2 α ha generado una leve deducción de la libido y ha generado diversos efectos que son moderados sobre calidad del semen. Lo anterior ha demostrado que numerosas sustancias farmacológicas mejoran el rendimiento reproductivo masculino en muchas especies (p. 17).

Esta investigación aporta al presente estudio la evidencia de que la aplicación de Oxitocina en machos Norduz, bajo ciertos parámetros, mejora el rendimiento y la calidad del semen en dicha especie en cuanto al volumen, la concentración espermática, la tasa de membrana intacta tes hipoosmótica (HOST). Así mismo, la administración de PGF2 α generó una leve disminución de la libido lo que pudiera afectar el comportamiento sexual para su proceso de reproducción.

Por su parte, Palmer, Amundson, Brito, Waldner y Barth (2003) llevaron a cabo una investigación titulada *Uso de Oxitocina y Cloprostenol para facilitar recogida de semen por Electro Eyaculación (EE) o Masaje Transrectal (MT) en toros*, para ello se llevó a cabo la ejecución de dos experimentos con un total de 24 toros en los que se buscó lograr la recolección de semen mediante el empleo de masaje rectal (RM) y el uso de electro eyaculado (EE)(p. 2).

Seguidamente, Palmer y otros (2003) exponen que en lo que se refiere al **primer experimento (1)** los toros recibieron el siguiente tratamiento en días sucesivos de recolección de semen: al grupo control se le administro tratamiento con solución salina 10 min antes del electro eyaculación (control). Luego solución salina 10 min antes de 2 min de masaje transrectal seguido

de electro eyaculación. Posteriormente, se aplicó cloprostenol (CLO) 10 min antes de 2 min de masaje transrectal, seguido de electro eyaculación. Finalmente, se aplicó Oxitocina (OXY) 10 min antes de 2 min de masaje, transrectal seguido de electro eyaculación. El Masaje transrectal consistió en un movimiento general hacia adelante y hacia atrás sobre la ampolla, la próstata y la uretra con un aplanado mano. (p. 88)

En el **segundo experimento (2)** todos los toros recibieron solución salina (control), Oxitocina o cloprostenol 10 minutos antes de intentar recogida de semen por masaje transrectal, aplicándose este masaje específicamente a la ampolla para un máximo de 5 minutos o hasta lograr alcanzar una muestra de semen. Además de esto se intentó electro eyaculación a cada uno de los toros seguido del masaje transrectal (p. 90).

Finalmente, los resultados evidenciaron que durante el experimento 1 se obtuvo semen en <1% de los toros por medio del uso de RM. Ahora bien, durante **el experimento 2** se logró obtener semen en el 97,2% de los intentos por la utilización de una técnica de masaje mejorada en los toros. El semen se obtuvo en 96,9 y 98,9% de los intentos por electro eyaculación en los experimentos 1 y 2, respectivamente (p. 93). Concluyéndose que, el masaje transrectal general, con pretratamientos OXY y CLO como se usa en experimento 1 parecen ser métodos ineficaces para reducir la cantidad de estimulación EE requerida para producir emisión de semen. En cuanto al volumen los resultados de este estudio en toros, muestran que tratamiento con Oxitocina antes de la recolección de semen, resultó en una mayor producción de esperma. Respecto a la concentración, No se encontraron diferencias significativas en la concentración de esperma ni para el tratamiento ni para el método de recolección de semen ($P > 0.05$) en comparación con el grupo de control. (Palmer y otros, 2003).

En cuanto al uso de cloprostenol en el experimento 1, no tuvo ningún efecto sobre la motilidad de los espermatozoides, el porcentaje de espermatozoides vivos o la concentración de espermatozoides. En el experimento 2, el uso de cloprostenol no puede aumentar la producción de esperma más allá de lo que ya se está produciendo. Palmer y otros (2003) recomiendan continuar con la investigación.

En tal sentido, para este estudio en los cerdos, sería preferible la aplicación de la Oxitocina y algún componente equivalente a cloprostenol, pudiendo sustituirse por la administración de PGF2 α .

En otro orden de ideas, Savić y Petrović (2019) ejecutaron un estudio titulado *Variabilidad en la tasa de eyaculación y la libido de los verracos durante la explotación reproductiva*, siendo el objetivo general del mismo la evaluación de la variabilidad en la tasa de eyaculación y la libido de los verracos bajo diversas influencias genéticas y no genéticas. Se recogieron un total de 7171 muestras de semen de verracos suecos Landrace, Large White y Duroc criados en condiciones de producción comercial (p. 5).

Seguidamente, estos autores refirieron que el tiempo dedicado a la preparación o recolección, constituyó el período desde la entrada de los verracos a la sala de recolección de semen hasta el inicio de la eyaculación. La tasa de eyaculación se definió como el volumen de esperma extraído (ml) por unidad de tiempo (min). El índice de libido del verraco se definió como la relación entre períodos productivos (duración de la eyaculación) e improductivos (tiempo dedicado a prepararse para recolectar / saltar). Los valores promedio del intervalo entre dos recolecciones, la edad del verraco en el momento de la recolección, el tiempo empleado en la preparación para la recolección, la duración de la eyaculación, el volumen de eyaculación, la tasa de eyaculación y el

índice de libido fueron: 8.83 días, 551.2 días, 3.56 min, 6.06 min, 231,9 mL/min, 37,67 mL/ min respectivamente.

En resumen, los rasgos de la eyaculación y la libido variaron según la raza, la temporada y el recolector, con la excepción de la variabilidad estacional de la duración de la eyaculación. El efecto generado de regresión del intervalo entre dos recolecciones de eyaculado y la edad del verraco en el momento de la recolección resultó ser no significativo estadísticamente, solo durante la preparación para la recolección. A diferencia de la tasa de eyaculación, durante los períodos de verano y otoño, los verracos mostraron una libido más débil que en invierno y primavera. Los verracos Duroc eran inferiores a las razas fértiles conocidos como Landrace sueca y Large White en términos de menor duración de la eyaculación, menor volumen, menor tasa de eyaculación y menor libido. Asimismo, la variabilidad de la tasa de eyaculación y de la libido del verraco logró indicar la necesidad de incluir dichos rasgos en los programas de cría y asimismo la posibilidad de mejorar estos rasgos.

Por tanto, este estudio aporta a la presente investigación la evidente necesidad de exploraciones más profundas respecto de la reproducción de este tipo de animales para evaluar la variabilidad del volumen, la concentración espermática y la tasa de membrana intacta (HOST).

2.2 Marco Teórico

2.2.1 Función de la Oxitocina. La Oxitocina (del griego ὀξύς oxys "rápido" y τόκος tokos "nacimiento") es una hormona nonapeptídica producida por el hipotálamo. Principalmente tiene como función inducir el parto, la eyección de la leche materna y la sexualidad. Sin embargo se ha demostrado que también se encuentra involucrada no solo en hembras sino también en el tracto reproductivo masculino (Wathes, 1989 & Helen D. Nicholson et al., 1996).

Así mismo, se ha establecido que la Oxitocina se encuentra presente en las glándulas accesorias principalmente en la próstata y el líquido seminal (Helen D. Nicholson et al., 1996).

No obstante, investigaciones realizadas han identificado que, en ratas, humanos, bovinos y tífes, la Oxitocina juega un papel importante en las células de Leydig de los testículos de dichas especies mencionadas anteriormente ((Guldenaar & Pickering, 1985; Weindl et al., 1986; Ungefroren et al., 1994; Kulkarni et al., 1992; Einspanier y Ivell, 1997)

2.2.2 Prostaglandina. Las prostaglandinas fueron descubiertas por Ulf von Euler de Suecia en la década de 1930 por primera vez en el plasma seminal de los mamíferos el cual pensaban que se encontraba en la glándula prostática. En la actualidad se cree que la prostaglandina tiene una distribución ubicua y son producidas por casi todos los tejidos (Estiene, 2014)

Químicamente son ácidos grasos polinsaturados de 20 átomos de carbono. Las prostaglandinas se clasifican en letras A, B, C, D, E y F. El número de dobles enlaces presentes en las cadenas laterales se catalogan con subíndices 1, 2 y 3. La letra alfa o beta indica la orientación espacial hidroxilo del átomo C-9 del anillo ciclopentano. Las prostaglandinas que son más utilizadas es la de estado natural E, el cual son dominadas principales y la $PGF_2\alpha$ que son de uso veterinario (Rodríguez, 2003).

Principalmente esta hormona la $PGF_2\alpha$ es utilizada en hembras de todas las especies con un papel en los procesos fisiológicos como la lactación, involución uterina y recuperación de la ciclicidad ovárica. Sin embargo, se ha venido investigando como alternativa la aplicación de la prostaglandina F2 alfa en machos para evaluar que efectos influyen en los parametros reproductivos y puede ser una herramienta util para acelerar el líbido. Se puede deducir que la prostaglandina participa en el proceso de la erección, eyaculación (Bygdeman M, 1981).

2.2.3 Generalidades de la especie porcina. La evolución del cerdo que actualmente conocemos viene del jabalí un animal salvaje que se pueden encontrar de dos tipos *Sus Scrofa* *Ferus* de origen europeo y *Sus Vittatus* originario de la india. Anteriormente hace 1000 a. c. un 70% de los jabalí la porción más importante era en sus miembros anteriores, cuyos cortes son de menos valor, pero al pasar de los años en el siglo XX se empezó a ver la domesticación y esta especie empezó a ser dócil y a vivir en sedentarismo en las poblaciones y piaras anteriormente dicho porquerizas. A finales del siglo XX se pudieron observar que gracias a mejoramientos genéticos el cerdo pasó de un 30% en miembros anteriores a un 70% en miembros posteriores, para así poder obtener jamones carnudos (Liliana M. Mejía).

Esta especie fue transportada en 1943 por Cristóbal Colon a Cuba donde se propagó por Colombia, Venezuela, Perú y Ecuador.

Hace 500 años llegaron a Colombia, las razas El Zungo, Sampedreño y Casco de mula tanto así que lograron adaptarse a nuestros trópicos altos y bajos. Debido a que en Colombia por la llegada de nuevas razas o genéticas han llevado a punto crítico, desde entonces agrosavia anteriormente llamado Corpoica ha estado encargada en la protección de estas especies.

En el año 2017 el ministerio de agricultura informa que la producción de carne aumentó en 4,18% con 371,36° toneladas. (Hernández & Urrego, 2019)

2.2.4 Clasificación taxonómica

Tabla 1. Clasificación taxonómica

<i>CLASIFICACION TAXANÓMICA</i>	
<i>Reino:</i>	<i>Animal</i>
<i>Subtipo:</i>	<i>Cordados</i>
<i>Clase:</i>	<i>Vertebrado</i>
<i>Orden:</i>	<i>Artiodactyla</i>
<i>Suborden:</i>	<i>Paradigitados o artiodáctilos(dedo en un numero par)</i>
<i>Familia:</i>	<i>Suinos</i>
<i>Género</i>	<i>Sus</i>
<i>Especie</i>	<i>Sus escrofa</i>

Fuente: Díaz, 2015.

Razas porcinas utilizadas en Colombia. Las razas de cerdos que se encuentran adaptados en Colombia son: Hampshire, Duroc, pietrain, Landrace, y Yorkshire. Son razas que se trabajan en el país debido a su gran potencial genético y parámetros productivos enfocados a la reproducción, prolificidad y producción de carne que le aportan una gran ayuda a los productores a trabajar cruces F1 de estas razas para mejorar las necesidades que tienen dentro de su empresa (la porcicultura, 2019)

La raza pietrain es de origen belga, ha sido mejorada en gran Bretaña y Alemania, es una línea de gran potencial cárnico de buen volumen en jamones que ofrece carne magra. Sus características fenotípicas es su color de piel blanca con manchas negras es poco prolífica, baja habilidad materna y tiene deficiencia para la ganancia de peso; la cabeza es ligera y corta, cuello corto, hocico ancho, orejas pequeñas anchas dirigidas hacia adelante, dorso largo, lomo es muy musculoso ancho y grueso. (laporcicultura, 2019)

La raza Maximus se ha desarrollado hace 20 años de origen Reino unido, conocido por su crecimiento y rendimiento en carne magra es incorporada de cepas de la raza pietrain, tiene gran aumento de lomo y buen rendimiento de jamón, son más utilizados para programas reproductivos.

2.2.5 Selección del verraco. Una gran importancia a la hora de seleccionar a machos reproductores en cualquier explotación ya sea grande, mediana o pequeña, es necesario tener en cuenta su características productivas, reproductivas y genéticas para poder brindarle a los productores a no obtener perdidas monetarias (Carpio, 2018).

A la hora de empezar a trabajar con un macho seleccionado en un programa reproductivo es fundamental la libido y la producción espermática para que sea más eficaz la fertilización de cerdas ya sea por monta directa o en inseminación artificial. Mas sin embargo, actualmente se ha venido manejando con mayor alternativa la inseminación artificial (IA) (Bayard,*et al*).

Es necesario entender que un verraco en una piara es de gran importancia para la producción, cuando un verraco es trabajado para monta directa en una explotación se habla que es uno por cada 20-30 hembras, pero si son manejados para IA es por cada 50-200 cerdas (Carpio, 2018).

A la hora de elegir un macho para ser un reproductor en una piara se hace en el momento que nace, en el peso al nacer, al destete y medir los testículos donde ambos deben ser simétricos; cuando tenga un peso de 80kg de ganancia de peso, es necesario separarlo de la camada y a los cinco meses de edad definir si es apto para el manejo reproductivo.

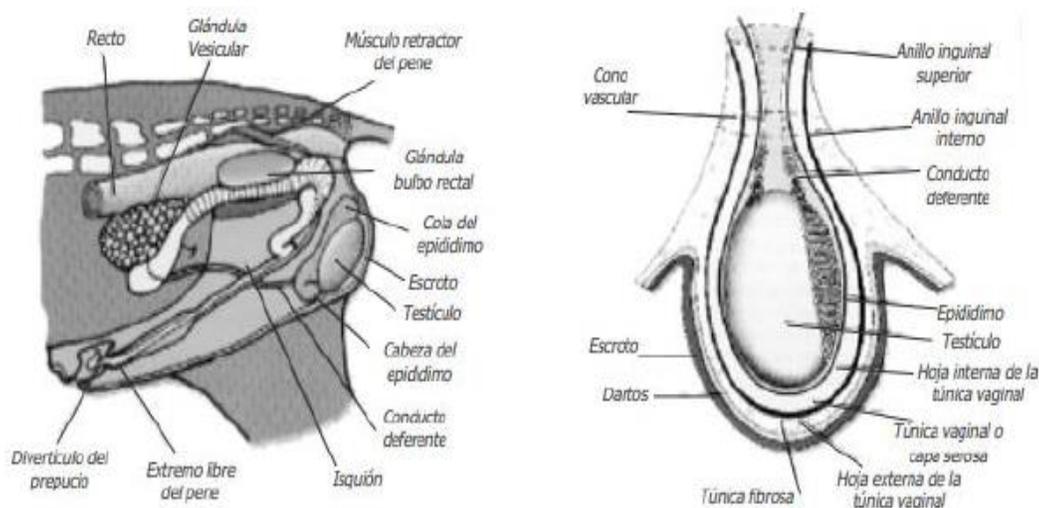
Se considera que a los seis meses de edad el macho entra a la pubertad donde se caracteriza por presentar deseo sexual y espermatozoides con una capacidad de preñes pero no es considerado un esperma en cantidad ni en calidad. Más sin embargo, cuando entra a una edad de ocho a nueve meses de edad con promedio de 150kg/pv es donde empieza a producir dosis seminales de calidad y volumen espermático (manejo reproductivo del cerdo, 2007).

Para ya seleccionar como definitiva el macho, se hace su última evaluación teniendo en cuenta siempre aplomos, numero de conformación de las tetas, su tamaño testicular, edad, peso, condición corporal, registros reproductivos.

2.2.6 ¿Qué es un verraco? Se especifica como verraco aquel macho que se encuentra sexualmente maduro y es manejado para cubrir hembras que se encuentran en programas reproductivos. Es de gran importancia aclarar que a machos utilizados en una producción o etapa de levante y engorde no se debe nombrar semental o verraco (Diccionario porcino 333).

2.2.7 Anatomía y fisiología del aparato reproductor del cerdo. A continuación, se presenta la anatomía y fisiología del aparato reproductor y las funciones de los cerdos.

Tracto reproductivo y sus funciones:



ORGANO	CARACTERÍSTICAS	FUNCIÓN
Escroto	Desarrollado según la edad	Proteger los testículos contra lesiones mecánicas, regular temperatura
Testículos	Voluminosos	Producción de espermatozoides
Vesícula Seminal	Muy voluminosa y frágil	Producción de líquido seminal
Próstata	Reducida	Producción de líquido seminal
Glándula Cowper	Muy voluminosa	Producción de líquido seminal
Epidídimo	Alargado	Maduración de espermatozoide.
Canal deferente	Largos y flexuosos	Evacuación del semen
Pene		Penetrar en la vagina

Figura 1. Anatomía y fisiología del aparato reproductivo del verraco

Fuente: Carrero & Col, 1989. Actualización Espinoza & Castaño, 2005.

Anatomía genital el cerdo:

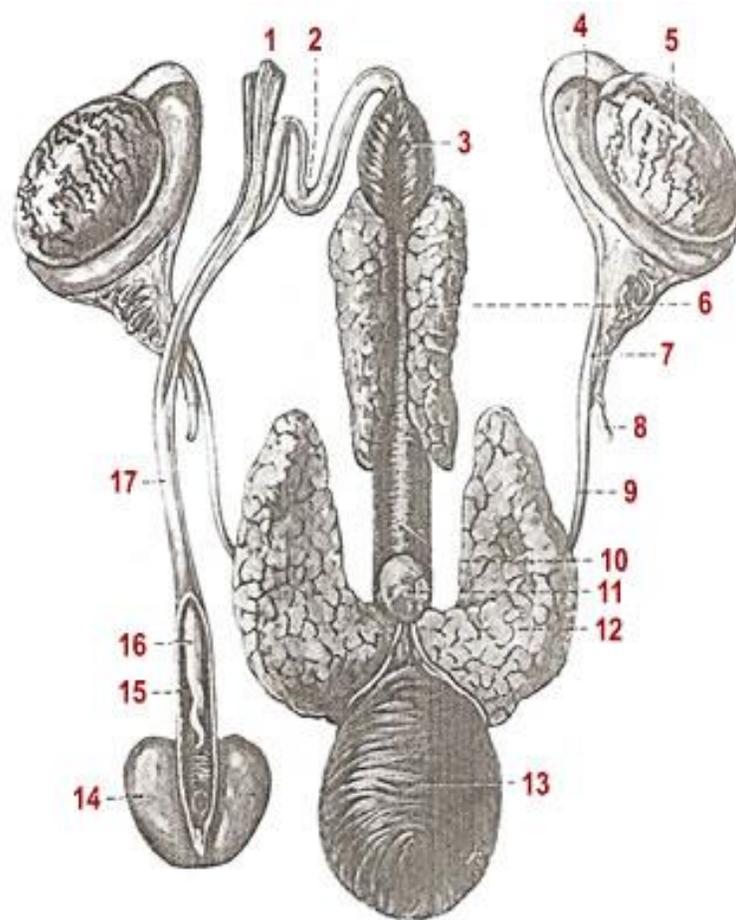


Figura 2. Anatomía genital del cerdo y sus partes.

Fuente: Gelvez, 2020

1. Musculo retractor del aparato reproductor
2. Flexura sigmoidea del aparato reproductor externo del macho.
3. Musculo bulbo-esponjoso.
4. Epidídimo.
5. Testículo.
6. Glándula bulboretal.
7. Cordón espermático

8. Arteria testicular.
9. Conducto de la próstata.
10. Musculo uretral.
11. Cuerpo de la próstata.
12. Vesícula seminal.
13. Vejiga urinaria.
14. Divertículo prepurcial.
15. Prepucio.
16. Glante.
17. Cuerpo del pene.

2.2.8 Espermatogénesis. Proceso en que las células madres diploides son divididas por mitosis para integrar espermatoцитos primarios. Tanto así, en células germinales transmiten información genética a sus descendientes desde el periodo fetal a la edad adulta (Hazmi & col, 2018, Lehmann & col, 2012).

En la especie porcina el proceso está controlado endocrinamente por el eje hipófisis-hipotálamo-testículo y dura alrededor de 25-26 días.

No se descarta la posibilidad de presentación de un efecto nocivo de la alta temperatura y humedad relativa sobre la espermatogénesis generando un aumento en el porcentaje de anormalidades espermáticas (Henaó & col, 2004).

La producción de espermatozoides y en dosis seminales que pueden ser obtenidos a partir de la eyaculación está influenciada por un gran número de factores ambientales como la alimentación, clima, manejo de recolecta seminal (Peinado & Col, 1998, Bielas & col, 2017).

2.2.9 Evaluación de la aptitud reproductiva del macho. El comportamiento sexual del cerdo incluye el libido, eyaculación y cortejo (Rodarte, 2011). Una de las finalidades más importantes en el estudio de la producción porcina es aumentar la eficiencia biológica de los animales en función de su crecimiento y reproducción.

Según varios estudios, el deseo sexual se basa en la duración de la preparación para la recolección desde el tiempo que entra al lugar de colecta hasta la terminación del eyaculado (Okere et al., 2005; Szostak & Sarzyńska, 2011; Oberlender et al., 2012; Kondracki et al., 2013; Wysokińska Y Kondracki, 2014).

2.2.10 Colecta de semen. Es importante que la colecta se haga en un lugar adecuado ya sea en una sala exclusiva para la recolecta o en el mismo corral del animal con las mejores condiciones sanitarias. Hay varios métodos de colecta como, vagina artificial o el método más usado de mano enguantada llamado método japonés (Hancock & Howell 1959, Singleton 2002, Althouse, 2007).

Habitualmente se utiliza un potro o maniquí de metal, donde la mayoría de verracos están entrenados y montan sin problemas; en dado caso que el macho tenga dificultades para la monta se utiliza una hembra en celo para inducir la libido. Lo más frecuente para coleccionar el semen es utilizar un termo donde se le sitúa gasa o un filtro para evitar el paso de secreción gelatinosa de las glándulas bulbouretrales con el resto del eyaculado.

2.2.11 Examen clínico. En la actualidad, el proceso de evaluación de semen es una herramienta primordial en la aplicación de nuevas biotecnologías, así como en los procesos de valoración de futuros reproductores (Rodríguez Franco & Jiménez, 2008). Es necesario tener información básica que incluya datos de la raza, edad, número de identificación, historia nutricional, enfermedades entre otras.

El examen físico andrológico debe contener la inspección del prepucio y pene (durante la colección de semen), la observación y el palpamiento del escroto y su contenido (incluyendo ancho del escroto, testicular y en epidídimo y testículo.

(Pipan & colaboradores, 2017) mencionan a (konox & col. 2008): para mantener la alta calidad del semen para la inseminación artificial es necesaria una evaluación de rutina basada en la concentración, motilidad y la morfología.

2.2.12 Evaluación del examen fresco. Es necesario evaluar el semen fresco en un tiempo establecido con las mejores condiciones precisas de temperatura, con el fin de asemejar las condiciones fisiológicas. Los estudios se deben realizar bajo sistemas de análisis computarizado y otros a nivel micro y macroscópicos (Lossada, 2013).

2.2.13 Volumen. Las glándulas que juegan un papel importante a la hora del eyaculado son las vesículas seminales y la próstata. Una manera más usual para la medición del volumen es almacenar el semen en un frasco preferiblemente con su respectiva medición en mililitros (mL) centímetros y así obtener mejores resultados.

El volumen del eyaculado varía normalmente dentro de un rango importante de (180-500 mL) estos rangos varían normalmente por su edad, tamaño testicular, raza (Xu *et al.*, 1996).

2.2.14 Concentración espermática. Todo estudio seminal se comienza con el conteo espermático, este proceso es conocido como evaluación de concentración espermática utilizando el método del espectrofotómetro en ella se determina la cantidad de células reproductivas en un mililitro de eyaculado por unidad de volumen en los machos (Noakes *et al.*, 2001; Hafez, 2003).

Es probable que este método traiga consecuencias negativas ya que puede presentar errores al determinar la concentración espermática, esto ocurre parcialmente por la dispersa de plasma seminal y por una gran cantidad de proteínas. Es por eso que se recomienda calibrarse

frecuentemente antes de ser utilizado en campo para evitar resultados negativos (Kubus,2014-manual de inseminación, pg 35)

2.2.15 Vitalidad. El estudio de la vitalidad es evaluar espermatozoides vivos y muertos empleando tinción (eosina-microsina). Esta técnica tiene como consecuencia penetrar las células en las membranas plasmáticas donde se puede observar espermatozoides coloreados, el cual significa espermatozoides muertos, pero si la tinción no traspasa en la membrana plasmática y se encuentra estructuralmente intacta, representa que al observarse se verá blanca se considera espermatozoides vivos (Zhu & Liu, 2000; Tsakmakidis *et al.*, 2010).

2.2.16 Prueba hipoosmótica (HOST). La prueba hipoosmótica o *hyposmotic swelling test*, conocida como HOST, tiene como función evaluar alteraciones morfológicas de la membrana plasmática de los espermatozoides (Jeyendran *et al.*, 1984). Esta prueba se basa en observar cambios expuestos a circunstancias hipotónicas (aumento de tamaño y enrollamiento de cola) y al detectarse causa inestabilidad osmótica entre los medios intracelulares y extracelular, situación que la célula compensa fisiológicamente difundiendo agua al compartimento intracelular y como consecuencia, el espermatozoide aumenta su volumen (Bredderman & Foote, 1969).

2.3 Marco Contextual

El lugar donde se realizó el trabajo de investigación es la finca AnimalPro que se encuentra ubicada a 5km de la ciudad de Cúcuta de Norte de Santander, en el corregimiento de Urimaco en la vía principal hacia el municipio El Zulia, sus condiciones ambientales son: temperatura de 32°C, altura 243 msnm. La explotación está orientada en la producción de pie de cría, levante y engorde de cerdos, cuenta con un área de 18.000 m², las instalaciones de los animales que se encuentran dentro de la granja son de material de cemento y varillas de hierro con corrales que

componen de salas parideras, cubículos de levante, destetos, cubículos de 5 m² para receptores individuales, engorde y hembras de remplazo.

2.4 Marco Legal

En esta sección se describen brevemente las bases legales que sustentan la investigación, comenzando por la constitución, pasando por decretos y resoluciones.

2.4.1 Constitución Política de Colombia de 1991. El Artículo 65, señala que La producción de alimentos gozará de la especial protección del Estado. Para tal efecto, se otorgará prioridad a las actividades agrícolas, pecuarias, pesqueras, forestales y agroindustriales.

2.4.2 Resolución 020033. Por medio de la cual se establecen los requisitos sanitarios y de bioseguridad para el registro de centrales de recolección e importadores de material genético.

2.4.3 Resolución 00 3650. Por medio de la cual se establecen los requisitos para el registro como productor de material genético.

2.4.4 Decreto 1648 del 2015. Por el cual se modifica el decreto único reglamentario del sector administrativo agropecuario pesquero y desarrollo rural en lo relacionado con el fondo nacional de la porcicultura.

2.4.5 CONPES 3458 del 2007. Política nacional de sanidad e inocuidad para la cadena porcícola.

Capítulo III: Metodología

3.1 Tipo de Investigación

El presente estudio del proyecto de investigación es de tipo experimental cuantitativo, en el que se evaluó volumen, concentración espermática, vitalidad y membrana intacta en porcinos con suplementación de Oxitocina y Prostaglandina F2 alfa (PGF2 α), 3 muestras por tratamiento en cada animal.

3.2 Población y Muestra

La población que se encuentra en la finca AnimalPro es de 93 animales, el cual solo se trabajaron con dos verracos de las razas Maximus y Pietrain con edad promedio entre 14 a 16 meses de edad.

Por lo tanto, se evaluaron 18 eyaculados (6 para control y 12 para diseño experimental) que fueron colectados durante 4 semanas con la aplicación de Oxitocina, Prostaglandina F2 alfa (PGF2 α) y Cloruro de Sodio (NaCl) a los dos machos bajo el mismo manejo de infraestructura y alimento. Cada macho permaneció en estabulación en diferentes corrales en toda la investigación. El manejo de la monta para cada uno de los machos fue de forma directa durante el tiempo experimental debido a que son animales que están adiestrados para montar en potrillo o maniquí; cada verraco se le efectuó 2 colectas de semen por semana hasta completar el número total de eyaculados.



Macho 1. A



Macho 2. B

Figura 3. Instalaciones adecuadas de cada verraco

Fuente: Jessica Ascanio, 2020.

3.3 Fase de Investigación

3.3.1 Ubicación del proyecto de investigación. Las muestras se llevaron a cabo en la finca Animal Pro producción porcicola, ubicada en el municipio de Cúcuta Norte de Santander, en el corregimiento de Urimaco vía principal del municipio de El Zulia, Colombia; con coordenadas (longitud $072^{\circ}58'97.51''$, latitud: $N7^{\circ}89'83.29''$), La realización de las muestras para evaluar el semen fresco se ejecutó en las mismas instalaciones del lugar y el pequeño laboratorio de andrología del propietario.

3.4 Materiales y equipos

3.4.1 Materiales. Guantes quirúrgicos.

Vaso precipitado.

Porta objetos.

Pipetas.

Servilleta de cocina.

Papel periódico.

Papel de filtro.

Tubos eppendorf.

3.4.2 Equipos. Microscopio

Reactivos (value Diagnostics DVM Rapid Test II-Sperm Concentration Analyzer-Quick Instruction Guide).

Tinción eosina-nigrosina.

Aparato fotoespectrómetro (value Diagnostics DVM Rapid Test II-Sperm Concentration Analyzer-Quick Instruction Guide).

3.5 Factores de Estudio

Grupo 0: Aplicación de NaCl a los dos machos con 3 oportunidades cada uno.

Grupo 1: Aplicación de Oxitocina a dos machos con 3 oportunidades cada uno.

Grupo 2: Aplicación (PGF2 α) a dos machos con 3 oportunidades cada uno.

3.6 Diseño del Proyecto

Este estudio se realizó como mecanismo experimental evaluar la colecta de eyaculado extraída de dos verracos de las razas Pietran y maximus con edades entre 14 y 16 meses de edad, los machos se mantuvieron en régimen nutricional constante y con agua ad-libitum. Por cada reproductor se ejecutó 3 repeticiones por tratamiento (T0=NaCl, T1=Oxitocina, T2=PGF2 α) donde se efectuaron por semana 2 colectas, hasta completar el total de eyaculados de los machos (6 para control y 12 para diseño experimental). Inmediatamente de cada recolección se evaluó el semen en fresco durante cuatro semanas.

Tabla 2. Semana de recolección eyaculatoria de los tratamientos (T0=NaCl, T1=Oxitocina, T2=PGF2 α) en los machos.

Semanas de recolección de las muestras eyaculatorias de los verracos			
Días de recolecta			
Semanas	Tratamientos	Martes	Jueves
0	Control (NaCl)	X	X
1	NaCl - Oxitocina	X	X
2	Oxitocina	X	X
3	PGF2 α	X	X
4	PGF2 α	X	

Fuente: Jessica Ascanio, 2020.

3.6.1 Extracción, colección y evaluación espermática. Al comienzo del estudio se manejó como protocolo tres muestras al azar en los machos tomándoles como tratamiento de control tres tomas, aplicándoles 1 mL de suero fisiológico (NaCl), vía Intramuscular (IM); posteriormente a las siguientes dos tomas seminales se les administraron (T1, n=3), 20UI Unidades

Internacionales (2mL) de Oxitocina sintética, vecol (10 U.I.), vía Intramuscular (IM), 10 minutos antes de la recolecta de semen, (T2, n=3) se le administró PGF2 α 5mg (0,7ml) Prostal® de DL-Cloprostenol vía Intramuscular (IM) 20 minutos antes de cada recolecta de semen.

En las mañanas de los días martes y jueves se recolectaron las muestras del eyaculado con el método de extracción seminal de forma tradicional que es la de mano enguantada (método japonés) como medida de bioseguridad. El lugar donde se hace dicho proceso debe estar en las mejores condiciones sanitarias; es necesario también desinfectar el prepucio del macho con papel periódico o servilleta desechable, con el fin que la colecta de la muestra no sea comprometida. Esta técnica se realizó durante cuatro semanas (Hancock & Howell *et al.*, 1959; Singleton *et al.*, 2002; Althouse, 2007).

Las muestras se recopilaron en un vaso plástico desechable de 12 oz forrado en papel periódico, para evitar la luminosidad, porque esta es un agente espermicida. Se le colocó un filtro fijado con una liga para impedir el traspaso de impurezas y la fase pre-espermática llamada también (tapioca) que es una porción gelatinosa pobre en espermatozoides y tiene como función sellar el cuello uterino al terminar el eyaculado evitando la entrada de microorganismos que puedan afectar el servicio; por tal motivo era necesario separarlo ya que no tiene ningún propósito trabajar con ello.

Al momento en que el animal se monta al maniquí se toma la punta del pene hacia el lado de manipulación, se hace una leve presión para lograr que el verraco inicie la eyaculación hasta obtener la segunda porción importante donde es fácil de reconocer por su color blanco lechoso, fracción rica en espermatozoides que contiene entre 80% y un 90% en el eyaculado y se permite que el verraco termine la colecta (5-8 min) hasta que se observe la fase (post espermática).



Figura 4. Táctica colecta de semen

Fuente: Jessica Ascanio, 2020.

3.6.2 Análisis de laboratorio

3.6.2.1 Características Macroscópicas (Volumen, Concentración espermática)

3.6.2.1.1 Análisis del volumen espermático

Este análisis de volumen espermático se le realizó a todas las muestras colectadas una vez extraído el semen en fresco. Para poder medir este parámetro se ejecutó de la manera más sencilla y rápida utilizando un vaso de precipitado con medidas en mL; donde se pudo observar la obtención de distintos resultados de volumen eyaculado en cada tratamiento (NaCl, oxitocina, PGF2 α) elaborado en los machos A y B.



Figura 5. Medida del Volumen en Semen Fresco

Fuente: Jessica Ascanio, 2020.

3.6.2.1.2 Análisis de concentración espermática. La técnica empleada consistió en evaluar la concentración espermática en el momento de la recolecta en semen fresco con la metodología de la espectrofotometría que tiene como función contar la cantidad de producción espermática (Noakes *et al.*, 2001; Hafez, 2003). En un tubo de ensayo (value Diagnostics DVM Rapid Test II-Sperm Concentration Analyzer-Quick Instruction Guide) de solución estándar 1mL, se le agregó 25 μ L de semen fresco y se introdujo dentro del equipo (espectrofotómetro) dando así rápidamente un conteo y resultados de la concentración espermática.



Figura 6. Medida de la Concentración Espermática en el Espectrofotómetro

Fuente: Jessica Ascanio, 2020.

3.6.3 Características microscópicas

3.6.3.1 Análisis de vitalidad espermática. Esta prueba se ejecutó con semen fresco utilizando 10 μ L de semen fresco y 10 μ L de tinción (eosina-nigrosina) agregándose en una lámina donde posteriormente se realizó una leve mezcla homogénea y un frotis suave hasta dejarlo secar.

Luego fueron observados en el microscopio (A. KRÜSS OPTROPNIC GERMANY) con lente de 40X, seguido de un respectivo conteo de 100 espermatozoides para poder comparar vivos y muertos. Logramos apreciar que los espermatozoides que se encontraron teñidos en las cabezas fueron mínimos, el cual significa mortalidad mientras que la gran mayoría de espermatozoides vistos con cabeza blanca, son vivos.

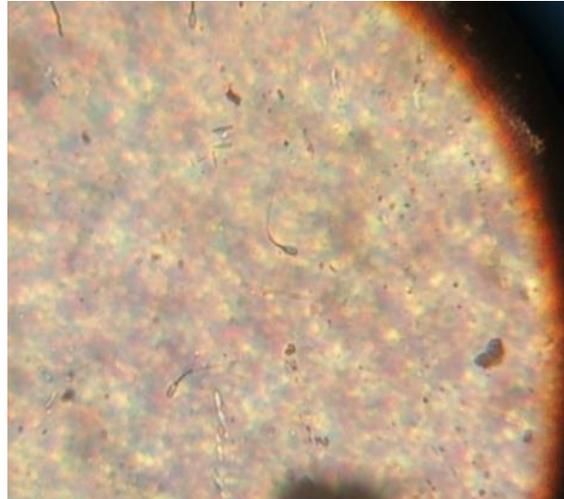


Figura 7. Evaluación de vitalidad espermática (vivos y muertos)

Fuente: Jessica Ascanio, 2020.

3.6.3.2 Análisis de hinchazón hipoosmótica (HOST). La manera más usual para evaluar la membrana de los espermatozoides es con la prueba de hinchazón hipoosmótica (HOST). Se agrega 100 μL de agua destilada, 0,9gr de sacarosa y 10 μL de semen, en este caso fresco; se diluyen en el tubo eppendorf a temperatura de 37°C con un lapso de 10 a 15 minutos, prontamente se extrae 10 μL de la dilución realizada anteriormente, 10 μL de tinción (eosina-nigrosina) se agrega en un portaobjeto y se hace su respectivo frotis hasta dejarlo secar.

Posteriormente se traslada al microscopio (A. KRÜSS OPTROPNIC GERMANY) para observar con lente 40X, donde se realizó un conteo de 100 espermatozoides de colas risadas y no risada.

Se puede deducir que gran parte de las muestras observadas se encontraron con la cola risada que se define como membrana intacta.

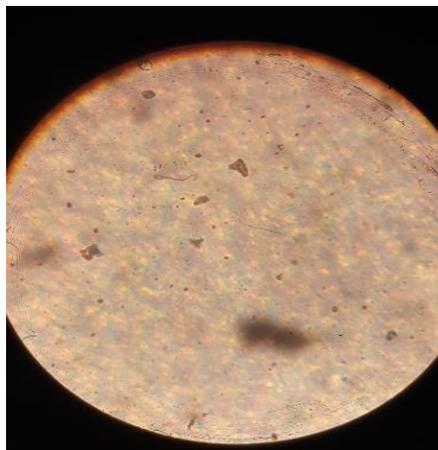


Figura 8. Modelo de Host, Cola Risada

Fuente: Jessica Ascanio, 2020.

3.7 Metodología Estadística

Los datos obtenidos de las evaluaciones anteriormente descritas fueron introducidos en sistema de análisis Microsoft Excel 2020 para Windows, Versión 12.0 (2007. Microsoft Corporación), para luego ser exportados al sistema Statistical Analysis System para Windows, Software 8.2 (SAS Inst. Inc., Carry, NC. USA, 2001) y ser procesados mediante el Modelo Lineal General (PROC GLM). Los tratamientos fueron evaluados como variables discretas independientes y los parámetros de calidad seminal como variables cuantitativas (Volumen, Concentración, Vitalidad, membrana intacta), dependientes del efecto del tratamiento, se analizaron mediante pruebas de normalidad (Shapiro Wilk) y homogeneidad de varianzas (Levene), también se reportará el error estándar (Rodríguez, 2020).

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} : Variable respuesta (Volumen, Concentración, Vitalidad, HOST)

μ = media general de las observaciones

T_i = efecto de i -ésimo tratamiento (3 Tratamientos)

ε_{ij} = error experimental asociado a las observaciones.

Capítulo IV: Resultados

A continuación, se presentan los resultados de la investigación donde se evaluaron un total de dos verracos a los cuales se le realizaron dieciocho recolectas, con intervalos de 2 repeticiones por semana, las cuales cumplían con los parámetros establecidos al momento de valorar la calidad seminal. Sin embargo, al trabajar con estas dos hormonas oxitocina y PGF2 α en esta especie, es de gran importancia evaluar la función de la calidad seminal, en los parámetros de Volumen, Concentración, Vitalidad y membrana intacta. En la tabla 3 se aprecian los resultados obtenidos para cada uno de los casos de estudio que se investigaron.

Tabla 3. Efecto de los Tratamientos sobre el Volumen, Concentración Espermática, Vitalidad y Test de Resistencia Hipoosmótica (HOST)

Macho	NaCl	Oxitocina	PGF2 α	Sig
Volumen del eyaculado (mL)				
A	203,33 \pm 3,33 ^a	256,6 \pm 6,6 ^a	230,0 \pm 25,16 ^a	P \geq 0.05
B	238,33 \pm 15,89 ^a	253,33 \pm 21,85 ^a	213,33 \pm 31,79 ^a	
Total promedio	220,83 \pm10,67 ^a	255,0\pm10,24 ^a	221,6\pm18,51 ^a	
Concentración espermática (millones de SPZ/mL)				
A	834,66 \pm 14,72 ^a	420,33 \pm 11,05 ^b	429,33 \pm 60,33 ^b	P \leq 0.01
B	587,0 \pm 47,60 ^a	285,0 \pm 100,0 ^b	406,66 \pm 49,77 ^b	
Total promedio	710,83 \pm59,69 ^a	352,66\pm54,22 ^b	418,0\pm35,45 ^b	
Vitalidad espermática (%)				
A	94,33 \pm 1,20 ^a	91,0 \pm 1,52 ^a	93,0 \pm 1,52 ^a	P \geq 0.05
B	92,0 \pm 2,08 ^a	89,0 \pm 5,56 ^a	80,33 \pm 13,67 ^a	
Total promedio	93,16 \pm1,19 ^a	90,0\pm2,62	86,66\pm6,77 ^a	
HOST (%)				
A	80,66 \pm 1,85 ^a	84,0 \pm 1,52 ^a	84,0 \pm 2,51 ^a	P \geq 0.05
B	81,0 \pm 1,0 ^a	84,66 \pm 2,90 ^a	82,0 \pm 3,0 ^a	
Total promedio	80,83 \pm0,94 ^a	84,3\pm1,47 ^a	83,20\pm1,74 ^a	

Fuente: Jessica Ascanio, 2020.

Macho Reproductor: A: Macho 1; B: Macho 2; Tratamiento NaCl: Inyección de 1 mL de NaCl al 0,9 %; Oxitocina: 2 mL de oxitocina comercial a razón de 20 UI por animal; PGF2 α : 0,7 mL de Prostal® a razón de 5 mg de DL-Cloprostenol. Letras diferentes en minúscula (a.b) en las

filas, denotan diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0,05$) entre los tratamientos evaluados en la investigación.

4.1 Volumen

Se observan las características del volumen en las muestras de semen obtenidas de los machos durante el periodo de la evaluación, no se observan diferencias significativas ($P \geq 0,05$), sin embargo, en las observaciones de campo en las aplicaciones de Oxitocina los machos responden con mayor volumen de eyaculado, sobre los otros dos tratamientos, casi son 35 mL de diferencia entre los valores totales (figura 9)

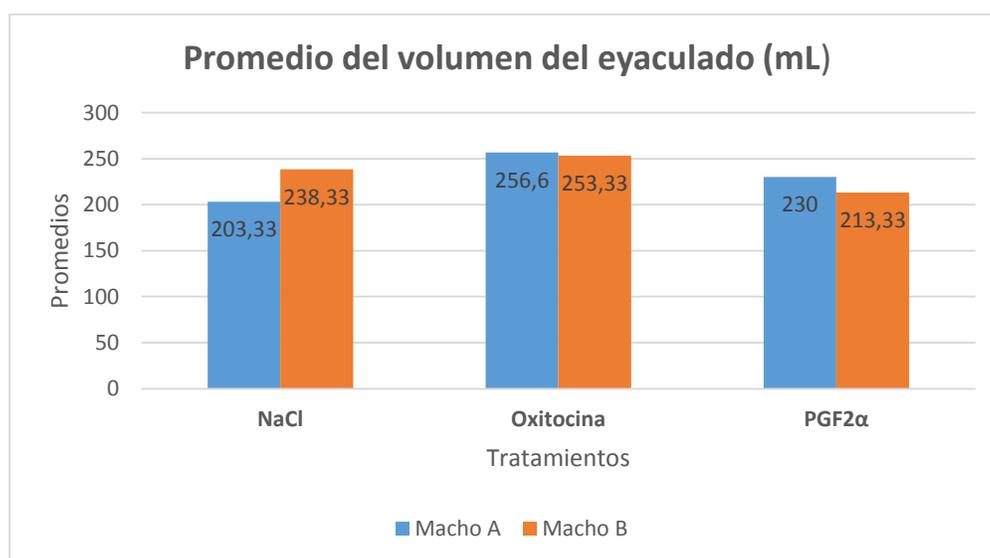


Figura 9. Efecto de los Tratamientos (NaCl, Oxitocina y PGF2α) sobre el Volumen del Eyaculado en (mL) de los machos A y B

Tabla 4. Resultados promedios del volumen eyaculado (mL) de cada macho por tratamiento (NaCl, Oxitocina, PGF2α)

Macho	NaCl	Oxitocina	PGF2α
A	203,33 ± 3,33 ^a	256,6±6,6 ^a	230,0±25,16 ^a
B	238,33 ±15,89 ^a	253,33±21,85 ^a	213,33±31,79 ^a
Total	220,83 ±10,67^a	255,0±10,24^a	221,6±18,51^a

Fuente: Elaboración propia (2020).

Macho Reproductor: A: Macho 1; B: Macho 2; Tratamiento NaCl: Inyección de 1 mL de NaCl al 0,9 %; Oxitocina: 2 mL de Oxitocina comercial a razón de 20 UI por animal; PGF2 α : 0,7 mL de Prostal® a razón de 5 mg de DL-Cloprostenol.

4.2 Concentración Espermática

Se observan diferencias altamente estadísticas ($P \leq 0,01$) en las características de la concentración espermática donde se evaluaron por medio del espectrofotómetro en las muestras de semen obtenidas de los machos durante la investigación, se puede diferenciar que en el tratamiento de NaCl presentó valores altos, con respecto al uso de Oxitocina y PGF2 α (figura 10).

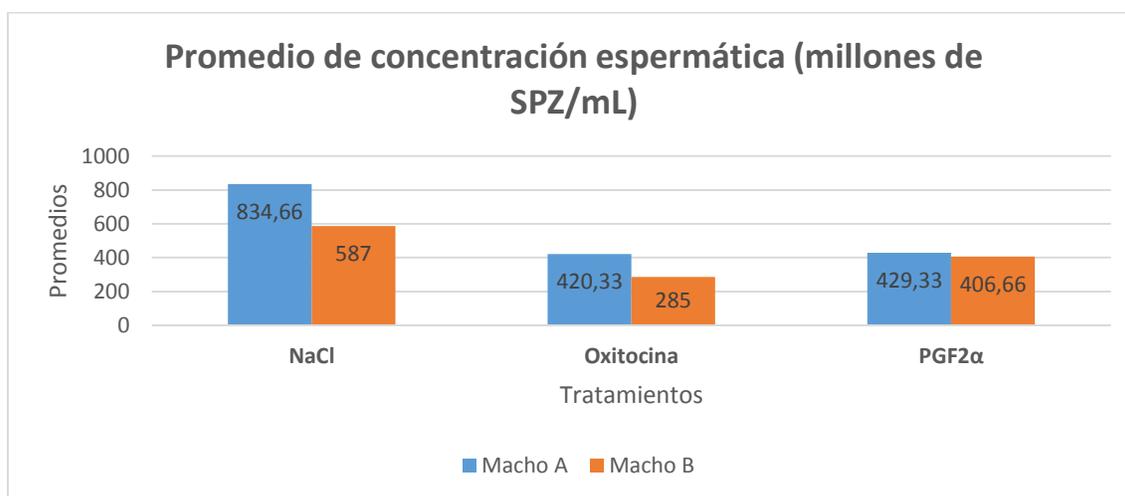


Figura 10. Efecto de los Tratamientos (NaCl, Oxitocina y PGF2 α) sobre la Concentración Espermática (millones de SPZ / mL) en los Machos A y B

Tabla 5. Resultados promedios en la concentración espermática (millones de SPZ/mL) de cada macho por tratamiento (NaCl, Oxitocina,PGF2 α)

Macho	NaCl	Oxitocina	PGF2 α
A	834,66 \pm 14,72 ^a	420,33 \pm 11,05 ^b	429,33 \pm 60,33 ^b
B	587,0 \pm 47,60 ^a	285,0 \pm 100,0 ^b	406,66 \pm 49,77 ^b
Total	710,83 \pm59,69 ^a	352,66\pm54,22 ^b	418,0\pm35,45 ^b

Fuente: Elaboración propia (2020).

Macho Reproductor: A y B Tratamiento NaCl: Inyección de 1 mL de NaCl al 0,9 %; Oxitocina: 2 mL de oxitocina comercial a razón de 20 UI por animal; PGF2 α : 0,7 mL de Prostal® a razón de 5 mg de DL-Cloprostenol.

4.3 Vitalidad Espermática

Se observan las características del porcentaje de espermatozoides vivos en las muestras de semen obtenidas de los machos porcinos durante el periodo de la investigación, no se observan diferencias significativas ($P \geq 0,05$) los valores encontrados son similares para los diferentes tratamientos (figura 11).

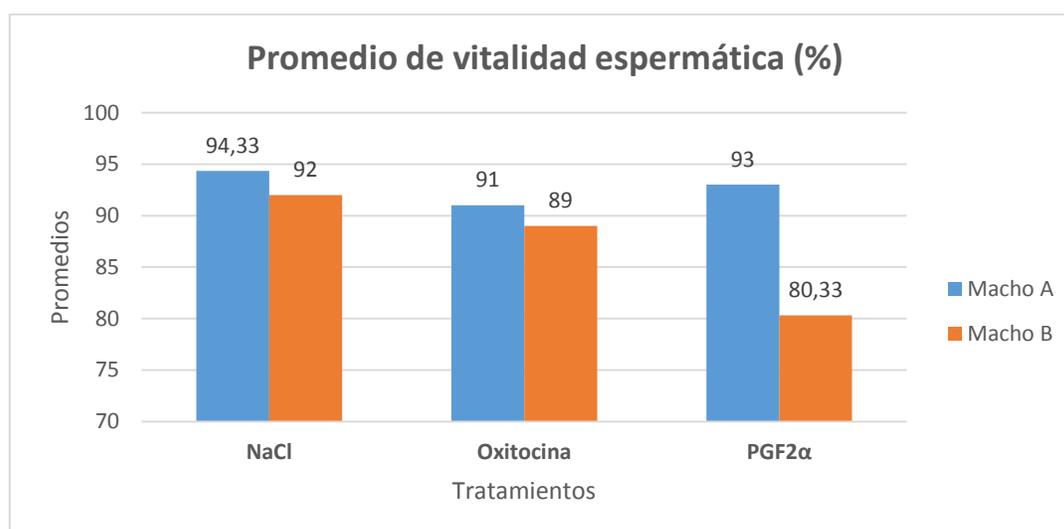


Figura 11. Efecto de los Tratamientos (NaCl, Oxitocina y PGF2 α) sobre la Vitalidad Espermática (%) en los Machos A y B

Tabla 6. Resultados promedios en vitalidad espermatica (%) de cada macho por tratamiento (NaCl, Oxitocina, PGF2 α)

Macho	NaCl	Oxitocina	PGF2 α
A	94,33 \pm 1,20 ^a	91,0 \pm 1,52 ^a	93,0 \pm 1,52 ^a
B	92,0 \pm 2,08 ^a	89,0 \pm 5,56 ^a	80,33 \pm 13,67 ^a
Total	93,16 \pm 1,19^a	90,0 \pm 2,62	86,66 \pm 6,77^a

Fuente: Elaboración propia (2020).

Macho Reproductor: A y B; Tratamiento NaCl: Inyección de 1 mL de NaCl al 0,9 %; Oxitocina: 2 mL de oxitocina comercial a razón de 20 UI por animal; PGF2 α : 0,7 mL de Prostal® a razón de 5 mg de DL-Cloprostenol.

4.4 Test Hipoosmótico (HOST)

Se observan las características del porcentaje de células espermáticas resistentes al Test Hipoosmótico (HOST) en la evaluación del semen de los machos porcinos durante el periodo de investigación, no se observaron diferencias significativas ($P \geq 0,05$) los valores son similares para los diferentes tratamientos (figura 12).

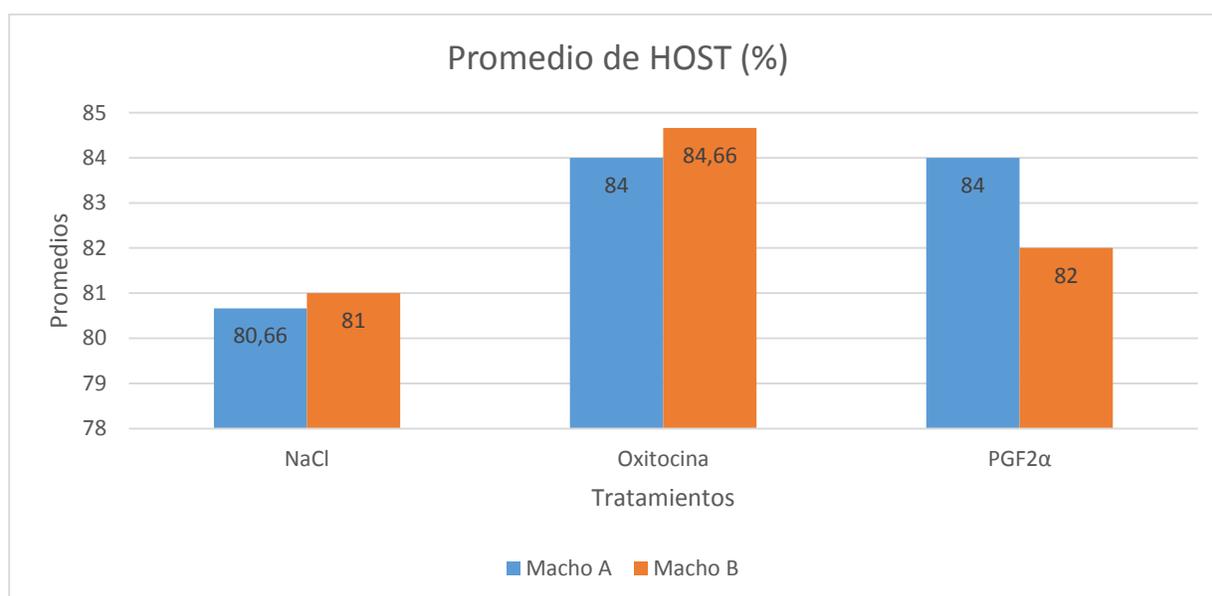


Figura 12. Efecto de los Tratamientos (NaCl, Oxitocina y PGF2 α) sobre la Membrana Intacta en Espermatozoides (%) en los Machos A y B

Tabla 7. Resultados promedios en tes de resistencia hipoosmotica (%) de cada macho por tratamiento (NaCl, Oxitocina, PGF2 α)

Mach o	NaCl	Oxitocina	PGF2α
A	80,66 \pm 1,85 ^a	84,0 \pm 1,52 ^a	84,0 \pm 2,51 ^a
B	81,0 \pm 1,0 ^a	84,66 \pm 2,90 ^a	82,0 \pm 3,0 ^a
Total	80,83 \pm0,94^a	84,3\pm1,47^a	83,20\pm1,74^a

Fuente: Elaboración propia (2020).

Macho Reproductor: A y B; Tratamiento NaCl: Inyección de 1 mL de NaCl al 0,9 %;
 Oxitocina: 2 mL de oxitocina comercial a razón de 20 UI por animal; PGF2 α : 0,7 mL de
 Prostal® a razón de 5 mg de DL-Cloprostenol

Capítulo V: Discusión

Los resultados la utilización de las hormonas exógenas como la Oxitocina y Prostaglandina F2 alfa (PGF2 α) en los cerdos machos no presentan una diferencia significativa respecto al *volumen de eyaculado*, no obstante, las observaciones en campo muestran que los cerdos machos responden con mayor volumen de eyaculado ante la aplicaciones de Oxitocina previo a la recolección de semen, esto con respecto a los otros dos tratamientos, ocurriendo así, algo similar a lo planteado por los investigadores Palmer, Amundson, Brito, Waldner, y Barth (2003) quienes señalan en su estudio que el tratamiento con Oxitocina antes de la recolección de semen resultó en un mayor volumen y producción de esperma en otras especies entre ellas: Carneros (Knight,1974; Nicholson, 1999), Búfalos (Ibralhim, 1988) y Toros (Berndtson e Igboeli, 1988). Probablemente durante la eyaculación la Oxitocina puede incitar movimientos en el musculo liso del epidídimo y seguramente en el transporte de los espermatozoides en el conducto masculino (p. 213).

Ahora bien, en referencia a la aplicación de la Prostaglandina (PGF2a), otros estudios han demostrado los buenos efectos de la aplicación de ésta sobre animales, en un tiempo previo a la colecta del semen, en este sentido, Çebi, Tekin, Çil y Akcay (2015) indican que han tenido efectos positivos en el aumento del volumen, la producción espermática, en búfalos, perros y sementales. No obstante, en esta investigación sobre los cerdos estudiados se encontró que el volumen del eyaculado con tratamiento de PGF2 α aumentó en los cerdos machos tipo A respecto al parámetro de control tratado con NaCl, y disminuyó en los cerdos Machos tipo B, esto puede ser debido a la raza. Según el estudio Manejo reproductivo del Verraco, un factor influyente en la producción del semen es la raza, dado que la madurez sexual se alcanza a diferentes edades

dependiendo del tipo de verraco. (Rodríguez, 2005, p.46), lo que también pudiera justificar las variaciones no significativas ($P \geq 0.05$) del presente estudio.

En atención a la *concentración espermática* (conteo espermático) para encontrar la cantidad de células reproductivas en un mL/ de eyaculado en los cerdos machos estudiados, el espectrofotómetro mostró diferencias estadísticas en los tratamientos de Oxitocina y prostaglandina con respecto al tratamiento de control con NaCl ($P \leq 0,01$). En este estudio sobre los cerdos, la concentración espermática disminuyó con la aplicación de Oxitocina y la Prostaglandina (Tabla 2). Al evaluar la concentración espermática se determinó que la cantidad de células reproductivas en un mL de eyaculado en los machos era menor en comparación con el grupo control tratado con NaCl, este resultado es contrario al obtenido por Çebi et al. (2015) quienes señalan que la oportuna administración de 20 UI de Oxitocina antes de la recolección de semen en machos sementales aumentó la libido, el volumen de semen y las concentraciones de esperma (p. 12).

Con respecto a la *vitalidad espermática* se logró apreciar que los espermatozoides teñidos de azul en las cabezas fueron mínimos, lo cual significa baja mortalidad, mientras que la gran mayoría de espermias vistos con cabeza blanca, son vivos tanto así que no hubo una diferencia significativa ($P \geq 0.05$) al aplicar tanto Oxitocina como la prostaglandina se consiguieron resultados similares a los de Palmer, Amundson, Brito, Waldner y Barth (2003) quienes en su estudio con toros no encontraron ningún efecto de la Oxitocina y PGF2a en la vitalidad espermática de los toros, resultando similar a los resultados de nuestro estudio sobre los cerdos machos en el Trópico Bajo de Colombia. Esto va en contraposición a lo expresado por Rodríguez (2005) quien citando a Maes (2003) y Estienne y Happer (2004) indica que “se han

registrado efectos positivos del tratamiento prolongado de verracos de IA con PGF2a y/o análogos sobre la Libido o las características seminales” (p.47).

En cuanto a *pruebas hipoosmótica (HOST) o membrana intacta*, no se observan diferencias significativas ($P \geq 0,05$) en los valores encontrados, ya que son muy similares para los diferentes tratamientos aplicados ver resultados en Tabla 2 (NaCl, Oxitocina, PGF2 α), al observar los resultados respecto al tratamiento con Oxitocina y Prostaglandina, estos tratamientos no afectaron significativamente el semen de los machos porcinos en el Trópico Bajo de Colombia, es decir, no hubo una diferencia significativa en la tasa de membrana intacta lo cual difiere con los estudios de Cebi, et. al. (2015) quien en su investigación indica que al aplicar PGF2 α hubo efectos perjudiciales sobre la calidad del semen, especialmente con una dosis alta en la tasa de membrana intacta.

Conclusiones

Al describir el efecto de la Oxitocina y la $PGF2\alpha$ inyectada en forma parental en la funcionalidad de la membrana espermática en porcinos en el trópico bajo en Colombia se encontró que con la aplicación de dichas hormonas solo se encontraron diferencias significativas en la concentración espermática y diferencias no significativas en Volumen del Eyaculado, la vitalidad espermática y prueba hipoosmótica (HOST),

Al evaluar el volumen espermático en verracos reproductores porcinos tratados con Oxitocina y $PGF2\alpha$ en el trópico bajo en Colombia, se puede concluir que puede haber mayor aumento de volumen al aplicar tratamientos con Oxitocina. No obstante, al comparar el funcionamiento de ambas hormonas en los cerdos, se tiene que la aplicación de la Oxitocina parece ser más efectiva que la Prostaglandina en el manejo del volumen del eyaculado, y aunque durante el periodo de evaluación, no presentaron diferencias que se consideren altamente significativas, cuando se les aplicó la Oxitocina los cerdos respondieron con un más amplio Volumen de eyaculado sobre los otros dos tratamientos suministrados NaCl y $PGF2\alpha$.

Las evidencias de los resultados muestran que el total del volumen eyaculado por los machos sometidos a prueba bajo administración de la Oxitocina fue de un valor mayor a los que fueron tratados con Cloruro de Sodio (NaCl) bajo la cual el Volumen eyaculado fue menor y los machos que fueron tratados con Prostaglandina ($PGF2\alpha$) tuvieron un Volumen Eyaculado superior al del Cloruro de Sodio, pero inferior al resultado obtenido bajo tratamiento de Oxitocina. Lo anterior evidencia que la Oxitocina aumenta el volumen eyaculado de los machos tipo A y B, pero con diferencias no significativas. En este sentido, se puede decir que la Oxitocina viene a desempeñar un rol importante en lo que concierne al Volumen de eyaculación.

En términos de Concentración espermática (millones de SPZ/mL) hubo diferencias significativas ($P \leq 0.01$), dado que al aplicar la Oxitocina a los machos tipo A se disminuyó la concentración espermática en más de un 50%, similarmente ocurrió con la aplicación de Prostaglandina a este tipo de cerdos. Ahora bien, en los cerdos machos tipo B, la disminución fue menor, siendo menos del 50% en promedio al aplicar la Oxitocina y la Prostaglandina en esta raza, lo que indica que en términos de concentración espermática la raza tipo A tiene una mayor sensibilidad a la Oxitocina y la Prostaglandina.

Con este trabajo se abre camino a otros estudiantes de la especialidad para desarrollar estudios más profundos en este tema.

Recomendaciones

1. Se recomienda proponer más trabajos de investigación empleando la aplicación de oxitocina y prostaglandina en verracos con el fin de continuar con otras investigaciones, experimentos y estudios, dado que no se encontraron referentes a nivel regional ni nacional al respecto.
2. Continuar investigando el efecto que ejerce positivamente la oxitocina sobre la calidad seminal en cuanto al volumen en la especie porcina en machos.
3. La utilización de oxitocina como alternativa a los productores con problemas reproductivos en la disminución eyaculatoria.
4. Se recomienda seguir investigando si la oxitocina y la prostaglandina afectan parcialmente la concentración espermática.
5. Es necesario tener en cuenta a la hora de medir la concentración espermática, se realice con otra mejor alternativa más eficaz como la cámara de Bürker, ya que es muy probable tener errores con la utilización del espectrofotometro.

Referencias Bibliografía

- Ariagno, J. y Mormandi, E. (2016). Guía práctica para la evaluación del semen. *Revista ByPC*, 80(3), 29-36.
- Althouse, G. (2008). Sanitary procedures for the production of extended semen. *Reproduction in Domestic Animals*, 43(2), 374-378.
- Bygdeman, M., Prostaglandins, I. y Hodgson, J. (1981). *Abortion and sterilization: Medical and Social Aspects*. London: Academic Press.
- Bielas, W., Nizanski, W., Nicpon, J., Nicpon, J., Partyka, A., Mordak, R., Nowak, M. y Ciaputa, R. (2017). Effect of zearalenone on circulating testosterone concentration testicular and epididymal morphology and epididymal sperm characteristics in wild boars. *Theriogenology*, 102, 59-66.
- Bredderman, P. y Foote, R. (1969). Volume of stressed bull spermatozoa and protoplasmatic droplets, and the relationship of cell size to motility and fertility. *Journal of Animal Science*, 28(4), 496-501.
- Bayard P., Becerril J., Bo G., Boeta M., Cavestany D., Delgadillo A., Estrada S., Ferrugem JC., Fritsch M., Galina C., Gutiérrez C., Grajales H., Hernández J., Horn M., Juárez L., Lassala A., Márquez Y., Molina R., Olivera M., Ortiz O., Paramo R., Perez R., Porras A., Pimentel C., Rangel L., Romero JJ., Saharrea A., Tribulo H., Trujillo M E., Valencia J., Zarco L., *Reproducción de animales domésticos.3ª*, México, Limusa, 2012.
- Çebi, Ç., Tekin, K.; Çil, B.; Akcay, E. (2019). The Effects of Oxytocin and PGF 2 α Injections on Semen Quality and Libido in Buck. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. Consultado el 20/11/2020. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/333446757_The_Effects_of_Oxytocin_and_PGF_2_a_Injections_on_Semen_Quality_and_Libido_in_Buck

Carrero, G. Whyte, J. Sandoval, L. 1989. Manual de producción Porcicola. Centro

Latinoamericano de Especies Menores. Actualización Espinoza, C. Castaño, G. 2005. Pp9-28.

Carpio, A. (2018). Importancia del verraco en la explotación porcina, Razas procinas.com.

Disponible en <https://razasprocinas.com/importancia-del-verraco-dentro-de-la-explotacion-porcina/>

Diccionario porcino – tapioca. Disponible en https://www.3tres3.com/diccionario-porcino/T/tapioca_285/

Diaz, M. (2015). Disponible en es.slideshare.net/

Paz, F. Claudia A., Fernández, H. Selene, Calles. G. Mariana, Vargas, E. Liliana, Trujillo, María,

Ortega. (2020). Porcicultura. Selección y manejo de verracos. Disponible en

<https://www.porcicultura.com/destacado/Seleccion-y-manejo-del-verraco>

Einspanier A. & Ivell R. (1997) Oxytocin and oxytocin receptor expression in reproductive tissues of the male marmoset monkey. *Biology of Reproduction* 56: 416-422.

Sánchez, A., Rubilar, J., & Gatica, R. (2002). Uso de la prueba hipoosmótica en la evaluación de

la fertilidad potencial de semen canino fresco y congelado. *Archivos de medicina veterinaria*,

34(1), 131-134. Disponible en <https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2002000100014>

El sitio porcino (29 de julio 2016). Importancia de los parámetros genéticos en la reproducción

porcina. Disponible en <https://elsitioporcino.com/articles/2740/importancia-de-los-parametros-geneticos-en-la-reproduccion-porcina/>

Gordon, I. (1997). *Controlled reproduction in pigs*. CAB International, New York, US.

- Guldenaar SEF & Pickering BT 1985 Immunocytochemical evidence for the presence of oxytocin in rat testis. *Cell Tissue Research* 240: 485-487.
- Gelvez, L. D (2019). Eyaculado en los animales. Obtenido de Mundo pecuario. Disponible en https://mundo-pecuario.com/tema17fl/copula_animales/eyaculado_animales-894.html
- Gruson D. (2018). Oxytocin testing and reproductive health: Status and clinical applications. *Clin Biochem*, 62, 55-61. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2018.10.016
- Hazmi, A. Junaidi, A. and Honaramoozz, A. (2018). Optimization of culture conditions for short-term maintenance, proliferation, and colony formation of porcine gonocytes. *Journal of Animal Science and Biotechnology*.8(9):2
- Hancock JL, Howel GJL (1959) The collection of boar semen. *Vet Rec* 71:664–665.
- Henao F, Díaz, F., Valencia M. & Pérez B. (2017). Evaluación de la calidad seminal en los porcinos. *Porcicultura. Colombiana*. No.109. pp.3-5.
- Hafez, B. (2003). *Preproduction in farm animals*. USA: Baltimore. Editorial Seventh.
- Hemsworth PH, Donnelly J, Findlay JK, Galloway DB. (1977). The effects of prostaglandin F_{2α} on sperm output in boars. *Prostaglandins*, 13, 933-941. DOI: 10.1016/0090-6980(77)90223-4.
- Hess MB. (2002). The effects of prostaglandin F_{2a}, oxytocin and gonadotropin releasing hormone on ejaculate characteristics in the dog, MSc Thesis, Virginia Polytechnic Institute and State University. In <https://vtechworks.lib.vt.edu/handle/10919/31135>
- Hugo Torno.(2013). *Genética Austral*. Inforpork, Manejo de macho. Disponible en <https://infopork.com/2013/12/manejo-de-machos/>
- Ibrahim MA. (1988). Influence of oxytocin and prostaglandin on semen characteristics and process of ejaculation in buffalo bulls. *Acta Vet Hung*, 36, 3-10.

Jeyendran, R., H. Van Der Ven, M. Perez-Pelaes, B. Crabo, L. Zaneveld. (1984). Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J. Reprod. Fert.* 70: 219-228.

Kulkarni SA, Garde SV & Sheth AR. (1992). Immunocytochemical localization of bioregulatory peptides in marmoset testes. *Archives of Andrology*, 29: 87-102.

Kondracki, S., Wysokińska, A., Kowalewski, D., Muszyńska, E. & Adamiak, A. (2009). Season's influence on the properties of male domestic pig semen. *Rozprawy naukowe Pope John Paul II State School of Higher Vocational Education in Biała Podlaska*. III, 177-187.

Kubus S.A. (2014). Manual de inseminación artificial, Pág. 29. Consultado el 12/11/2020. Disponible en <https://www.kubus-sa.com/wp-content/uploads/2014/06/KUBUS-Manual-de-Inseminacion.pdf>

Lossada, M. (2013). Evaluación de dos diluyentes alternativos para la preservación de semen porcino bajo condiciones de refrigeración. Tesis Maestral. Universidad del Zulia, Venezuela. DOI https://doi.org/10.1007/978-1-4684-7103-8_29

Levis, G.D. & Reicks, L.D. (2005). Assessment of sexual behavior and effect of semen collection pen design and sexual stimulation of boars on behavior and sperm output – a review. *Theriogenology* 63, 630-642. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2004.09.037

PorciNewsLatam. (2020). La importancia de la selección y el manejo del verraco. Consultado el 12/11/2020. Disponible en <https://porcino.info/la-importancia-de-la-seleccion-y-el-manejo-del-verraco/>

La porcicultura. (16 de enero 2019). Consultado el 28/11/20. Raza Porcina Pietrain. Disponible en <https://laporcicultura.com/razas-de-cerdos/raza-porcina-pietrain/>

La porcicultura, (2020). Razas Porcinas. Consultado el 26/10/20. Disponible en

<https://laporcicultura.com/razas-porcinas/>

Mejía, Liliana. Generalidades de la porcicultura. Consultado el 26/10/20. Disponible en

<https://es.calameo.com/read/0043977550baf827e792c>

Hernández, M. & Urrego, C. (2019). La patria-ciencias, conozca las tres especies de cerdo

criollos. Disponible en <https://www.lapatria.com/ciencias/conozca-las-tres-especies-de-cerdos-criollos-439406>

Estienne, M. (2014). A review of the effects of prostaglandins on sexual behavior in boars. Pág.

2. General comments about prostaglandins.

Ministerio de la Pampa Argentina.(2007). Manejo integral del cerdo. Manejo Reproductivo del cerdo. Consultado el 26/10/20. Disponible en

<http://www.ciap.org.ar/Sitio/Archivos/C%20III%20Manejo%20integral%20del%20cerdo%20manejo%20reproductivo.pdf>

Montaño, M. (2020) ¿Cómo seleccionar sementales para una granja productora de cerdos para el rastro?. Unión Ganadera Regional de Jalisco. Consultado el 14/11/2020. Disponible en

http://www.ugrj.org.mx/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=541

Noakes, E., Parkinson, G. & England, W. (2001). Arthur's Veterinary Reproduction and

Obstetrics. London: W Saunders. In <https://www.elsevier.com/books/arthurs-veterinary-reproduction-and-obstetrics/9780702025563>

Okere, C., Joseph, A. & Ezekwe, M. (2005). Seasonal and genotype variations in libido, semen production and quality in artificial insemination boars. J. Anim. Vet. Adv. 4, 885-888. In

https://www.researchgate.net/publication/26591150_Seasonal_and_Genotype_Variations_in_Libido_Semen_Production_and_Quality_in_Artificial_Insemination_Boars

Oberlender, G., Murgas, L.D.S., Zangeronimo, M.G., Silva, A.C. & Pereira, L.J. (2012).

Influence of ejaculation time on sperm quality parameters in high performance boars. *J. Anim. Sci. Adv.* 2, 499-509. In

https://www.researchgate.net/publication/260365670_Influence_of_Ejaculation_Time_on_Sperm_Quality_Parameters_in_High_Performance_Boars

Pacheco, C. Joel I. (2011). Efecto de la Oxitocina y la GNRH sobre las características seminales y testosterona sérica en Alpacas machos. Disponible en

<http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/354/EPG692-00692-01.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Peinado, B., Poto A., Gadea J. & Ruiz S. (1998). Estudios preliminares en la crioconservación de espermatozoides porcino de raza chato murciano. *Archivos de zootecnia.* 47 (178-179): 308.

1era clase de porcinos. (s.f.). Recuperado de

https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fes.slideshare.net%2Fjesusrodhs%2F1era-clase-porcinos&psig=A0vVaw06Uumhw9YcEx9tFOh42T_2&ust=1606820129426000&source=images&cd=vfe&ved=2ahUKEwi21sPJartAhVdYlkKHfYiBMMQr4kDegUIARCuAQ

Pipan M. Mrkun J. Strajn B. Pavsic K. Kos J. Pisljar A. and Zrimsek. (2017). The influence of macro- and microelements in seminal plasma on diluted boar sperm quality. *Acta Vet Scand.* 59(11):1.

Parks, J., J. Graham. (1992). Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Theriogenology* 38: 209-222. Disponible en

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0093691X9290231F>

- Palmer CW, Amundson SD, Brito LFC, Waldner CL, Barth AD. (2004). Use of oxytocin and cloprostenol to facilitate semen collection by electroejaculation or transrectal massage in bulls, *Anim Reprod Sci*, 80, 213-223. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2003.07.003.
- Rodríguez, P. Franco, E. y Jiménez, C. (2008). Estandarización de la prueba para espectrofotometría en la medición de concentración de semen bovino, equino, porcino, ovino y canino. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 55(1):23.
- Rodríguez, J. (18 julio, 2003). Portal veterinario. Las prostaglandinas: estrategia tecnológica. Consultado el 01/12/2020. Disponible en <https://www.portalveterinaria.com/porcino%20/articulo/2726/las-prostaglandinas-estrategia-farmacologica.html>.
- Rodríguez, M. Heriberto, (S.f). Manejo Reproductivo del Berraco. Consultado el 14/11/2020. Disponible en https://www.archivo-anaporc.com/app/download/7235932111/29_REPRODUCCION.pdf?t=1524656765
- Singleton WL (2002) A guide to basic Boar Semen collection, evaluation and processing procedures.
- Szostak, B. & Sarzyńska, J., 2011. The influence of the breed and age on the libido of insemination boars. *Acta Sci. Pol., Zootechnica* 10, 103-110.
- Saravia F, Wallgren M, Nagy S, Johannisson A, Rodriguez-Martinez H (2004) Deep Freezing of concentrated boar semen for intrauterine insemination: effects on sperm viability. *Theriogenology* (Accepted for publication).
- Şen ÇÇ, Akcay E: The effect of oxytocin and prostaglandin hormones added to semen on stallion sperm quality. *Turk J Vet Anim Sci*, 39, 705-708, 2015. DOI: 10.3906/vet-1412-69

- Tsakmakidis, I; Lymberopoulos, A. & Khalifa, T. (2010) Relationship between sperm quality traits and field-fertility of porcine semen. *J. Vet. Sci*, 11(1), 151-154.
- Ungefroren H. Davidoff M & Ivell R 1994 Post-transcriptional block in oxytocin gene expression within the seminiferous tubules of the bovine testis. *Journal of Endocrinology*, 140: 63-72.
- Van Der Horst, G. & Maree, L. (2009) SpermBlue: A new universal stain for human and animal sperm which is also amenable to automated sperm morphology analysis. *B Biotech Histochem*, 84(6), 299-308.
- Veening JG, De Jong TR, Waldinger MD, Korte SM, Olivier B: The role of oxytocin in male and female reproductive behavior. *Eur J Pharmacol*, 753, 209-228, 2015. DOI: 10.1016/j.ejphar.2014.07.045
- Weindl A, Braun J & Rust M 1986 Immunohistochemical demonstration of oxytocin in the testis. *Acta Endocrinologica S274*: 105-106.
- Zhu, W. & Liu, X. (2000) Cryodamage to plasma integrity in head and tail region human sperm. *Asian J. Androl*, 2(4), 135-13

Anexos

Anexo A. Lugar de trabajo para la realización de la investigación

(Finca AnimalPro ubicada en el corregimiento de Urimaco en el municipio El Zulia.)



Anexo B. Verracos estudiados en la investigación

Reproductor A (Max)



Reproductor B (Samsón).



Anexo C. Equipos utilizados en la investigación



Anexo D. Materiales utilizados en la investigación

Anexo E. Uso de suero fisiológico y ampollas Oxitocina, Prostaglandina F2 Alfa

(como tratamientos para la obtención de las muestras las seminales.)



Suero fisiológico de fácil obtención muestras



Frascos de oxitocina y PGF2 α

Anexo F. Muestra de colecta y evaluación espermática



1. Muestra espermática recién colectado.

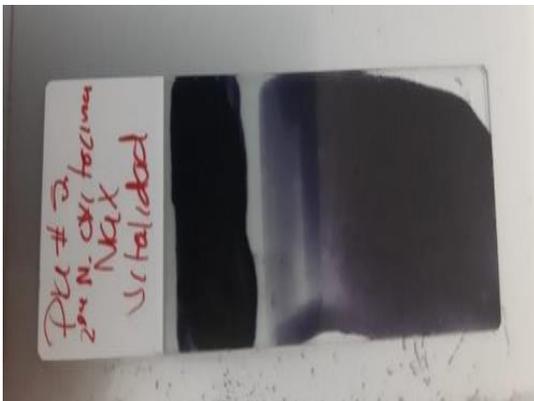


2 conteo espermático.

Anexo G. Conteo microscópico de Vitalidad y HOST



Evaluación de vitalidad espermática



Tinción con Eosina-Nigrosina.



Evaluación de vitalidad espermática

Vista muestra al microscopio de vivos y muertos.

Anexo H. Evaluación de membrana intacta (Test hipoosmótica HOST)

1 Vista de muestra microscópica (cola risada y no risada).