

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE UN SUPLEMENTO DIETARIO SOBRE LA
CALIDAD SEMINAL DE CERDOS REPRODUCTORES**

LUIS ANDRÉS SALAZAR CARABALLO

**UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
SINCELEJO – SUCRE, COLOMBIA
2016**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE UN SUPLEMENTO DIETARIO SOBRE LA
CALIDAD SEMINAL DE CERDOS REPRODUCTORES**

LUIS ANDRÉS SALAZAR CARABALLO

**Trabajo De Grado, modalidad Trabajo Investigativo, como requisito para
optar el título de Zootecnista**

Director:

**Diego Fernando Carrillo González
Médico Veterinario-Zootecnista MSc.**

Codirector:

**René Mauricio Patiño Pardo
Zootecnista Esp. MSc., Dr.**

**UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
SINCELEJO – SUCRE, COLOMBIA
2016**

Nota de aceptación:

Firma Del Jurado

Firma Del Jurado

Firma Del Jurado

Sincelejo, 10/11/2016

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, por su apoyo incondicional.

A las personas involucradas en la realización de este trabajo; a los profesores Diego Carrillo y René Patiño, por su guía y acompañamiento en el proceso de campo e investigativo. A la empresa PORCIGEN S.A.S y a su representante, Jeison Pérez, por su tiempo y colaboración prestadas durante el desarrollo del trabajo investigativo. Asimismo, a la empresa SOMEX S.A, por su experiencia y conocimientos que ayudaron a impulsar este experimento.

A la planta de profesores de la Facultad De Ciencias Agropecuarias – Zootecnia –, pilar fundamental en mi formación académica.

¡A todos, muchas gracias!

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	3
1. OBJETIVOS.....	7
1.1 OBJETIVO GENERAL	7
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
2. MARCO REFERENCIAL	8
2.1 ESPERMATOGÉNESIS	11
2.1.1 <i>Control hormonal de la espermatogénesis.</i>	11
2.1.2 <i>Fases de la espermatogénesis y maduración espermática.</i>	13
2.2 SEMEN Y PLASMA SEMINAL.....	15
2.2.1 <i>Espermatozoides.</i>	15
2.2.2 <i>Plasma seminal (PS).</i>	16
2.3 PRINCIPALES VARIABLES DE INTERÉS EN EVALUACIÓN SEMINAL	16
2.3.1 <i>Variables seminales paramétricas.</i>	16
2.3.2 <i>Variables seminales no paramétricas.</i>	18
2.4 PRINCIPALES MICROMINERALES QUE AFECTAN LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS (CALIDAD DE SEMEN) DEL VERRACO	19
2.4.1 <i>Zinc.</i>	19
2.4.2 <i>Selenio</i>	21
3. METODOLOGÍA	23
3.1 LOCALIDAD	23

3.2 ANIMALES	23
3.3 DESCRIPCIÓN DEL MANEJO GENERAL, SANITARIO, ALIMENTICIO (TRATAMIENTOS) Y DE COLECTA DE SEMEN	23
3.3.1 Manejo general.....	23
3.3.2 Manejo sanitario	23
3.3.3 Manejo alimenticio y tratamientos	24
3.3.4 Procesamiento de colecta del semen.....	24
3.3.4.3 Envasado de semen.....	26
3.4 VARIABLES PARA EVALUACIÓN SEMINAL.....	26
3.4.1 Variables seminales paramétricas.....	26
3.4.2 Variables seminales no paramétricas.....	29
3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	30
4. RESULTADOS.....	32
4.1 CUANTIFICACIÓN DE LAS VARIABLES SEMINALES PARAMÉTRICAS (VOLUMEN, MOTILIDAD, MORFOLOGÍA, CONCENTRACIÓN Y VITALIDAD) ...	32
4.1.1 Volumen seminal (ml).....	33
4.1.2 Motilidad espermática (%).....	33
4.1.3 Morfología espermática (%)	36
3.1.4 Concentración espermática ($\times 10^7$ espermatozoides/ml).	40
3.1.5 Vitalidad espermática (%).....	41
4.2 CUALIFICACIÓN DE LAS VARIABLES SEMINALES NO PARAMÉTRICAS (PH, COLOR Y ASPECTO).....	42
4.2.1. pH seminal (subjetivo).....	42
4.2.2 Color seminal (subjetivo).....	43

4.2.3 Aspecto seminal (subjetivo).....	43
5. ANÁLISIS DE RESULTADOS	45
5.1 ANÁLISIS DE LAS VARIABLES SEMINALES PARAMÉTRICAS (VOLUMEN, MOTILIDAD, MORFOLOGÍA, CONCENTRACIÓN Y VITALIDAD) ...	45
5.1.1 Volumen seminal.....	45
5.1.2 Motilidad espermática.....	51
5.1.3 Morfología espermática	55
5.1.4 Concentración espermática.....	58
5.1.5 Vitalidad espermática	64
5.2 ANÁLISIS DE LAS VARIABLES SEMINALES NO PARAMÉTRICAS (PH, COLOR Y ASPECTO)	66
5.2.1 pH seminal	66
5.2.2 Color seminal	67
5.2.3 Aspecto seminal.....	67
6. CONCLUSIONES	70
7. RECOMENDACIONES	71
BIBLIOGRAFÍA	72
ANEXOS	85

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Principales características del semen de verraco	19
Cuadro 2. Escala motilidad masal	27
Cuadro 3. Escala clasificación movimiento progresivo	28
Cuadro 4. Tratamientos (niveles de suplementación) evaluados, en el estudio.....	30
Cuadro 5. Número de animales usados, ciclos experimentales y tratamientos (niveles de suplementación) llevados a cabo, en el estudio	31

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1 Medias de tratamientos y valores de significación del contraste polinomial, de variables referentes a las características seminales de cerdos reproductores, recibiendo diferentes niveles de suplementación mineral	32
Tabla 2. Chi cuadrado de Pearson aplicado a la variable pH	42
Tabla 3. Chi cuadrado de Pearson aplicado a la variable color	43
Tabla 4. Chi cuadrado de Pearson aplicado a la variable aspecto	44

LISTA DE GRÁFICAS

	pág.
Gráfica 1. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre el volumen seminal, en cerdos reproductores	33
Gráfica 2. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre la motilidad espermática masal, en cerdos reproductores.....	34
Gráfica 3. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre la motilidad espermática individual, en cerdos reproductores	35
Gráfica 4. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre la motilidad espermática progresiva, en cerdos reproductores	36
Gráfica 5. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre el porcentaje de espermatozoides normales, en el eyaculado de cerdos reproductores	37
Gráfica 6. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre el porcentaje de espermatozoides con defectos de cabeza, en el eyaculado de cerdos reproductores	38
Gráfica 7. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre el porcentaje de espermatozoides con defectos de cola, en el eyaculado de cerdos reproductores	39
Gráfica 8. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre el porcentaje de espermatozoides con defectos de gota citoplasmática, en el eyaculado de cerdos reproductores	40
Gráfica 9. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre la concentración espermática, en cerdos reproductores	41
Gráfica 10. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre la vitalidad espermática, en cerdos reproductores	42
Gráfica 11. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre el color seminal, en cerdos reproductores.....	43
Gráfica 12. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre el aspecto seminal, en cerdos reproductores	44

LISTA DE ANEXOS

	pág.
ANEXO A.....	86
ANEXO B.....	88
ANEXO C.....	89

RESUMEN

Los microminerales más estudiados y de mayor influencia en los procesos reproductivos de los machos, son el zinc y el selenio. Estos microelementos tienen un impacto marcado en la espermatogénesis y, por tanto, repercuten en los distintos parámetros de calidad seminal (volumen, motilidad, concentración, etc.). La deficiencia de dichos microelementos, puede causar alteraciones en el desempeño reproductivo del animal.

El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de la inclusión de niveles crecientes de un suplemento mineral sobre la calidad seminal de cerdos adultos reproductores. El ensayo se desarrolló en la empresa PORCIGEN S.A.S, y en el laboratorio de la misma. Para la realización del estudio, se usaron 40 eyaculados provenientes de dos cerdos adultos. El experimento constó de tres ciclos de suplementación de 10, 20 y 30 g diarios en cada cerdo. Cada ciclo duró 55 días, obteniéndose 1 eyaculado/cerdo/semana (10 eyaculados/ciclo). Las colectas seminales se hicieron aplicando el método de la mano enguantada. Inmediatamente después de cada colecta, el semen fue dispuesto en el laboratorio para la realización de los análisis de las variables paramétricas y no paramétricas. Los resultados evidenciaron que el volumen seminal, la motilidad espermática (masal, individual, progresiva), la morfología (colas) y la vitalidad, mostraron valores de probabilidad asociados a un efecto lineal ($p < 0,05$) relacionado a un incremento en el nivel de suplementación. La morfología (normales) y la concentración espermática presentaron valores de probabilidad asociados a un efecto cuadrático ($p < 0,05$), del nivel de suplementación. Por otro lado, la morfología (cabezas, colas citoplasmáticas) no fue afectada por los tratamientos evaluados ($p > 0,05$). Finalmente, se evidenció un efecto de los niveles de suplementación sobre el aspecto del semen ($p < 0,05$), pero no sobre el pH y color ($p > 0,05$). En base a los resultados, se puede concluir que la suplementación dietaria con microminerales puede resultar en un incremento de ciertas características o parámetros del semen fresco como volumen, motilidad, morfología, concentración y vitalidad seminal, sin detrimento de otros parámetros relacionados con la calidad eyaculado como, por ejemplo, pH, color y aspecto.

Palabras clave: porcinos, reproducción, semen, zinc, selenio, microminerales

ABSTRACT

The most studied microminerals, and with major influence in the reproductive process of the male, are zinc and selenium. These microelements have a high impact in the spermatogenesis and, therefore, have repercussions in the different seminal quality parameters (volume, motility, concentration, etc.). Deficiencies of such microelements, may cause alterations in the reproductive performance of the animal.

The objective of this investigation was evaluating the effect of crescent inclusion levels of a mineral supplement, on the seminal characteristics of boars. The essay was developed in PORCIGEN S.A.S company, and in the laboratory of its facility. It was used 40 ejaculated of two adult pigs. The experiment was conducted in three cycles of 10, 20 and 30 g, daily, in every pig. Every cycle had a duration of 55 days, obtaining 1 ejaculate/pig/week (10 ejaculates/cycle). The seminal collects were made using the hand gloved method. Immediately after the collect was made, the semen was disposed in the laboratory for the realization of the parametric and non-parametric analysis. The results evidenced that seminal volume, spermatoc motility (gross, individual, progressive), morphology (tails) and vitality, showed probability values associated to lineal effect ($p < 0,05$), related to an increase in supplementation level. The morphology (normal)s and spermatoc concentration exhibited probability values associated to a quadratic effect ($p < 0,05$) of supplementation level. Otherwise, the morphology (heads, cytoplasmic droplets) didn't was affected by the treatments. Finally, it was evidenced an effect in the supplementation levels in the semen aspect ($p < 0,05$), but in the semen pH and color ($p > 0,05$). Based on our data, it can be concluded that dietary micromineral supplementation can result in an increase of some parameters of the raw semen like volume, motility, morphology, concentration and vitality, without detriment of another parameters related with the seminal quality like, for example, pH, color and aspect.

Keywords: swine, reproduction, semen, zinc, selenium, microminerals

INTRODUCCIÓN

Uno de los métodos para hacer frente a la demanda constante y creciente de proteína de origen animal es la inseminación artificial (IA)¹. La IA ha jugado un papel importante en la tecnificación de la producción porcina, ya que ha permitido la utilización masiva de reproductores con excelentes características fenotípicas, genéticas y seminales²; la inseminación IA ha ayudado a mejorar el perfil genético porcino, de los países en vías de desarrollo³. A pesar de lo anterior, los cerdos destinados a monta o aquellos cuyo semen es colectado para IA, conforman sólo una pequeña parte de la población total porcina. Esto explica, en parte, la limitada cantidad de información sobre prácticas nutricionales en cerdos para reproducción⁴. En consecuencia, en las granjas comerciales, el verraco reproductor es el animal que menos atención recibe, sin conocer o ponderar la importancia y el impacto que tendría en la producción, una baja en su rendimiento⁵; los verracos destinados a los centros de inseminación artificial (CIA), cubren un gran número de hembras. Cualquier problema que afecte a la actividad reproductiva, y que no se detecte con suficiente antelación, repercutirá negativamente tanto en la productividad del CIA, como de la granja⁶.

La eyaculación porcina, caracterizada por su gran volumen y contenido en células espermáticas, moviliza la mayor parte de las reservas disponibles, cuando los eyaculados son sucesivos, observándose una evolución de los parámetros productivos (volumen, concentración, motilidad, acrosomía, etc.) en función de los límites de empleo, bien por monta natural o por recogidas de semen, si se utiliza la

¹ RISCHKOWSKY, B. y PILLING, D. La Situación De Los Recursos Zoogenéticos Mundiales Para La Alimentación Y La Agricultura. FAO, 2010. 555 p.

² MEDINA, V.; PÉREZ, V. y CRUZ, P. Efecto De La Incubación Postdescongelación Sobre La Calidad De Espermatozoides Crioconservados De Cerdo. En: Orinoquía. Diciembre, 2008. vol. 12, no. 2, p. 149-161.

³ TECHAKUMPHU, Mongkol *et al.* Improvement Of Semen Quality By Feed Supplement And Semen Cryopreservation In Swine. En: Success In Artificial Insemination - Quality Of Semen And Diagnostics Employed. LEMMA, Alemayehu, 2013. p. 17-37.

⁴ WILSON, Mark; ROZEBOOM, Kevin y CRENSHAW, Thomas. Boar Nutrition For Optimun Sperm Production. En: Advances In Pork Production. Enero, 2004. vol. 15, p. 295-306.

⁵ VELÁSTEGUI, Mónica y TINILLO, David. Evaluación Espermática En Verracos Reproductores Mediante La Utilización De Suplementos: Ácidos omega 3 – 6 Con selenio Orgánico y Probióticos Con vitamina E; En La Finca “La Joya”, Parroquia Belisario Quevedo, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi. Previa obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista. Salache: Universidad Técnica De Cotopaxi, 2011. 147 p.

⁶ ALBA, Carmen de. Protocolo Práctico Para La Valoración De Verracos Destinados A La Producción De Dosis Seminales. En: Avances Tecnología Porcina. Mayo, 2010. vol. 7, no. 5, p. 34-39.

técnica de IA⁷. En consecuencia, una dieta cuantitativa o cualitativamente deficiente más un elevado número de extracciones seminales o montas, puede derivar en una disminución de la producción y calidad seminal, así como un descenso de la libido del animal. Entonces, se necesitaría un mayor número de inseminaciones o montas para obtener un número de camadas más abundantes y menos hembras repetidoras en la explotación porcina⁸. Por ende, antes de usar un verraco sobre un grupo de hembras, es muy importante no sólo saber si éste es fértil sino también saber qué nivel de fertilidad tiene, especialmente cuando el verraco va a ser usado en programas de IA, donde un alto número de hembras va a ser inseminado con su semen preservado⁹.

La constante necesidad por mejorar la productividad en los sementales de las explotaciones pecuarias, ha llevado al establecimiento de tratamientos para mejorar la calidad del semen. Algunos pueden ser aplicados a los sementales y otros al eyaculado¹⁰.

La calidad del semen depende de diversos factores como la alimentación, época del año y la salud del verraco¹¹. Siendo la alimentación, uno de los factores más críticos¹².

Se ha encontrado que suplementos dietarios con antioxidantes, vitaminas y/o minerales, pueden incrementar la libido y las características del semen en cerdos reproductores. Suplementos alimenticios ricos en ácidos grasos polinsaturados, vitaminas y minerales pueden mejorar la motilidad, vitalidad y el número de

⁷ RIOPÉREZ, Juan. Influencia Del Estrés Del Verraco En La Gestión. En: Mundo Ganadero. Febrero, 2000. No. 119, p. 30-35.

⁸ VELÁSTEGUI, Mónica y TINILLO, David. Evaluación Espermática En Verracos Reproductores Mediante La Utilización De Suplementos: Ácidos omega 3 – 6 Con selenio Orgánico y Probióticos Con vitamina E; En La Finca “La Joya”, Parroquia Belisario Quevedo, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi. Previa obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista. Salache: Universidad Técnica De Cotopaxi, 2011. 147 p.

⁹ RODRÍGUEZ, Heriberto. Evaluación De La Calidad Seminal En El verraco. En: Avances En Tecnología Porcina. 2005. vol. 2, no. 7-8, p. 43-53.

¹⁰ BECERRIL, M. *et al.* Uso Del Análisis Gráfico En La Evaluación De La Movilidad Espermática. En: Los Porcicultores y su entorno. 2014. no. 89, p.1-5.

¹¹ TECHAKUMPHU, Mongkol *et al.* Improvement of Semen Quality by Feed Supplement and Semen Cryopreservation in Swine. En: Success in Artificial Insemination - Quality Of Semen And Diagnostics Employed. LEMMA, Alemayehu, 2013. p. 17-37.

¹² LECHOWSKI, Jerzy. Effect Of Vitamin C On Semen Quality Of Duroc Breed Boars And Their Crossbreds With Hampshire And Pietrain. En: ANNALES. 2009 vol. 27, no. 2, p. 12-18.

espermatozoides por eyaculado. Sin embargo, el éxito en los suplementos alimenticios depende, también, del desempeño inicial del cerdo¹³.

Por tanto, la dieta para verracos debe ir fortificada con suplementos (minerales, vitaminas) relacionados con procesos reproductivos¹⁴; oligoelementos tales como el zinc, cobre y selenio están presentes en muy bajas cantidades en la dieta de verracos, sin embargo, cumplen un papel fundamental en muchos procesos fisiológicos^{15,16}. En este sentido, una mala calidad del semen (escaso número de espermatozoides/ml o un aumento de formas anormales) o dificultades para la monta (lesiones en los aplomos o falta de integridad en las pezuñas) pueden deberse a una mala formulación en vitaminas, macrominerales y oligoelementos, ya que en muchas ocasiones se utiliza el alimento de gestación, el de lactación o incluso el de cebo para alimentar a los verracos y, lo que es más grave, ello se hace independientemente de la edad del animal, la época del año o de la actividad del mismo¹⁷.

Los cerdos reproductores normalmente reciben alimento destinado a otras fases productivas, como por ejemplo gestación, es decir que no son formulados específicamente para esta categoría animal, ni para contrarrestar el posible efecto de otros factores que puedan interferir en desempeño deseado; se cree que el alimento destinado para cerdas en gestación es suficiente para cubrir las necesidades energéticas, proteicas, y de aminoácidos esenciales y no esenciales, de los verracos. Sin embargo, la restricción de nutrientes impuesta a los cerdos reproductores es usualmente más severa que aquellas para cerdas gestantes y puede limitar la ingestión diaria de micronutrientes, como vitaminas y minerales, requeridos para un óptimo desempeño reproductivo¹⁸. En otras palabras, una inadecuada disposición de nutrientes, afectará negativamente la calidad seminal del

¹³ GARCÍA-CONTRERAS, A. *et al.* Alimentación Práctica Del Cerdo. En: Revista Complutense de Ciencias Veterinarias. 2012. vol. 6, no. 1, p. 21-50.

¹⁴ VELÁSTEGUI, Mónica y TINILLO, David. Evaluación Espermática En Verracos Reproductores Mediante La Utilización De Suplementos: Ácidos omega 3 – 6 Con selenio Orgánico y Probióticos Con vitamina E; En La Finca “La Joya”, Parroquia Belisario Quevedo, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi. Previa obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista. Salache: Universidad Técnica De Cotopaxi, 2011. 147 p

¹⁵ LÓPEZ, Alfonso *et al.* Effect of Organic Selenium in the Diet on Sperm Quality of Boars. En: Reproduction In Domestic Animals. 2010. vol. 45, p. 297-305.

¹⁶ ESTIENNE, Mark y HARPER, Allen. Maximizing Boar Productivity With Optimum Trace Mineral Supplementation. 2005.

¹⁷ QUILES, A. La Nutrición Del Verraco. En: Revista De Medicina Veterinaria Cría Y Salud. Febrero, 2008. p. 24-30.

¹⁸ AUDET, I. *et al.* Effect Of Vitamin Supplements On Some Aspects Of Performance, Vitamin Status, And Semen Quality In Boars. En: Journal Of Animal Science. 2004. vol. 82, p. 626-633.

animal. Tal disminución en esos parámetros, causará deficiencias reproductivas y pérdidas económicas a la explotación.

Entonces, para el proceso biológico productivo y reproductivo, se debe garantizar un estado nutricional adecuado para la producción de semen de alta calidad. Esto traerá como consecuencia verracos reproductores que nos provean de semen con alto contenido de espermatozoides viables por colecta, para obtener pajillas o montas que aseguren alcanzar nuestros objetivos reproductivos¹⁹. Además, una correcta nutrición ayudará a disminuir la variación de la calidad seminal del animal, en el tiempo²⁰.

¹⁹ VELÁSTEGUI, Mónica y TINILLO, David. Evaluación Espermiática En Verracos Reproductores Mediante La Utilización De Suplementos: Ácidos omega 3 – 6 Con selenio Orgánico y Probióticos Con vitamina E; En La Finca “La Joya”, Parroquia Belisario Quevedo, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi. Previa obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista. Salache: Universidad Técnica De Cotopaxi, 2011. 147 p.

²⁰ VELÁSQUEZ, Carlomagno. Factores Que Influyen En La Calidad Y Principales Características Seminales Del verraco. Huacho, Perú: Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, 2014. 13 p.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la inclusión de niveles crecientes de un suplemento mineral sobre la calidad seminal de cerdos adultos reproductores

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Ñ1 Cuantificar las variables seminales paramétricas volumen, motilidad, morfología, concentración y vitalidad, de eyaculados de cerdos, sometidos a diferentes niveles de suplementación dietaria de tipo mineral
- Ñ1 Cualificar las variables seminales no paramétricas pH, color y aspecto, de eyaculados de cerdos, sometidos a diferentes niveles de suplementación dietaria de tipo mineral

2. MARCO REFERENCIAL

La biotecnología de la reproducción porcina incluye el conjunto de técnicas derivadas de la biología celular y molecular destinadas a garantizar la bioseguridad y la trazabilidad reproductivas, incrementar el rendimiento reproductivo y asegurar la reproducción asistida²¹. Por tanto, una de las formas de incrementar la productividad de cualquier empresa porcina consiste en el uso de genética mejorada. El uso de machos reproductores de buen potencial productivo garantizará, en parte, esta eficiencia. Sin embargo, algunos productores optarán, bien por condiciones económicas o de manejo, la implementación de IA en sus explotaciones porcinas; la fertilidad de las piaras porcinas depende en gran medida del buen estado del verraco y/o del semen usado en la IA.

Una de las ventajas de la IA, comparado con la monta natural, es que la IA reduce el riesgo de enfermedades de transmisión sexual, permite la entrada de genes superiores a las piaras y, adicionalmente, mejora la rentabilidad por cada eyaculado de cerdo. Además, la IA se ha convertido en una herramienta útil en países con un sistema de producción intensivo²².

La evaluación seminal es un criterio a tomar en cuenta para lograr un conocimiento básico de la eficiencia reproductiva del semen del macho. El examen de semen debe ser complementado con otras estimaciones, tales como capacidad reproductiva, estado físico y fisiológico, y la salud de los genitales²³.

Un cuidadoso análisis de resultados de los eyaculados da como resultado un criterio necesario para la selección de eyecciones con alta capacidad de fertilización. Eyaculados analizados desde puntos de vista como: color, olor, viscosidad, pH, concentración, motilidad, anomalías, etc., son usados como criterio unificado para la obtención de resultados. Estos parámetros espermáticos varían de un individuo a otro, siendo influenciados por muchos agentes exógenos (alimentación, régimen de utilización en reproducción, confort, estrés, etc.) o agentes endógenos (genética, endocrinólogos, etc.). La calidad espermática puede ser modificada tanto por

²¹ BONET, Sergi *et al.* Biotecnología De La Reproducción Porcina: Estado actual y Futuro De Las Técnicas De Análisis Seminal. En: Anaporc: Revista de la Asociación de Porcinocultura Científica. 2006. vol. 6, no. 63, p. 18-23.

²² LÓPEZ, Alfonso. Fresh Boar Semen: Quality Control And Production. Disertación presentada para optar el título de Doctor en Ciencias Veterinarias. Bélgica: Universiteit Gent. 2012. 189 p.

²³ HERNÁNDEZ, Juan. Variación Anual De La Calidad Del Semen Porcino Y Su Relación Con Los Parámetros Reproductivos. Tesis como requisito para obtener el grado de maestro en ciencias de la producción animal. Marín, Nuevo León: Universidad Autónoma De Nuevo León, 1998. 92 p.

factores mencionados, con influencia en la actividad espermatogénica de los testículos, como por enfermedades prostáticas²⁴.

En las explotaciones porcinas del trópico existe muy poca información sobre las características seminales y sobre sus cambios a través del año²⁵. Esto es evidenciado, en gran parte, por la relativa poca investigación lograda para establecer parámetros nutricionales para cerdos reproductores; los cerdos destinados a monta y/o extracción de semen para IA, comprenden una porción relativamente pequeña de toda la población porcina y esto explica, en parte, la limitada cantidad de información sobre requerimientos nutricionales y prácticas de alimentación de estos animales²⁶.

En la práctica, se asume que el alimento usado para cerdas en gestación es suficiente para cubrir los aportes habituales de vitaminas y minerales de la dieta diaria de un verraco, ya que se tiene la idea que cubren las necesidades más determinantes del animal y previenen la mayoría de las enfermedades carenciales que inciden sobre su fertilidad. No obstante, ante una intensificación de empleo o un agotamiento progresivo por alimentación carencial o desequilibrada, se hace necesario la administración de aditivos fisiológicos a modo de *flushing* (vitaminas C, E, Zn, Se, etc.)²⁷.

La variación en la calidad seminal del verraco es multifactorial. Está relacionada con la edad, línea genética, frecuencia de colección, estado nutricional y de salud de los reproductores, estimulación sexual antes de la colecta y la estación del año. Estos factores influyen de manera directa e indirecta en las principales características seminales, como el volumen del eyaculado, pH, concentración espermática, motilidad, funcionalidad de la membrana celular, integridad del acrosoma y presencia de espermatozoides anormales²⁸. Debido a que la espermatogénesis

²⁴ FRUNZ, I.; CERNESCU, H. y KORODOI, G. Physical And Chemical Parameters Of Boar Sperm. En: *Lucr ri Stiinflice Medicin Veterinar*. 2008. vol. 41, p. 631-640.

²⁵ HENAO, Guillermo *et al.* Efecto Del Clima Sobre Las Características Seminales De Porcinos En Una Zona De Bosque Húmedo Tropical. Diciembre, 2004. 14 p.

²⁶ RIOPÉREZ, Juan. Influencia Del Estrés Del Verraco En La Gestión. En: *Mundo Ganadero*. Febrero, 2000. No. 119, p. 30-35.

²⁷ WILSON, Mark; ROZEBOOM, Kevin y CRENSHAW, Thomas. Boar Nutrition For Optimun Sperm Production. En: *Advances In Pork Production*. Enero, 2004. vol. 15, p. 295-306.

²⁸ VELÁSQUEZ, Carlomagno. Factores Que Influyen En La Calidad Y Principales Características Seminales Del Verraco. Huacho, Perú: Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, 2014. 13 p.

puede ser afectada adversamente por estos factores, una alimentación apropiada se considera de vital importancia para la producción de semen de buena calidad²⁹. Un eyaculado con un incremento de las anormalidades espermáticas es indicativo de una fertilidad disminuida en muchas especies, incluyendo al cerdo doméstico³⁰, afectando negativamente la calidad seminal del animal. Tal disminución en los parámetros causará deficiencias reproductivas y pérdidas económicas a la empresa; la calidad del semen es extremadamente importante pues cada cerdo participa en un elevado número de servicios durante el año, entonces, un buen examen de semen, provee una evaluación confiable del donante. Además, la evaluación seminal puede ayudar a encontrar el origen de causas de infertilidad³¹.

Por otro lado, los cerdos confinados para extracción de semen, son alimentados con raciones comerciales preparadas para cerdas gestantes, con el fin de que se le aporten los nutrientes suficientes para su vida productiva. Sin embargo, las restricciones alimenticias que se le imponen al cerdo, debido al uso de un solo tipo de alimento durante toda su vida productiva, pueden llegar a limitar el acceso a micronutrientes (minerales, vitaminas) requeridos para un óptimo desempeño productivo³². Las consecuencias de esto pueden verse reflejadas en alteraciones en la libido y en las características de los eyaculados, en los que se observa menor volumen, disminución de la movilidad y aumento de las anormalidades espermáticas que reducen su fertilidad. Por lo tanto, el tipo de alimento comúnmente usado (cerdas en gestación), aunado a otros factores (manejo, genética, época del año), pueden ser causantes de problemas a nivel productivo y reproductivo de animales mantenidos en instalaciones de tipo convencional, con sistemas de control escaso, como es lo más común en las producciones porcinas de la región. Bajo este escenario es importante buscar medidas que minimicen el efecto adverso de cualquier factor que impida alcanzar las metas mínimas en términos de parámetros productivos³³, ya que este tipo de sistemas, altamente dependiente de insumos externos, presentan una estructura de costos muy sensible; cualquier inconveniente que impida alcanzar los logros se verá reflejado en la economía de este tipo de

²⁹ LECHOWSKI, Jerzy. Effect Of Vitamin C On Semen Quality Of Duroc Breed Boars And Their Crossbreds With Hampshire And Pietrain. En: ANNALES. 2009 vol. 27, no. 2, p. 12-18.

³⁰ QUINTERO-MORENO, Armando *et al.* Valoración Morfométrica De La Cabeza Del Espermatozoide Del Cerdo Doméstico Según Su Edad. En: Revista científica Facultad De Ciencias Veterinarias. Universidad Zulia (FCV-LUZ). Marzo, 2009. vol. 19, no. 1, p. 153-158.

³¹ PETROCELLI, Hugo; BATISTA, Carlos. y GOSALVEZ, Jaime. Seasonal Variation In Sperm Characteristics In Southern Uruguay. En: Revista Brasileira De Zootecnia. Enero, 2015. vol. 44, no. 1, p. 1-7.

³² AUDET, I. *et al.* Effect Of Vitamin Supplements On Some Aspects Of Performance, Vitamin Status, And Semen Quality In Boars. En: Journal Of Animal Science. 2004. vol. 82, p. 626-633.

³³ OBERLENDER, G. *et al.* Comparison Of Two Different Methods For Evaluating Boar Semen Morphology. En: Archivos Medicina Veterinaria. 2012. vol. 44, p. 201-205.

actividad. La suplementación se ha planteado como una alternativa que permite contrarrestar el efecto de la carencia de nutrientes (minerales, vitaminas) sobre el animal^{34,35,36,37,38}.

2.1 ESPERMATOGÉNESIS

La espermatogénesis es un proceso largo y dirigido en el que las células madre diploides, ubicadas dentro de los túbulos seminíferos (espermatogonias), se dividen por mitosis para mantener su número y que, de forma cíclica, generan progenie que sufren progresivas divisiones meióticas hasta diferenciarse en espermátidas haploides, que se liberan como espermatozoides³⁹. La espermatogénesis, en el verraco, lleva alrededor de 35-40 días⁴⁰, y la maduración y transporte desde el testículo al epidídimo, alrededor de 16 días⁴¹. La totalidad del proceso lleva alrededor de 50-55 días.

2.1.1 Control hormonal de la espermatogénesis. El sistema reproductivo del macho está regulado por mecanismos de retroalimentación entre el hipotálamo, la adenohipófisis y los testículos. El hipotálamo sintetiza y secreta la Hormona Liberadora De La Gonadotropina (GnRH). Secretada de una forma pulsátil, la GnRH actúa directamente en las células gonadotrópicas, en la adenohipófisis. A su estimulación por la GnRH, las células de la adenohipófisis, sintetizan y secretan las

³⁴ ESTIENNE, Mark y HARPER, Allen. Maximizing Boar Productivity With Optimum Trace Mineral Supplementation. 2005.

³⁵ WILSON, Mark; ROZEBOOM, Kevin y CRENSHAW, Thomas. Boar Nutrition For Optimun Sperm Production. En: Advances In Pork Production. Enero, 2004. vol. 15, p. 295-306.

³⁶ KOLODZIEJ, Anita y JACYNO, Eugenia. Effect Of Dietary Selenium And Vitamin E Supplementation On Reproductive Performance Of Young Boars. En: Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Animal Husbandry. 2004. vol. 7, no. 1.

³⁷ LÓPEZ, Alfonso *et al.* Effect of Organic Selenium in the Diet on Sperm Quality of Boars. En: Reproduction In Domestic Animals. 2010. vol. 45, p. 297-305.

³⁸ PETROCELLI, Hugo; BATISTA, Carlos. y GOSALVEZ, Jaime. Seasonal Variation In Sperm Characteristics In Southern Uruguay. En: Revista Brasileira De Zootecnia. Enero, 2015. vol. 44, no. 1, p. 1-7.

³⁹ ROMANO, J. y BRINSKO, S. Reproductive Physiology Of The Male. En: KLEIN, B. (ed), Cunningham's Textbook Of Veterinary Phisiology. 5 ed. St. Louis, Missouri: Elsevier-Saunders, 2013. p. 451-459.

⁴⁰ SOLIS, Karla. Evaluación De La Calidad De Semen De Verracos Utilizados Para Inseminación Artificial Consumiendo Spermax Forte®. Proyecto especial presentado como requisito para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras: Universidad Zamorano, 2007. 22 p.

⁴¹ GARNER, D. y HAFEZ, E. Espermatozoides y Plasma Seminal. En: HAFEZ, E; HAFEZ, B (eds), Reproducción E Inseminación Artificial. 7 ed. USA: McGraw-Hill, 2002. p. 98-112.

gonadotropinas FSH (actúa sobre las células de Sertoli) y LH (actúa sobre las células de Leydig)⁴².

La función principal de las células de Leydig, las cuales están ubicadas en el intersticio (fuera de los túbulos seminíferos), es la producción de testosterona. El desarrollo y mantenimiento de la espermatogénesis es dependiente de la producción de testosterona. También desempeñan un papel en el desarrollo de características masculinas. La secreción de testosterona es regulada por un mecanismo de retroalimentación entre la testosterona y la LH: aumento en la secreción de LH, es seguida por un aumento en la testosterona. Este aumento ocurre de 30 a 60 minutos después del pico de LH. Estos altos niveles de testosterona duran de una a varias horas. Niveles elevados de testosterona, son inhibidos por la LH por un mecanismo de retroalimentación negativa sobre la hipófisis y, como consecuencia, los niveles de testosterona decaen. La testosterona se mueve desde las células de Leydig hacia los túbulos seminíferos, y al plasma sanguíneo. Altos niveles de testosterona son necesarios para mantener la espermatogénesis⁴³.

Dentro de los testículos, la LH se enlaza a receptores de membrana de las células de Leydig y las estimula a convertir colesterol en testosterona. Los andrógenos sintetizados, se difunden a la sangre y a la linfa, donde se enlazan a la Proteína Ligadora De Andrógenos (*Androgen Binding Protein, ABP*), producida por las células de Sertoli. Como se mencionó, grandes concentraciones, a nivel local, de andrógenos son esenciales para llevar a cabo una normal espermatogénesis. El ABP mejora la acumulación y concentración de testosterona y dihidrotestosterona dentro de los túbulos seminíferos y en el intersticio de los testículos. Dentro de los testículos, las células objetivo de la testosterona son las células de Sertoli, las cuales brindan soporte al desarrollo de las células espermáticas. El ABP también facilita el transporte de andrógenos desde los testículos, al epidídimo, donde estas hormonas influyen el tránsito epididimal y la futura maduración del espermatozoide⁴⁴.

Las células de Sertoli poseen actividades secretorias y reguladoras controladas por la Hormona Folículo Estimulante (FSH). Las células de Sertoli poseen receptores en la membrana para la FSH, así como también receptores citoplasmáticos y nucleares de andrógenos. La testosterona y la FSH, en estas células, estimulan la secreción de ABP, inhibina, activina, estrógenos y otros productos envueltos en la

⁴² ROMANO, J. y BRINSKO, S. *Reproductive Physiology Of The Male*. En: KLEIN, B. (ed), *Cunningham's Textbook Of Veterinary Physiology*. 5 ed. St. Louis, Missouri: Elsevier-Saunders, 2013. p. 451-459.

⁴³ TAUSON, A. *Reproduction*. En: BACH, K.; JØRGEN, N.; DAMGAARD, H. BORG, BENT (eds), *Nutritional Physiology Of Pigs With Emphasis On Danish Production Conditions*. 2012. p. 1-36.

⁴⁴ ROMANO. Op. Cit., p. 451-459.

transferencia de nutrientes a las células germinales, en la meiosis, maduración del espermatocito, espermiación y en la función de las células de Leydig. En este sentido, las células de Sertoli y las de Leydig, presumiblemente, se comunican de una forma paracrina; la producción de testosterona por las células de Leydig es estimulada por un producto liberado por las células de Sertoli (probablemente inhibina), estimulando la esteroidogénesis en las células de Leydig⁴⁵. Por otro lado, en las células de Sertoli, la testosterona producida por las células de Leydig, es convertida en estrógenos. Los estrógenos están presentes en el plasma y los testículos, pero no se ha logrado descifrar si es que tiene un papel regulatorio en la secreción de gonadotropinas (LH y FSH) o la producción local de hormonas, a diferencia de otras especies⁴⁶. La principal función de la FSH, en los testículos, es promover el desarrollo y supervivencia de las células germinales e incrementar la su capacidad espermatogénica. Otra función de las células de Sertoli es producir inhibina y activina. El papel de estas dos hormonas es regular la producción de FSH por activación o inhibición de la glándula pituitaria, vía retroalimentación positiva o negativa, según el caso⁴⁷.

La espermatogénesis no puede ser mantenida sólo con testosterona, y requiere de las gonadotropinas FSH y LH. La LH es necesaria para la producción de testosterona y la FSH, por su función en las células de Sertoli, pues influye sobre la meiosis de las células germinales⁴⁸.

2.1.2 Fases de la espermatogénesis y maduración espermática. La espermatogénesis, para su estudio, se divide en tres fases basadas en consideraciones funcionales⁴⁹:

2.1.2.1 La fase proliferativa. Después de la pubertad y durante la vida reproductiva del macho, las espermatogonias se dividen de una manera rápida y sucesiva por mitosis: tipo AO (células tronco), las AI-A4, las intermedias, y las de tipo B. Todas ellas representan estadios sucesivos del desarrollo de la espermatogonia.

⁴⁵ ROMANO, J. y BRINSKO, S. Reproductive Physiology Of The Male. En: KLEIN, B. (ed), Cunningham's Textbook Of Veterinary Physiology. 5 ed. St. Louis, Missouri: Elsevier-Saunders, 2013. p. 451-459.

⁴⁶ TAUSON, A. Reproduction. En: BACH, K.; JØRGEN, N.; DAMGAARD, H. BORG, BENT (eds), Nutritional Physiology Of Pigs With Emphasis On Danish Production Conditions. 2012. p. 1-36.

⁴⁷ OLIVEIRA, P. y ALVES, M. Sertoli Cell Metabolism And Spermatogenesis. Switzerland: Springer, 2015. 98 p. ISBN 978-3-319-19790-6.

⁴⁸ TAUSON. Op. Cit., p. 1-36.

⁴⁹ MESQUITA, M. y FRITSCH, M. Gametogénesis. En: GALINA, C.; VALENCIA J. (eds), Reproducción De Los Animales Domésticos. 3 ed. México: Limusa, 2008. p. 43-58.

2.1.2.2 La fase meiótica. El material genético se recombina y es segregado. El espermatocito primario realiza su primera división meiótica o reduccional para dar origen a los espermatocitos secundarios. Ésta es una fase prolongada donde ocurren los cambios de material genético entre los pares de cromosomas. Las fases de esta división son iguales a las que ocurren en la meiosis de la hembra. Durante este período no sólo se realiza la reducción en el número de cromosomas somáticos, sino que también los cromosomas sexuales se separan de manera que un espermatocito secundario recibe el cromosoma X y el otro el cromosoma Y. En la segunda división meiótica de cada espermatocito secundario, se producen dos espermátidas.

2.1.2.3 La fase de diferenciación o fase espermiogénica. Consiste en la transformación de las espermátidas en espermatozoides estructuralmente equipados para fertilizar al óvulo. Éstos son cambios que ocurren cuando las espermátidas están en contacto con el citoplasma de la célula de Sertoli. Durante este proceso comienzan a diferenciarse las partes que constituyen el espermatozoide, primero la cabeza (formada casi exclusivamente por el núcleo), el acrosoma o capuchón cefálico, el cuello y la cola (que es la porción motriz del espermatozoide).

2.1.2.4 Maduración espermática. Se lleva a cabo en el tracto epididimal. Es un proceso que incluye una serie de modificaciones, que el esperma testicular experimenta, para adquirir la motilidad progresiva y la capacidad de fertilización (la capacidad de reconocer y enlazarse al oocito). Entre las mayores modificaciones experimentadas por el esperma, caben resaltar⁵⁰:

-)] Desplazamiento de la gota citoplasmática desde la pieza conectante, hasta el axonema y su posterior separación.
-)] Reducción de la protuberancia acrosomal, en sus límites laterales y apicales.
-)] Condensación de la cromatina, a través de la formación de enlaces disulfuro entre moléculas de cisteína, de las protaminas, lo que otorga mayor rigidez y menor flexibilidad a la cabeza del esperma.
-)] Estabilización de las fibras densas externas, lo que aumenta la dureza del axonema y la resistencia a las fuerzas de choque de la cola.
-)] Cambios en la naturaleza y distribución de las glicoproteínas de la membrana, formación de dominios membranales ricos en transporte de proteínas y formación

⁵⁰ BONET, S.; GARCÍA, E. y SEPÚLVEDA, L. The Boar Reproductive System. En: BONET, S.; CASAS, I.; HOLT, W.; YESTE, M. (eds), Boar Reproduction: Fundamentals And New Biological Trends. Ed. Springer, 2013. p. 65-107.

de receptores de membrana específicos, lo que permite el reconocimiento del esperma, en la zona pelúcida, del oocito.

-)] Cambios en los patrones de movimiento durante el tránsito epididimal y, a la final, adquisición de la motilidad lineal progresiva.

Por último, son almacenados en la cola del epidídimo en forma concentrada e inmóviles. La completa duración del proceso es de 12-14 días. El esperma adquirirá su capacidad fertilizante al diluirse con el plasma seminal, en el eyaculado⁵¹.

2.2 SEMEN Y PLASMA SEMINAL

El semen es la suspensión celular líquida que contiene los gametos masculinos (los espermatozoides) y las secreciones de los órganos accesorios del aparato reproductor masculino. La porción líquida de dicha suspensión, que se forma durante la eyaculación, se conoce como plasma seminal. El plasma seminal contiene concentraciones excepcionalmente grandes de ácido cítrico, ergotioneína, fructosa, gliceril fosforilcolina y sorbitol. También están presentes cantidades apreciables de ácido ascórbico, aminoácidos, péptidos, proteínas, lípidos, ácidos grasos y numerosas enzimas, además de constituyentes antimicrobianos como inmunoglobulinas de la clase IgA. Asimismo, se han detectado en el plasma seminal una variedad de sustancias hormonales, incluyendo andrógenos, estrógenos, prostaglandinas, FSH, LH, una sustancia similar a la gonadotropina coriónica, hormona del crecimiento, insulina, glucagón, prolactina, relaxina, hormona liberadora tiroidea y encefalinas⁵².

2.2.1 Espermatozoides. Son células alargadas, de forma plana, que se forman dentro de los túbulos seminíferos, contienen la información genética del individuo (ADN), y su función principal es fertilizar el ovocito⁵³.

Así como en otras especies de mamíferos, el espermatozoide del cerdo puede dividirse en dos partes principales: (1) la cabeza, donde está contenido el ADN (núcleo haploide) y los mecanismos para el reconocimiento y subsecuente fusión con el ovocito (acrosoma) y (2) la cola, en la cual se encuentran las mitocondrias que generan la energía necesaria para el movimiento. Aquí el aparato propulsor encargado de la tarea de movimiento se llama axonema⁵⁴.

⁵¹ KNOX, Robert. *The Anatomy And Physiology Of Sperm Production In Boars*. Illinois (USA), 2001.

⁵² GARNER, D. y HAFEZ, E. Espermatozoides y Plasma Seminal. *En*: HAFEZ, E; HAFEZ, B (eds), *Reproducción E Inseminación Artificial*. 7 ed. USA: McGraw-Hill, 2002. p. 98-112.

⁵³ BRIZ, M. y FÀBREGA, A. The Boar Spermatozoon. *En*: BONET, S.; CASAS, I.; HOLT, W.; YESTE, M (eds), *Boar Reproduction: Fundamentals And New Biological Trends*. Ed. Springer, 2013. p. 3-47.

⁵⁴ GARNER. *Op. Cit.*, p. 98-112.

2.2.2 Plasma seminal (PS). La función del plasma seminal está asociada con la eyaculación del espermatozoide y su subsecuente supervivencia dentro del tracto reproductivo de la hembra. Los roles del PS han sido ampliamente estudiados, con resultados contradictorios. Varios estudios resaltan sus principales funciones 1) activación y aumento de la motilidad del espermatozoide; 2) Actuar como buffer para proveer el ambiente osmótico óptimo, así como un medio de nutrientes para las células espermáticas; 3) previene la activación prematura durante el transporte fisiológico del espermatozoide, y brinda estabilización a la membrana gracias a los inhibidores de capacitación; 4) apresura la ovulación de las vacas e induce la ovulación en cerdas y camélidas; 5) integrante clave en la interacción esperma-óvulo; 6) ayuda a preparar el tracto maternal, para el desarrollo embrionario, al facilitar los cambios inmunitarios requeridos para sobrellevar la preñez, 9) mejora la fertilidad; 10) Ayuda a la toma de oxígeno, y por tanto a la motilidad, en el semen post-congelado; 11) Incrementa los parámetros seminales de calidad seminal⁵⁵.

Adicionalmente, el PS juega un papel inmunorregulatorio que beneficia a la supervivencia del espermatozoide en el tracto reproductivo de la hembra. Algunos factores del PS, como proteínas, citoquinas, hormonas sexuales, y prostaglandinas, ayudan a la migración del espermatozoide al tracto reproductivo femenino y posee capacidades biológicas para proteger a la célula espermática de diferentes patógenos, tanto de la hembra como del macho⁵⁶.

2.3 PRINCIPALES VARIABLES DE INTERÉS EN EVALUACIÓN SEMINAL

2.3.1 Variables seminales paramétricas

2.3.1.1 Volumen seminal. Se expresa en ml. El volumen es medido, rutinariamente, pesando el eyaculado y considerando 1 gr igual a 1 ml⁵⁷.

2.3.1.2 Motilidad espermática. Evalúa el porcentaje de espermatozoides móviles, así como el tipo de movimiento que presenta la media de una población espermática⁵⁸.

La motilidad se suele dividir en:

⁵⁵ NASRIN, J y CALOGERO, S. Seminal Plasma: An Essential Attribute To Spermatozoa. En: Journal Of Andrology. Julio-Agosto, 2012. vol. 33, no. 4, p. 536-548.

⁵⁶ *Ibíd.*, p. 536-548.

⁵⁷ LÓPEZ, Alfonso. Fresh Boar Semen: Quality Control And Production. Disertación presentada para optar el título de Doctor en Ciencias Veterinarias. Bélgica: Universiteit Gent. 2012. 189 p.

⁵⁸ FERRIAN, Selena. Influencia De Las Características Seminales Del Eyaculado De Conejo Sobre La Calidad Espermática Post-descongelación. Trabajo final de Master. Valencia: Universidad Politécnica Valencia, 2007. 75 p.

-) **Motilidad espermática masal.** La movilidad masal o total, que hace referencia al movimiento de superficie que refleja proporción de espermatozoides que presentan algún tipo de movimiento⁵⁹.
-) **Motilidad espermática individual.** La movilidad individual, que hace referencia al porcentaje de espermatozoides móviles y al movimiento de cada uno. Siendo los movimientos más comunes de tipo pendular, circular y rectilíneo⁶⁰.
-) **Motilidad espermática progresiva.** Se refiere al porcentaje de células espermáticas con movimiento “rápido y en línea recta”, o sea, aquellos que atraviesan en campo visual del microscopio^{61,62}.

2.3.1.3 Morfología espermática. Es un parámetro que indica el porcentaje de espermatozoides con defectos estructurales. En la actualidad, quizás lo más adecuado sea identificar cada una de las anomalías por su ubicación dentro de la estructura del espermatozoide⁶³.

2.3.1.4 Concentración espermática. La concentración de los espermatozoides se expresa como el número de espermatozoides/ml de semen. La determinación de la concentración espermática se lleva a cabo mediante métodos semejantes al recuento de glóbulos rojos realizado en hematología⁶⁴. Comúnmente, la concentración es medida con las cámaras de Bürker o Neubauer.

2.3.1.5 Vitalidad espermática. Esta característica mide el número o porcentaje de espermatozoides vivos o viables⁶⁵.

⁵⁹ FERRIAN, Selena. Influencia De Las Características Seminales Del Eyaculado De Conejo Sobre La Calidad Espermática Post-descongelación. Trabajo final de Master. Valencia: Universidad Politécnica Valencia, 2007. 75 p.

⁶⁰ *Ibíd.*, 75 p.

⁶¹ HERNÁNDEZ, Juan. Variación Anual De La Calidad Del Semen Porcino Y Su Relación Con Los Parámetros Reproductivos. Tesis como requisito para obtener el grado de maestro en ciencias de la producción animal. Marín, Nuevo León: Universidad Autónoma De Nuevo León, 1998. 92 p.

⁶² GÓMEZ, Verano y MIGLIOSIRI, Lorena. Protocolo Para La Evaluación De Semen En Rumiantes. 2007.

⁶³ *Ibíd.*

⁶⁴ AGÜERO, Gloria. Evaluación De las Características Seminales De Sementales Bovinos Mediante el Analizador Seminal Computarizado (CASA). Postgrado En Reproducción Animal Y Tecnología De La Inseminación Artificial. Caracas: Universidad Central De Venezuela, 2012. 81 p.

⁶⁵ *Ibíd.*, 81 p.

Para medir la vitalidad de una muestra de semen, se utilizan colorantes vitales como el colorante eosina – nigrosina. Aquellas células espermáticas, con daño a nivel de la membrana plasmática, serán teñidas de color rojo o en rosa. Esto es debido a que el colorante, cuando existe daño a nivel de las membranas del espermatozoide, es capaz de atravesarla y colorearla; aquellos espermatozoides que se observan en la lámina sin teñirse, son aquellos espermatozoides que poseen una membrana celular intacta y no permeable al paso del colorante⁶⁶.

2.3.2 Variables seminales no paramétricas

2.3.2.1 pH seminal. Es un importante indicador de calidad seminal. Al momento de la colecta, un pH mayor a 8 puede indicar baja calidad en el esperma o la presencia de un proceso infeccioso en el tracto genital o en las glándulas accesorias. El pH en el semen del cerdo, se encuentra en un rango de $7,69 \pm 0,33$ ⁶⁷.

2.3.2.2 Color seminal. El color normal del semen porcino es blanco, con tonalidades grises o azuladas; aunque puede presentar otras tonalidades como son amarillenta, rosácea, marrón y verdosa. Estas tres últimas, pueden obedecer a patologías reproductivas^{68,69}.

2.3.2.3 Aspecto seminal. Por aspecto del semen, se entiende su consistencia normal y color. El aspecto depende del número de espermatozoides/ml, componentes de secreción de las glándulas accesorias y de eventuales agregados como: sangre, pus, células epiteliales y contaminación externa⁷⁰.

En el Cuadro 1, se exponen las principales características del semen del verraco.

⁶⁶ FERRIAN, Selena. Influencia De Las Características Seminales Del Eyaculado De Conejo Sobre La Calidad Espermática Post-descongelación. Trabajo final de Master. Valencia: Universidad Politécnica Valencia, 2007. 75 p.

⁶⁷ FRUNZ , I.; CERNESCU, H. y KORODOI, G. Physical And Chemical Parameters Of Boar Sperm. En: Lucr ri Stiinfifice Medicin Veterinar . 2008. vol. 41, p. 631-640.

⁶⁸ FERRIAN. Op. Cit., 75 p.

⁶⁹ RODRÍGUEZ, Heriberto. Evaluación De La Calidad Seminal En El verraco. En: Avances En Tecnología Porcina. 2005. vol. 2, no. 7-8, p. 43-53.

⁷⁰ AGÜERO, Gloria. Evaluación De las Características Seminales De Sementales Bovinos Mediante el Analizador Seminal Computarizado (CASA). Postgrado En Reproducción Animal Y Tecnología De La Inseminación Artificial. Caracas: Universidad Central De Venezuela, 2012. 81 p.

Cuadro 1. Principales características del semen de verraco

Característica	Medias
Volumen (ml)	100 – 500
Concentración (millones/ml)	200 – 350
Motilidad (%)	
) Motilidad Masal	70 – 80
) Motilidad Individual	80 – 90
) Motilidad Progresiva	> 70
Morfología(%)	
) Espermatozoides Normales	70 – 90
) Espermatozoides Con Defectos De Cabeza	5
) Espermatozoides Con Defectos De Cola	15
) Espermatozoides Con Defectos De Gota Citoplasmática	10
Vitalidad (%)	
) Viables	>75
) No Viables	<25
pH	7,3 – 7,8
Aspecto	Blanco lechoso
Color	Blanco con tonalidades grises, azuladas o amarillentas

Fuente: Adaptado de GARNER y HAFEZ, 2002; MESQUITA y FRITSCH, 2008; KUBUS, 2010; HENAO *et al.*, 2004; QUINTERO-MORENO *et al.*, 20008; FRITZ, 2012

2.4 PRINCIPALES MICROMINERALES QUE AFECTAN LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS (CALIDAD DE SEMEN) DEL VERRACO

De los nueve microelementos existentes, el zinc y el selenio son de gran importancia en varios niveles reproductivos⁷¹:

2.4.1 Zinc. El zinc influye en el crecimiento, desarrollo, reproducción y actividad metabólica, debido a que es el principal constituyente de más de 200 metaloenzimas. Las metaloenzimas son proteínas envueltas en múltiples funciones dentro del organismo del animal (síntesis de proteínas, división celular)⁷². Las metaloenzimas contienen iones de metal (cofactores metálicos), los cuales están directamente enlazados a las proteínas de la enzima o a los grupos no

⁷¹ BEDWAL, R. y BAHUGUNA, A. Zinc, Cooper And Selenium In Reproduction. En: Experimentia. Julio, 1994. vol. 50, no. 7, p. 626-640.

⁷² SMITH, O. y AKINBAMIJO, O. Micronutrients And Reproduction In Farm Animals. En: Animal Reproduction Science. Julio, 2000. vol. 2, no. 60-61, p. 549-560.

proteicos de la enzima (grupo prostético)⁷³; el zinc está clasificado como un metal de transición⁷⁴.

Entre sus múltiples papeles, el zinc puede hallarse constituyendo parte de la estructura integral de una sustancia o puede estar envuelto en algunos tipos de reacciones bioquímicas, en un sitio activo. Aunque puede encontrarse en diferentes estados de valencia en el cuerpo, lo más usual es hallarlo como un ion divalente Zn^{++75} .

El zinc está relacionado en la defensa del organismo contra las Especies Reactivas De Oxígeno (*Reactive Oxygen Species*, ROS). Las ROS son moléculas altamente reactivas de radicales libres (especies químicas con un electrón desapareado), generadas como producto del metabolismo celular⁷⁶.

Las células espermáticas exhiben una gran capacidad para generar ROS tales como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el anión superóxido (O_2^-) y el radical hidroxil ($OH\cdot$). Debido a su naturaleza altamente reactiva, las ROS pueden reaccionar con otras moléculas causando oxidación, lo que conlleva a cambios estructurales y funcionales, resultando en daño celular⁷⁷.

Para defenderse del daño producido por las ROS el organismo del animal y el plasma seminal, se valen de múltiples tipos de antioxidantes. Entre estos tipos de antioxidantes, se encuentra la Superóxido Dismutasa (SOD). La SOD actúa dismutando el anión superóxido (O_2^-), en oxígeno (O_2) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Para que las funciones catalíticas de la SOD se mantengan, se necesitan moléculas de zinc⁺⁺⁷⁸. Como constituyente de algunas metaloenzimas, el zinc está envuelto en diversas reacciones enzimáticas asociadas con el metabolismo de carbohidratos, síntesis de proteínas y metabolismo de ácidos nucleicos. Por tanto,

⁷³ HOPPERT, Michael. Metalloenzymes. En: REITNER, J. y THIEL, V. (eds), Encyclopedia Of Geobiology. The Netherlands: Springer, 2011. p.558-562.

⁷⁴ CHANG, Raymond y COLLEGE, Williams. Química. 7 ed. McGraw-Hill, 2002. ISBN 9070-10-3894-0.

⁷⁵ MYERS, G.; SPEARS, J. Trace And Ultratrace Elements In Swine Nutrition. En: LEWIS, A.; SOUTHERN, L. (eds), Swine Nutrition. 2 ed. Boca Raton, Florida (USA): CRS Press LLC, 2001. p. 238-270.

⁷⁶ FRITZIE, Celino *et al.* Tolerance Of Spermatogonia To Oxidative Stress Is Due To High Levels Of Zinc And Cu/Zn Superoxide Dismutase. En: PLoS ONE. Febrero, 2011. vol. 6, no. 2.

⁷⁷ BANSAL, Amrit y BILASPURI, Gurmail. Impacts of Oxidative Stress and Antioxidants On Semen Functions. En: Veterinary Medicine International. Septiembre, 2010. vol. 2011, p. 1-7.

⁷⁸ FRITZIE, Celino *et al.* Tolerance Of Spermatogonia To Oxidative Stress Is Due To High Levels Of Zinc And Cu/Zn Superoxide Dismutase. En: PLoS ONE. Febrero, 2011. vol. 6, no. 2.

es esencial en las células como las gónadas, donde existe constante crecimiento y división celular. Consecuentemente, algunas funciones reproductivas pueden ser afectadas negativamente a causa de deficiencias de zinc⁷⁹; el zinc juega un papel importante en la espermatogénesis, en la respuesta a la LH, desarrollo de las células de Leydig y en la producción de esteroides a nivel testicular⁸⁰. Entre los efectos adversos por deficiencias de zinc, caben destacar: atrofia en los túbulos seminíferos (afecta negativamente la espermatogénesis) y un ineficiente desarrollo testicular en animales jóvenes, lo que ocasiona un bajo tamaño testicular y falta de libido⁸¹.

2.4.2 Selenio. El selenio se concentra en la cola de los espermatozoides. Siendo necesario para su normal desarrollo, mantenimiento de la integridad estructural y función locomotora del mismo⁸²; la deficiencia de este mineral puede afectar la estructura y morfología de la cola del espermatozoide y, por tanto, su motilidad, así como también el número de espermatozoides maduros⁸³.

El selenio tiene un rol importante en la reproducción del verraco, pues es un componente fundamental de la selenocisteína. La selenocisteína es un aminoácido análogo a la cisteína que contiene selenio en vez de azufre y es catalogado, también, como el aminoácido 21 (esencial). La selenocisteína es, a la vez, componente de las selenoproteínas. Las selenoproteínas se pueden definir como cualquier clase de proteínas cuyo componente principal es la selenocisteína⁸⁴.

Las selenoproteínas más estudiadas e importantes en el sistema reproductor de macho son la GPx1, GPx3, mGPx4, cGPx4 y GPx5, las cuales protegen a las células, contra el daño oxidativo, durante los procesos de mitosis, meiosis y

⁷⁹ SMITH, O. y AKINBAMIJO, O. Micronutrients And Reproduction In Farm Animals. En: Animal Reproduction Science. Julio, 2000. vol. 2, no. 60-61, p. 549-560.

⁸⁰ MATEOS, Gonzalo; MENDEL, Pedro; CARRION, Domingo. Necesidades Nutricionales Del Verraco De Alta Selección. En: 13 Curso De Especialización FEDNA (España). España. FEDNA. 1997. 20 p.

⁸¹ KUMAR, Sudhir *et al.* Importance Of Micro Minerals On Reproductive Livestock. En: Veterinary World. Marzo, 2011. vol. 4, no. 5, p. 230-233.

⁸² CARRIÓN, Domingo y MEDEL, Pedro. Interacción Nutrición Reproducción En Ganado Porcino. En: 17 Curso De Especialización FEDNA (España). España. FEDNA. 2001. 42 p.

⁸³ CLOSE, W. The Role Of The Boar In Maximizing Reproduction: Effects On Nutrition Management. En: TAYLOR-PICKARD, J.; NOLLET, L (eds), Nutritional Approaches To Arresting The Decline In Fertility Of Pigs And Poultry. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2006. p. 93-115.

⁸⁴ SALINAS, Gustavo. Bioquímica De La Selenocisteína, el 21er Aminoácido, y Rol De Las Selenoproteínas En La Salud Humana. En: Mensaje Bioquímico. 2010. vol. 34, p. 121-133.

maduración espermática. Otras selenoproteínas, como mGPx4 y snGPx4, sirven como componentes estructurales del esperma maduro⁸⁵.

Los testículos contienen grandes concentraciones de selenio, que son esenciales para la función testicular. Baja producción de células espermáticas, escasa movilidad (defectos en el flagelo) y mala calidad seminal, en general, son una constante en animales alimentados con dietas de inadecuada concentración de selenio. Además, la suplementación con selenio ha demostrado ser beneficiosa para mantener la motilidad de la célula espermática⁸⁶.

Generalmente, el selenio inorgánico puede encontrarse en tres estados de oxidación: selenito (Se^{4+}), selenato (Se^{6+}) y seleniuro (Se^{2-}). Estos pueden hallarse, en la ración, en forma inorgánica u orgánica. El selenito de sodio es la forma más común y económica, usada en las dietas animales⁸⁷.

⁸⁵ AHSAN, U. *et al.* Role Of Selenium In Animal Reproduction – A review. En: Animal Reproduction Science. Abril, 2014. vol. 146, no. 2014, p. 55-62.

⁸⁶ KUMAR, Sudhir *et al.* Importance Of Micro Minerals On Reproductive Livestock. En: Veterinary World. Marzo, 2011. vol. 4, no. 5, p. 230-233.

⁸⁷ AHSAN. Op. Cit., p. 55-62.

3. METODOLOGÍA

3.1 LOCALIDAD

El presente trabajo investigativo, se desarrolló en la empresa PORCIGEN S.A.S., y en el laboratorio de la misma, en donde se procesó el semen porcino. La empresa estaba ubicada en el corregimiento Sierra Flor, municipio de Sincelejo, departamento Sucre, en el km 9 de la vía que de la ciudad de Sincelejo conduce al municipio de Toluviejo, con una temperatura ambiente promedio que osciló entre los 27°C y 35°C, con una precipitación entre los 500 y 1200 mm anuales y a una altura estimada de 260 m.s.n.m⁸⁸.

3.2 ANIMALES

Al momento del experimento, la empresa contaba con dos reproductores con una edad media de 2,5 años (al inicio del experimento). Los cerdos utilizados pertenecían a las razas Landrace, de origen belga, y Duroc, con un peso promedio de 257 kg.

3.3 DESCRIPCIÓN DEL MANEJO GENERAL, SANITARIO, ALIMENTICIO (TRATAMIENTOS) Y DE COLECTA DE SEMEN

3.3.1 Manejo general

-)] **Aseo, baños y ventilación.** Los locales de cada animal fueron aseados en las horas de la mañana y los animales eran bañados para reducir los efectos de la elevada temperatura característica de la zona. Los locales tuvieron ventiladores para control de temperatura.
-)] **Frecuencia de colecta.** Durante el periodo experimental se realizó una colecta por semana/animal, preferiblemente siempre en los mismos días, para que los animales tengan un periodo de descanso óptimo y se garantice la calidad seminal.

3.3.2 Manejo sanitario

La empresa PORCIGEN S.A.S. estableció un plan de manejo sanitario el cual contempló los siguientes puntos:

-)] Acciones de control y erradicación de enfermedades.

⁸⁸ GOBERNACIÓN DE SUCRE. Geografía [en línea].<
http://www.sucres.gov.co/informacion_general.shtml>. [Citado el 10 de mayo de 2016].

-)] Medidas de prevención control y erradicación de enfermedades endémicas de la zona.
-)] Medidas de prevención de ingreso de enfermedades.
-)] Registro de los diagnóstico de enfermedades presentados en la granja.

El plan de vacunación estuvo establecido de acuerdo a las normas regidas por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), que corresponde a la aplicación de 2 ml por animal, vía subcutánea, de la vacuna para Peste Porcina Clásica, cada seis meses.

3.3.3 Manejo alimenticio y tratamientos

Como dieta base, los animales recibieron en promedio 2 kg por día de un alimento comercial recomendado para alta genética y destinado específicamente para cerdas lactantes, buscando, a través de la mayor oferta de nutrientes, cubrir las necesidades extras debido a la intensa actividad en términos de colectas de semen, que se realiza varias veces por semana. El alimento balanceado pertenecía a la casa comercial SOLLA®, estaba denominado como “Cría Cerdos Lactancia”, en presentación peletizada, y cuya composición nutricional, proveída por la misma casa comercial, era la siguiente: proteína (mínimo) 16 %; grasa (mínimo) 5 %; Fibra (mínimo) 8 %; cenizas (máximo), humedad (máximo) 13 %.

Además de la dieta base, los animales recibieron un suplemento mineral fabricado por la empresa SOMEX S.A, el cual garantizó la siguiente composición: Se 0,0007 %; Zn 0,20 %; Cu 0,017 %; Mn 0,033 %; Fe 0,23 %, con mogolla de trigo, como excipiente.

Durante toda la fase experimental, los animales tuvieron libre acceso a agua a través de bebederos automáticos, tipo chupo, ubicados en los corrales.

El suplemento mineral se mezcló con el alimento balanceado. Inicialmente, se contempló el pesaje del alimento ofrecido y las sobras para calcular el consumo, sin embargo, durante la fase experimental no se presentaron sobras de alimento ni de suplemento.

3.3.4 Procesamiento de colecta del semen

La colecta de semen estuvo comprendida por tres actividades o etapas: preparación del termo recolector, colecta del semen y envasado del semen, aplicando los

principios sugeridos por los autores Caiza⁸⁹; Cisneros⁹⁰; Torrentes *et al.*⁹¹; Velástegui y Tinillo⁹².

3.3.4.1 Preparación del termo recolector. Antes de hacer las colectas, el termo era desinfectado con detergente comercial y secado cuidadosamente.

La preparación rutinaria del termo consistía en poner, dentro de este, una bolsa especial para colecta seminal y, sobre la abertura del termo, un papel filtro, para evitar cualquier contaminación del ambiente o proveniente del animal (gel seminal o “tapioca”). La bolsa y el papel filtro eran sujetados con una liga, dispuesta alrededor de la abertura del termo.

3.3.4.2 Colecta de semen. El operario se lavaba las manos y se ponía guantes limpios de vinilo y, encima de uno de estos, un par de guantes de polietileno transparente. A continuación, se realizaron las siguientes actividades:

-)] Limpiar el exceso de suciedad alrededor del genital del macho.
-)] Cortar los pelos del prepucio (cuando fuese necesario).
-)] Retirar los guantes de polietileno, y desecharlos.
-)] Hacer que el macho monte el potro y se acomode.
-)] Vaciar el contenido prepucial.
-)] Esperar a que desenvaine el pene.
-)] Tomar el pene por la punta con la mano protegida por el guante de vinilo.

⁸⁹ CAIZA, Darío. Manejo De Verracos Para La Obtención y Procesamiento De Semen Porcino e Inseminación Artificial. Proyecto previo para la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial. Quito: Escuela Politécnica Nacional, 2009. 133 p.

⁹⁰ CISNEROS, Jadiel. Desarrollo De Un Método Para La Determinación rápida De La Concentración Espermiática De Eyaculados De Bovino, Ovino Y Cerdo. Trabajo recepcional en la modalidad de manual práctico como requisito para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista. Veracruz: Universidad Veracruzana, 2011. 57 p.

⁹¹ TORRENTES, Ramón *et al.* Manual De Inseminación Porcina. Managua, Nicaragua: Universidad Nacional Agraria, 2013. 87 p.

⁹² VELÁSTEGUI, Mónica y TINILLO, David. Evaluación Espermiática En Verracos Reproductores Mediante La Utilización De Suplementos: Ácidos omega 3 – 6 Con selenio Orgánico y Probióticos Con Vitamina E; En La Finca “La Joya”, Parroquia Belisario Quevedo, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi. Previa obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista. Salache: Universidad Técnica De Cotopaxi, 2011. 147 p.

J) Esperar a que desenfunde totalmente el pene, mantenerlo firme hasta el final del eyaculado y dejar libre el extremo para permitir la salida libre del semen evitando que toque la mano. Y, depositándolo, en el termo recolector de semen.

Durante la eyaculación, se eliminó la primera fracción del eyaculado, la cual generalmente contiene orina y se recogió solo la fracción rica (eyaculado cremoso y lechoso). La toma terminó cuando salió la última fracción pobre, el pene perdió su erección y comenzó la retracción.

Como medida de bienestar animal, se tuvo en cuenta el no terminar la eyaculación en forma prematura, pues se dejó que el macho termine completamente su eyaculado.

3.3.4.3 Envasado de semen. Una vez recogido el semen, se aseguró la bolsa con una liga, se introdujo un pedazo de papel aluminio y se tapó el termo recolector. Este procedimiento ayudó a mantener la temperatura del semen. Posteriormente, se regresó el macho a su corral y el semen se llevó al laboratorio lo más pronto posible.

3.4 VARIABLES PARA EVALUACIÓN SEMINAL

Una vez el eyaculado en el laboratorio, las variables que se evaluaron fueron las siguientes:

3.4.1 Variables seminales paramétricas

3.4.1.1 Volumen seminal (ml). Se determinó pesando el eyaculado y considerando 1 g igual a 1 ml.

3.4.1.2 Motilidad espermática masal (%). Se colocó una gota de eyaculado fresco en la placa de portaobjetos, previamente calentado en una platina térmica, a temperatura de 37°C. Inmediatamente se le puso un cubreobjetos, también atemperado a 37°C, y luego se efectuaron las observaciones al microscopio con el objetivo 10x. La calidad de movimientos en remolino se calificó, subjetivamente, en una escala de 0 a 100 %⁹³ (Cuadro 2).

⁹³ GÓMEZ, Verano y MIGLIOSIRI, Lorena. Protocolo Para La Evaluación De Semen En Rumiantes. 2007.

Cuadro 2. Escala motilidad masal

Motilidad masiva	Descripción	Porcentaje de espermatozoides vivos
MM o	En el campo microscópico no se encuentran remolinos. Los espermatozoides están sin movimiento, o son muy débiles	Menos de 10
MM +	Los remolinos son muy lentos y suaves y la vitalidad está muy disminuida o hay gran cantidad de espermatozoides muertos	10 – 40
MM ++	Movimientos masivos bien definidos, formación rápida de remolinos	40 – 60
MM +++	Movimiento masivo muy intenso con formación y desaparición rápida de remolinos	Más de 60

Fuente: ERAZO, 2007

3.4.1.3 Motilidad espermática individual (%). Se colocó una gota de eyaculado fresco en la placa de portaobjetos, previamente atemperado en una platina térmica, a temperatura de 37°C. Inmediatamente se le puso un cubreobjetos, también atemperado a 37°C, y luego se efectuaron las observaciones al microscopio con el objetivo 40x. Los tipos de movimiento individual presentados por los espermatozoides se evaluaron de 0 a 100 %, basándonos en las categorías de Kubus⁹⁴ y por los criterios propuestos por Agüero⁹⁵, donde expone que para clasificar el porcentaje de motilidad individual de los espermatozoides, se estima primero el porcentaje de células espermáticas con movimiento progresivo lineal (MPL), movimiento *in situ* (circular, pendular) y espermatozoides inmóviles. Luego el examinador se debe concentrar en estimar el porcentaje de espermatozoides con movimiento lineal progresivo (X). Después se debe estimar el porcentaje de células con movimiento *in situ* (Y). En este sentido, el porcentaje de espermatozoides móviles se obtiene sumando X+Y.

3.4.1.4 Motilidad espermática progresiva (%). Se colocó una gota de eyaculado fresco en la placa de portaobjetos, previamente atemperado en una platina térmica, a temperatura de 37°C. Inmediatamente se le puso un cubreobjetos, también atemperado a 37°C, y luego se efectuaron las observaciones al microscopio con el objetivo 40x. Para calificar este parámetro, solo se tuvo en cuenta el tipo de movimiento “rápido y en línea recta”, es decir, aquellos espermatozoides que atravesaban el campo del microscopio⁹⁶. El porcentaje de células espermáticas que

⁹⁴ KUBUS. Inseminación Artificial Porcina. Las Rozas, Madrid: KUBUS, 2010. 97 p.

⁹⁵ AGÜERO, Gloria. Evaluación De las Características Seminales De Sementales Bovinos Mediante el Analizador Seminal Computarizado (CASA). Postgrado En Reproducción Animal Y Tecnología De La Inseminación Artificial. Caracas: Universidad Central De Venezuela, 2012. 81 p.

⁹⁶ ERAZO, Estefanía. Efecto De La Criopreservación Sobre Las Características Microscópicas Del Espermatozoide Porcino. Proyecto presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo en el grado Académico de Licenciatura. Zamorano: Universidad Zamorano, 2007. 22 p.

presentaron movimiento del tipo “rápido y en línea recta”, se calificaron, subjetivamente, en una escala de 0 a 100 %⁹⁷ y teniendo en cuenta la escala propuesta por Zemjanis⁹⁸ (Cuadro 3).

Cuadro 3. Escala clasificación movimiento progresivo

Descripción	%
Muy buena	80 – 100
Buena	60 – 80
Regular	40 – 60
Pobre	20 – 40

Fuente: ZEMJANIS, 1987

3.4.1.5 Morfología espermática (anomalías de cabeza, cola y gota) (%). Sobre un portaobjetos previamente calentado a 37°C en una platina térmica, se colocó una gota de semen y una gota de solución de eosina – nigrosina previamente calentada a 37°C para evitar el choque térmico. Luego de 1 minuto se realizó el frotis. Se observó, al cabo de 2 minutos con aumento 40x, en el microscopio. Se contaron 100 espermatozoides, y se clasificaron como normales aquellos espermatozoides que no se tiñen y tuvieron una conformación normal. Los anormales se caracterizaron con anomalías de: cabeza, cola y gota citoplasmática. Cabe resaltar que, como defectos de “cola”, se incluyeron todas las anomalías presentadas en las subdivisiones (pieza media, cola) del aparato locomotor del espermatozoide^{99,100,101}.

3.4.1.6 Concentración espermática (x10⁷ espermatozoides/ml). Se determinó utilizando la cámara de Bürker. Para lo cual se hizo una dilución a un factor 1:100, en un matraz aforado, de 1 ml de semen en 99 ml de solución salina espermicida. La solución salina espermicida estaba preparada con solución salina comercial a

⁹⁷ HERNÁNDEZ, Juan. Variación Anual De La Calidad Del Semen Porcino Y Su Relación Con Los Parámetros Reproductivos. Tesis como requisito para obtener el grado de maestro en ciencias de la producción animal. Marín, Nuevo León: Universidad Autónoma De Nuevo León, 1998. 92 p.

⁹⁸ ZEMJANIS, R. Reproducción Animal: Diagnósticos Y Técnicas Terapéuticas. Trad. D. Pacheco. México D.F.: LIMUSA S.A, 1987. 253 p.

⁹⁹ ROZEBOOM, Kevin. Evaluating Boar Semen Quality. North Carolina, USA. 2000. ANS00-812S.

¹⁰⁰ SWINE VET. CENTER. Semen Quality And Abnormality Scoring. Minnesota. 2006. 1 p.

¹⁰¹ GÓMEZ-TORRES, M. *et al.* Estudio De Las Alteraciones Morfológicas De Espermatozoides Humanos Con Microscopía Electrónica De Barrido (SEM). En: Revista Iberoamericana De Fertilidad. Enero-Febrero, 2005. vol. 22, no. 1, p. 59-66.

una concentración de 3 % de formaldehído, para inmovilizar a las células espermáticas¹⁰².

Una vez hecha la dilución se procedió a extraer del matraz, con una pipeta Pasteur, un poco del semen diluido y, con esta, se llenaron los túneles de la cámara de recuento de Bürker. Se observó al microscopio, con objetivo de 40x, siguiendo las pautas de Kubus¹⁰³ para el conteo de los espermatozoides.

3.4.1.7 Vitalidad espermática (%). Sobre un portaobjetos previamente calentado a 37°C, en una platina térmica, se colocó una gota de semen y una gota de solución de eosina – nigrosina, previamente calentada a 37°C, para evitar el choque térmico. Luego de 1 minuto se realizó el frotis. Se observó al cabo de 2 minutos, con aumento 40x, en el microscopio. Se contaron 100 espermatozoides¹⁰⁴. Se valoraron visualmente y se clasificaron en porcentaje de espermatozoides viables (no se tiñen) y no viables (se tiñen), siguiendo las pautas de Rozeboom¹⁰⁵.

3.4.2 Variables seminales no paramétricas

3.4.2.1 pH. Con una pipeta Pasteur, se colocó una gota de semen en el papel indicador universal, y se evaluó visualmente.

3.4.2.2 Color seminal (subjetivo). Se visualizó directamente, teniendo en cuenta que el color normal del semen porcino es blanco, con tonalidades grises o azuladas¹⁰⁶ y, también, translúcidas¹⁰⁷; aunque puede presentar otras tonalidades como son amarillenta, rosácea, marrón y verdosa. Estas tres últimas, pueden obedecer a patologías reproductivas¹⁰⁸.

¹⁰² CAIZA, Darío. Manejo De Verracos Para La Obtención y Procesamiento De Semen Porcino e Inseminación Artificial. Proyecto previo para la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial. Quito: Escuela Politécnica Nacional, 2009. 133 p.

¹⁰³ KUBUS. Inseminación Artificial Porcina. Las Rozas, Madrid: KUBUS, 2010. 97 p.

¹⁰⁴ *Ibíd.*, 97 p.

¹⁰⁵ ROZEBOOM, Kevin. Evaluating Boar Semen Quality. North Carolina, USA. 2000. ANS00-812S.

¹⁰⁶ FRUNZ , I.; CERNESCU, H. y KORODOI, G. Physical And Chemical Parameters Of Boar Sperm. En: *Lucr ri Stiintifice Medicin Veterinar* . 2008. vol. 41. p. 631-640.

¹⁰⁷ LÓPEZ, María; URBANO, Aurora y CÁRDENAS, Marta. Manual De Laboratorio Para El Análisis De Semen. OmniaScience, 2012. ISBN 978-84-695-4746-8-4.

¹⁰⁸ RODRÍGUEZ, Heriberto. Evaluación De La Calidad Seminal En El verraco. En: *Avances En Tecnología Porcina*. 2005. vol. 2, no. 7-8, p. 43-53.

Para efectos de este trabajo, los colores se clasificaron en Blanco – grisáceo, Blanco y Blanco – translúcido (Anexo B).

3.4.2.3 Aspecto seminal (subjetivo). Se evaluó visualmente, basándose en que el semen de buena calidad es denso, opaco y viscoso. Se clasificó según los siguientes aspectos: lechoso – opaco, lechoso – cremoso, opalescence, acuoso¹⁰⁹ (Anexo B).

3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los tratamientos (niveles de suplementación) a evaluar, fueron cuatro (Cuadro 4):

Cuadro 4. *Tratamientos (niveles de suplementación) evaluados, en el estudio*

Tratamiento	Ración mineral (g)
Control	0
T1	10
T2	20
T3	30

La suplementación u oferta de los diferentes niveles de suplementación se llevó a cabo en un total de tres ciclos, teniendo en cuenta las siguientes pautas:

-)] Duración de cada ciclo de suplementación = 40 días
-)] Duración de cada periodo de descanso (sin suplementación) = 15 días
-)] Duración total de cada ciclo = (40 días + 15 días) = 55 días

La evaluación de la calidad seminal comenzó después de 40 días de iniciado cada ciclo de suplementación. Por cada ciclo se obtuvo 1 eyaculado/cerdo/semana, o sea 2 eyaculados/semana, para un total de 10 eyaculados/ciclo (Cuadro 5).

¹⁰⁹ GALO, Harold y UCLÉS, Dennis. Congelación Del Semen De Cerdo y Evaluación De La Calidad Biológica Pos Descongelado. Proyecto Para Optar Al Título De Ingeniero Agrónomo. Honduras: Universidad Zamorano, 2003. 29 p.

Cuadro 5. Número de animales usados, ciclos experimentales y tratamientos (niveles de suplementación) llevados a cabo, en el estudio

Ciclo	Días	Unidades Experimentales		Evaluación seminal
		Cerdo 1	Cerdo 2	
		Tratamiento/Ración mineral (g)		
1	1 a 55	T1/10	T1/10	Control*
2	55 a 110	T2/20	T2/20	T1
3	110 a 165	T3/30	T3/30	T2
**	165 a 205**	**		T3**

* Control: colectas al nivel cero (0) suplementación

** Período de solo colectas (no suplementación)

La evaluación de las características seminales se hizo a partir de 40 colectas obtenidas durante un periodo total de 205 días, incluyendo los días de no colecta experimental.

Los datos correspondientes a las variables volumen seminal, motilidad espermática, morfología espermática, concentración espermática y vitalidad espermática, fueron analizados aplicando la herramienta Modelo Lineal General (GLM) Univariado del paquete estadístico IBM SPSS 23. En el modelo estadístico aplicado para el ANOVA, el efecto del factor tratamiento (nivel de suplementación) se consideró como de efecto fijo, y el factor animal (cada reproductor) como de efecto aleatorio, de modo que se estudiara la posible interacción entre ambos factores. Los grados de libertad (tres) correspondientes al factor tratamiento se dividieron en los contrastes polinomiales lineal, cuadrático y cúbico, asignando un grado de libertad para cada uno. Las diferentes colectas se consideraron como repeticiones. Antes de proceder a la realización del ANOVA, al 5 % de significancia, para cada variable, se aplicó la prueba de Levene, para verificar el cumplimiento del supuesto de homocedasticidad de los datos. En caso de no cumplirse el supuesto de homocedasticidad, se procedió a transformar el dato, calculando la raíz cuadrada del mismo. Adicionalmente, se elaboró un análisis de regresión lineal, con su respectivo coeficiente de determinación, para todas las variables paramétricas, priorizando aquellas donde el efecto del tratamiento y del contraste polinomial fue significativo.

Para las variables de estudio no paramétricas (pH, color, aspecto) se realizó un análisis de tablas de contingencia, aplicando la prueba de coeficiente de contingencia de Pearson, al 5 % de significancia, usando el paquete estadístico IBM SPSS 23.

4. RESULTADOS

4.1 CUANTIFICACIÓN DE LAS VARIABLES SEMINALES PARAMÉTRICAS (VOLUMEN, MOTILIDAD, MORFOLOGÍA, CONCENTRACIÓN Y VITALIDAD)

Las variables volumen, motilidad (masal, individual, progresiva), morfología (espermatozoides normales, espermatozoides con defectos de cola), concentración y vitalidad mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$), con respecto a nivel de suplementación (Anexo A).

Las variables morfología (espermatozoides con defectos de cabeza) y morfología (espermatozoides con defectos de gota citoplasmática) no presentaron diferencias significativas, con respecto al nivel de suplementación ($p > 0,05$) (Anexo A).

La Tabla 1 recopila las medias de los tratamientos y los valores de significación del contraste polinomial, al someter a los animales a los distintos niveles de suplementación.

Tabla 1. Medias de tratamientos y valores de significación del contraste polinomial, de variables referentes a las características seminales de cerdos reproductores, recibiendo diferentes niveles de suplementación mineral

Parámetro	Tratamientos (g/día)				Valores de P			Error estándar
	0	10	20	30	Contraste polinomial			
					L	Q	C	
Volumen (ml)	139,5	163,4	178,5	234,0	<0,001	0,069	0,199	8,40
Motilidad (%)								
) Motilidad Masal	80,0	81,5	88,5	88,0	<0,001	0,507	0,060	1,49
) Motilidad Individual	75,5	79,0	85,5	88,0	<0,001	0,793	0,413	1,89
) Motilidad Progresiva	71,0	75,5	84,0	88,0	<0,001	0,911	0,400	2,23
Morfología (%)								
) Morfología – Normales	85,2	89,1	92,7	90,7	0,001	0,028	0,360	1,28
) Morfología – Cabezas	2,7	3,3	3,2	4,5	0,142	0,659	0,555	0,55
) Morfología – Colas	10,9	7,9	3,7	4,6	<0,001	0,116	0,251	1,21
) Morfología – Gotas Citoplasmáticas	0,1	0,2	0,3	0,5	0,082	0,760	0,891	0,16
Concentración (%)	27,8	44,1	52,8	54,2	<0,001	0,046	0,985	3,59
Vitalidad (%)	84,7	85,7	90,8	90,0	<0,001	0,431	0,056	1,13

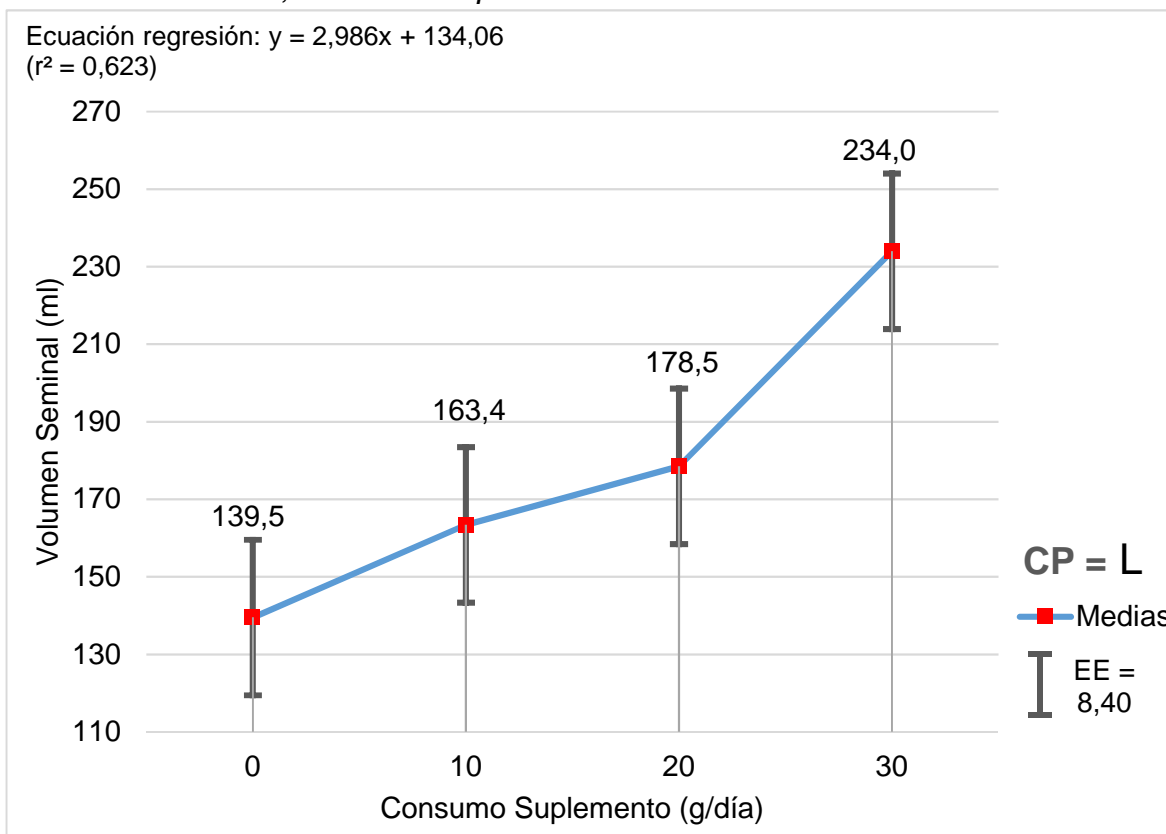
*L = Factor de probabilidad asociado a un efecto lineal, de nivel de suplementación dietaria

*Q = Factor de probabilidad asociado a un efecto cuadrático, de nivel de suplementación dietaria

*C = Factor de probabilidad asociado a un efecto cúbico, de nivel de suplementación dietaria

4.1.1 Volumen seminal (ml). El volumen del eyaculado se incrementó linealmente ($p < 0,001$), en función de la oferta del suplemento mineral (Tabla 1). El volumen producido se representó por la ecuación $y = 2,986x + 134,06$ ($r^2 = 0,623$). Teniendo en cuenta la ecuación de regresión y el efecto lineal del nivel de suplementación, por cada gramo de suplemento consumido, el volumen se incrementó en 2,986 ml (Gráfica 1).

Gráfica 1. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre el volumen seminal, en cerdos reproductores



CP = Contraste polinomial. (L) Lineal; (Q) Cuadrático; (C) Cúbico; (NS) No Significativo

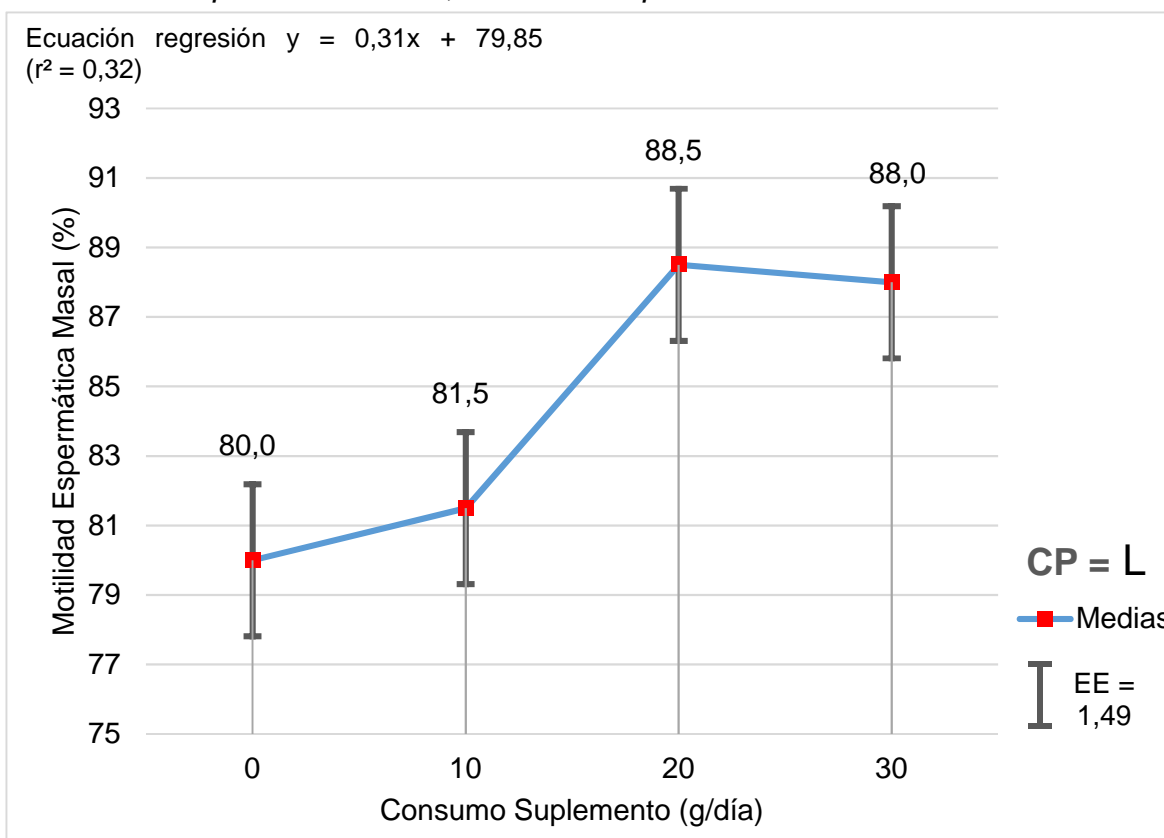
EE = Error estándar

* = Se 0,000 7%; Zn 0,20 %; Cu 0,017 %; Mn 0,033 %; Fe 0,23 %

4.1.2 Motilidad espermática (%)

4.1.2.1 Motilidad espermática masal. La motilidad espermática se incrementó linealmente ($p < 0,001$), en función de la oferta del suplemento mineral (Tabla 1) y se representó por la ecuación $y = 0,31x + 79,85$ ($r^2 = 0,32$). Teniendo en cuenta la ecuación de regresión y el efecto lineal del nivel de suplementación, por cada gramo de suplemento consumido, el porcentaje de motilidad espermática masal aumentó 0,31 % (Gráfica 2).

Gráfica 2. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre la motilidad espermática masal, en cerdos reproductores



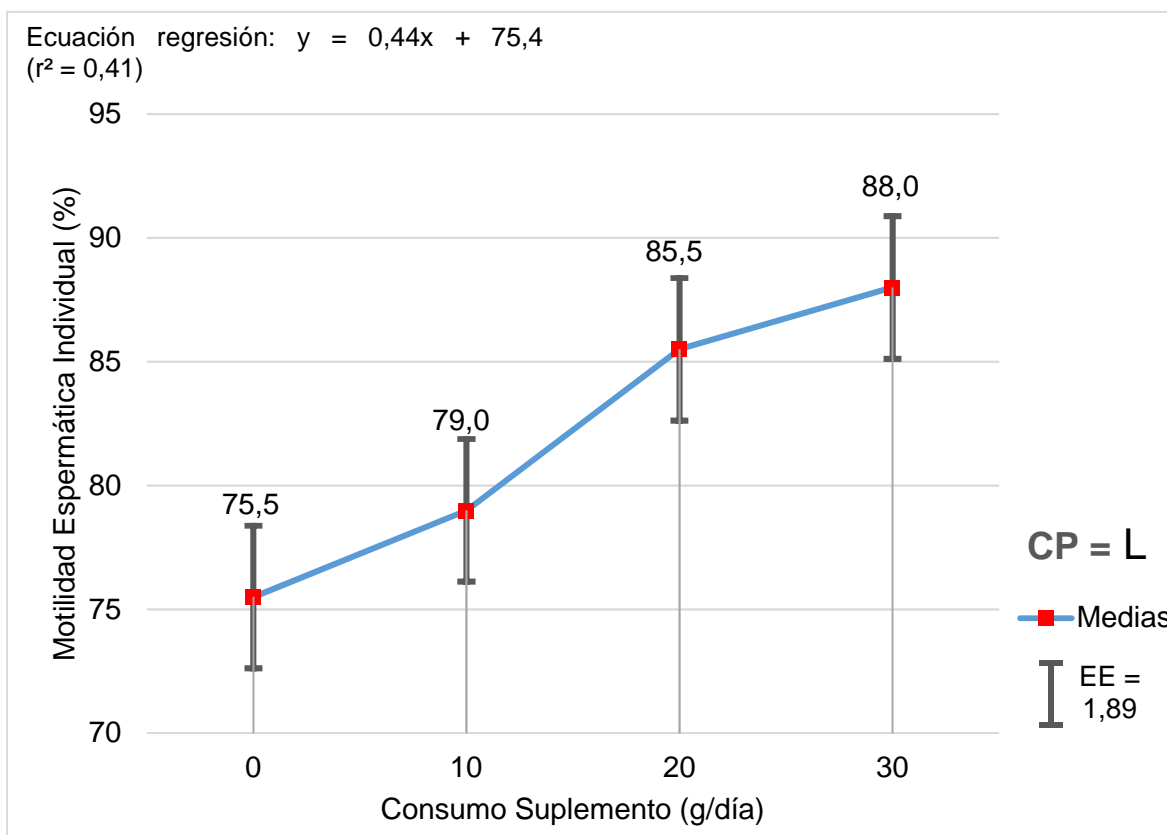
CP = Contraste polinomial. (L) Lineal; (Q) Cuadrático; (C) Cúbico; (NS) No Significativo

EE = Error estándar

* = Se 0,0007 %; Zn 0,20 %; Cu 0,017 %; Mn 0,033 %; Fe 0,23 %

4.1.2.2 Motilidad espermática individual. La motilidad espermática individual se incrementó linealmente ($p < 0,001$) en función de la oferta del suplemento mineral (Tabla 1) y se representó por la ecuación $y = 0,44x + 75,4$ ($r^2 = 0,41$). Teniendo en cuenta la ecuación de regresión y el efecto lineal del nivel de suplementación, por cada gramo de suplemento consumido, el porcentaje de motilidad aumentó 0,44 % (Gráfica 3).

Gráfica 3. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre la motilidad espermática individual, en cerdos reproductores



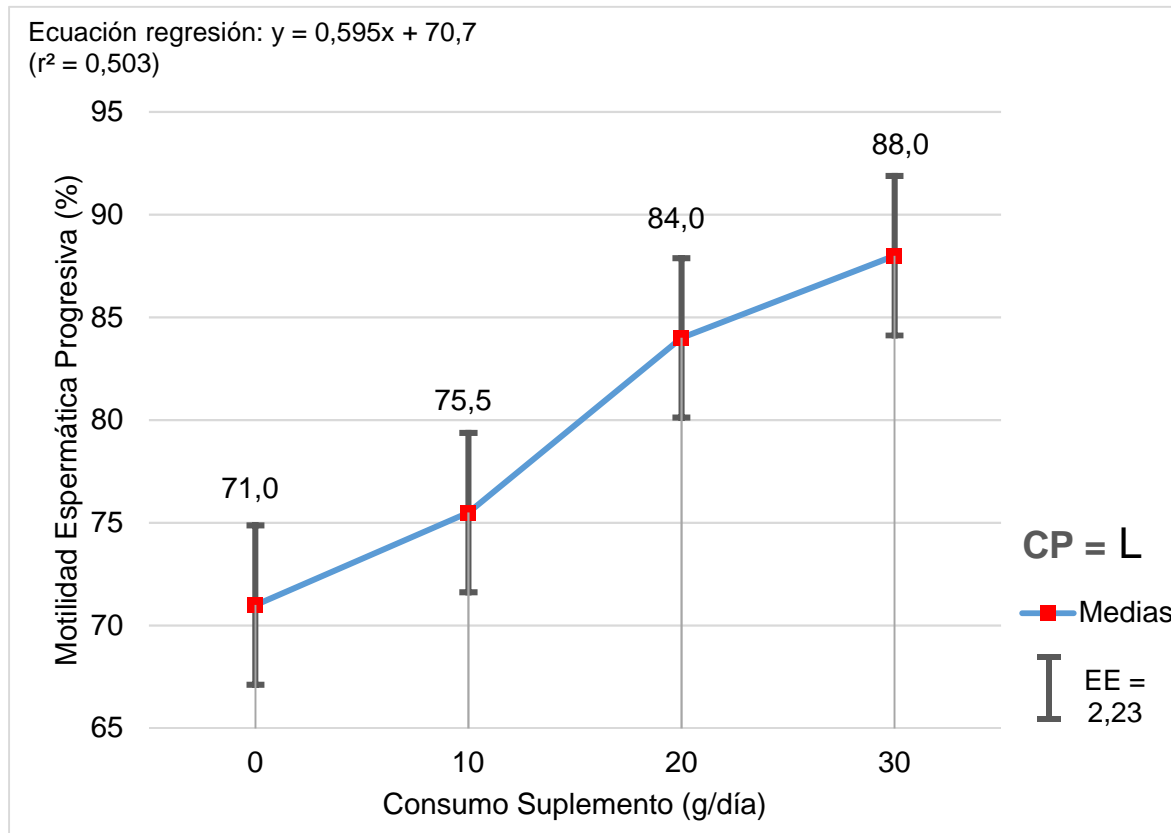
CP = Contraste polinomial. (L) Lineal; (Q) Cuadrático; (C) Cúbico; (NS) No Significativo

EE = Error estándar

* = Se 0,0007 %; Zn 0,20 %; Cu 0,017 %; Mn 0,033 %; Fe 0,23 %

4.1.2.3 Motilidad espermática progresiva. La motilidad espermática progresiva del eyaculado se incrementó linealmente ($p < 0,001$) en función de la oferta del suplemento mineral (Tabla 1) y se representó por la ecuación $y = 0,595x + 70,7$ ($r^2 = 0,503$). Teniendo en cuenta la ecuación de regresión y el efecto lineal del nivel de suplementación, por cada gramo de suplemento consumido, el porcentaje de motilidad progresiva aumentó 0,595 % (Gráfica 4).

Gráfica 4. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre la motilidad espermática progresiva, en cerdos reproductores



CP = Contraste polinomial. (L) Lineal; (Q) Cuadrático; (C) Cúbico; (NS) No Significativo

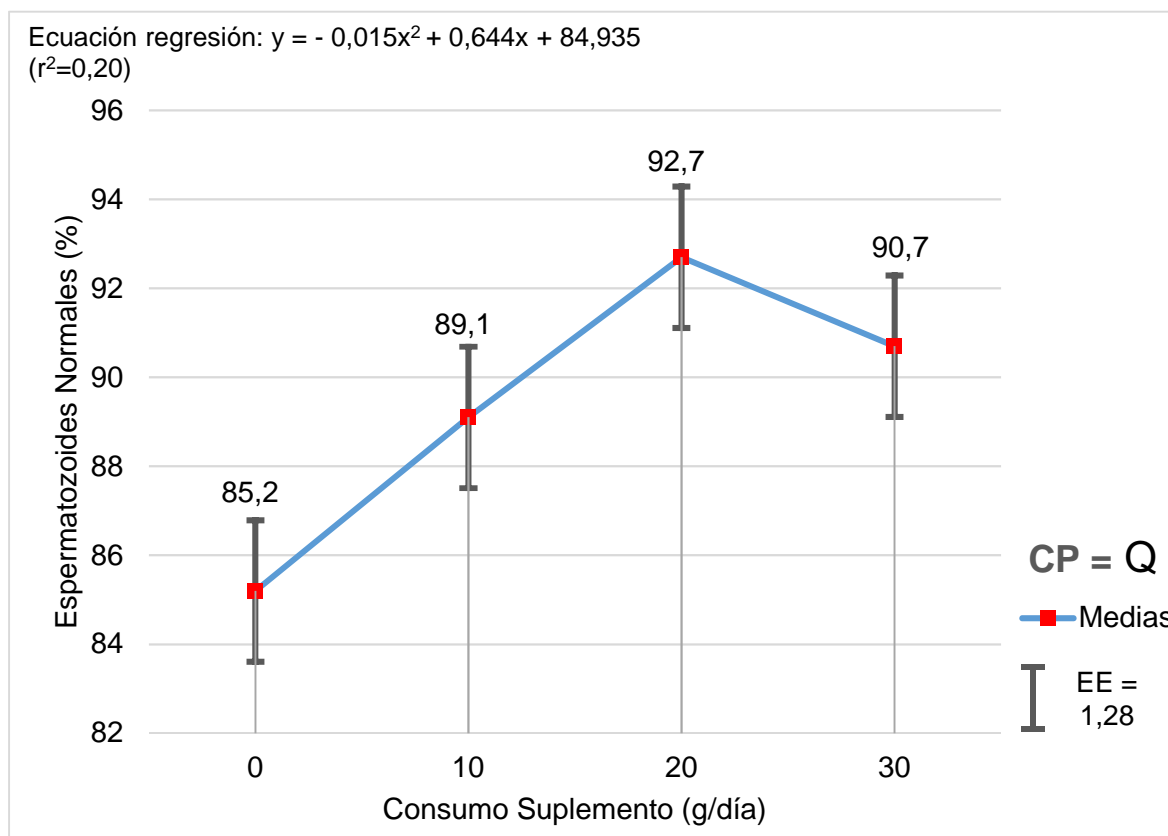
EE = Error estándar

* = Se 0,0007 %; Zn 0,20 %; Cu 0,017 %; Mn 0,033 %; Fe 0,23 %

4.1.3 Morfología espermática (%)

4.1.3.1 Morfología – espermatozoides normales. El porcentaje de espermatozoides normales del eyaculado fue influenciado de forma cuadrática ($p < 0,05$) en función del consumo del suplemento mineral (Tabla 1), y se representó por la ecuación $y = -0,015x^2 + 0,644x + 84,935$ ($r^2 = 0,20$). En este caso se notó un incremento (7,5 %) en la concentración de espermatozoides normales entre los niveles 0 y 20 g de suplementación, y un descenso a partir de la oferta de 30 g, presentando una disminución de 2 % entre la oferta de 20 a 30 g (Gráfica 5).

Gráfica 5. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre el porcentaje de espermatozoides normales, en el eyaculado de cerdos reproductores



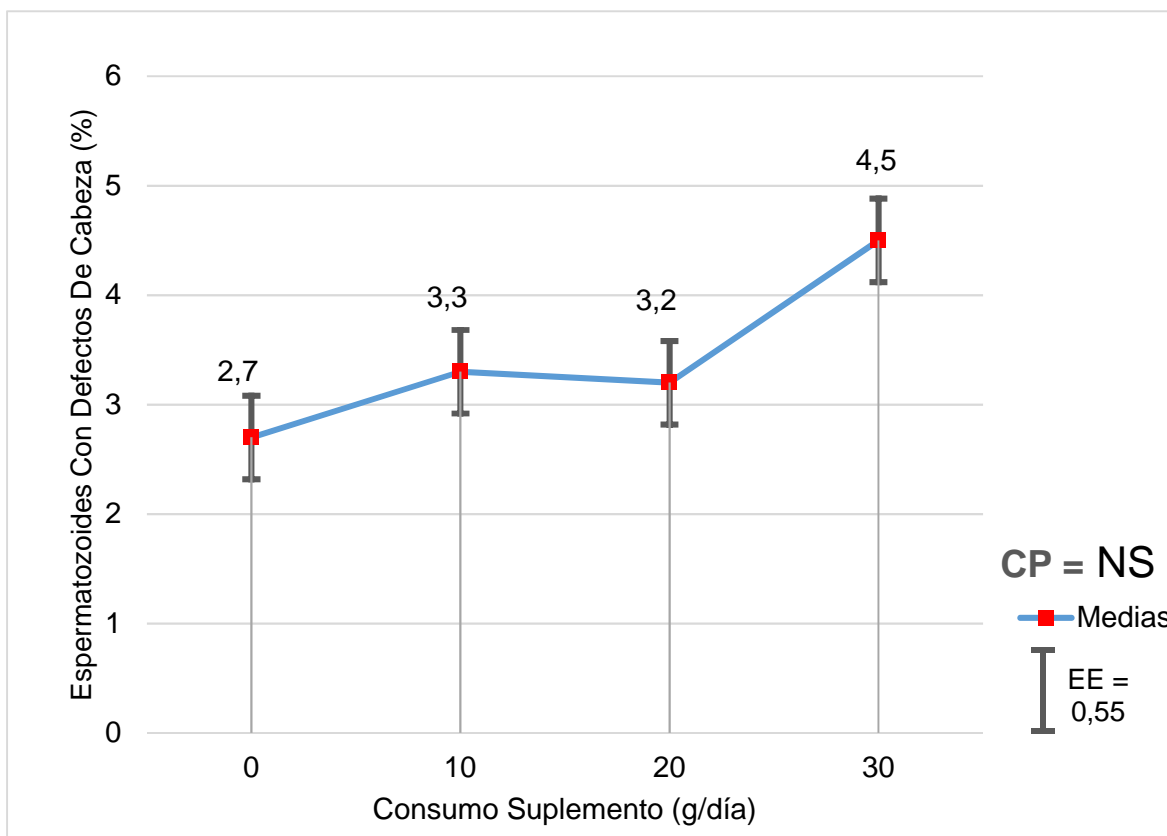
CP = Contraste polinomial. (L) Lineal; (Q) Cuadrático; (C) Cúbico; (NS) No Significativo

EE = Error estándar

* = Se 0,0007 %; Zn 0,20 %; Cu 0,017 %; Mn 0,033 %; Fe 0,23 %

4.1.3.2 Morfología – espermatozoides con defectos de cabeza. La proporción de espermatozoides con defectos de cabeza no fue influenciada por el consumo del suplemento mineral ($p>0,05$) (Tabla 1), y presentó una media general de 3,43 %.

Gráfica 6. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre el porcentaje de espermatozoides con defectos de cabeza, en el eyaculado de cerdos reproductores



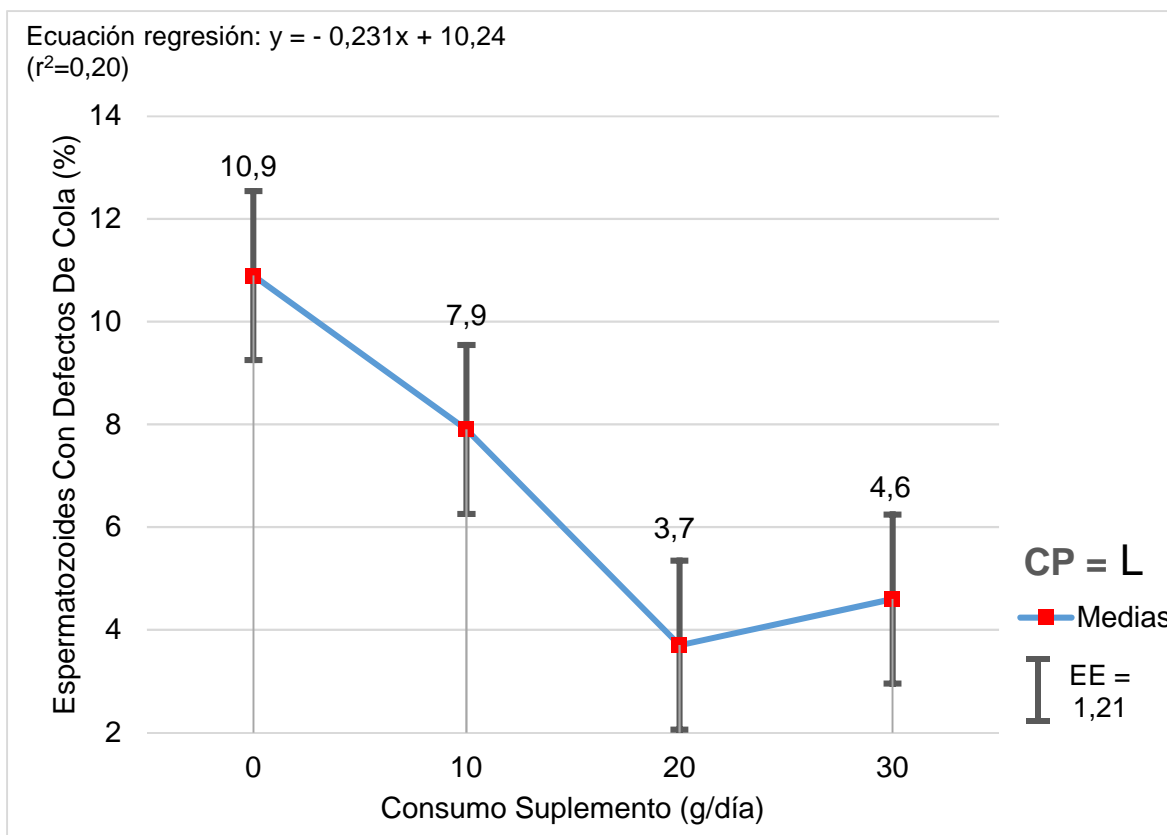
CP = Contraste polinomial. (L) Lineal; (Q) Cuadrático; (C) Cúbico; (NS) No Significativo

EE = Error estándar

* = Se 0,0007 %; Zn 0,20%; Cu 0,017 %; Mn 0,033 %; Fe 0,23 %

3.1.3.3 Morfología – espermatozoides con defectos de cola. Se observó un efecto decreciente de tipo lineal ($p < 0,001$; $r^2 = 0,20$) en la proporción de espermatozoides con defectos de cola (Tabla 1), a pesar del incremento de esta anomalía morfológica entre el nivel de 20 y 30 g de suplemento. La ecuación que representó el comportamiento de la variable fue $y = -0,231x + 10,24$ (Gráfica 7). Los defectos de cola tendieron a disminuir con el incremento en la ingestión de suplemento mineral, pasando de 10,9 % en el nivel 0 de suplementación a 3,7 % al consumir 20 g. A partir de los 20 g de consumo se notó un incremento, aunque reducido (0,9 %), en la proporción de espermatozoides con defectos de cola, en comparación al nivel 30 g.

Gráfica 7. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre el porcentaje de espermatozoides con defectos de cola, en el eyaculado de cerdos reproductores



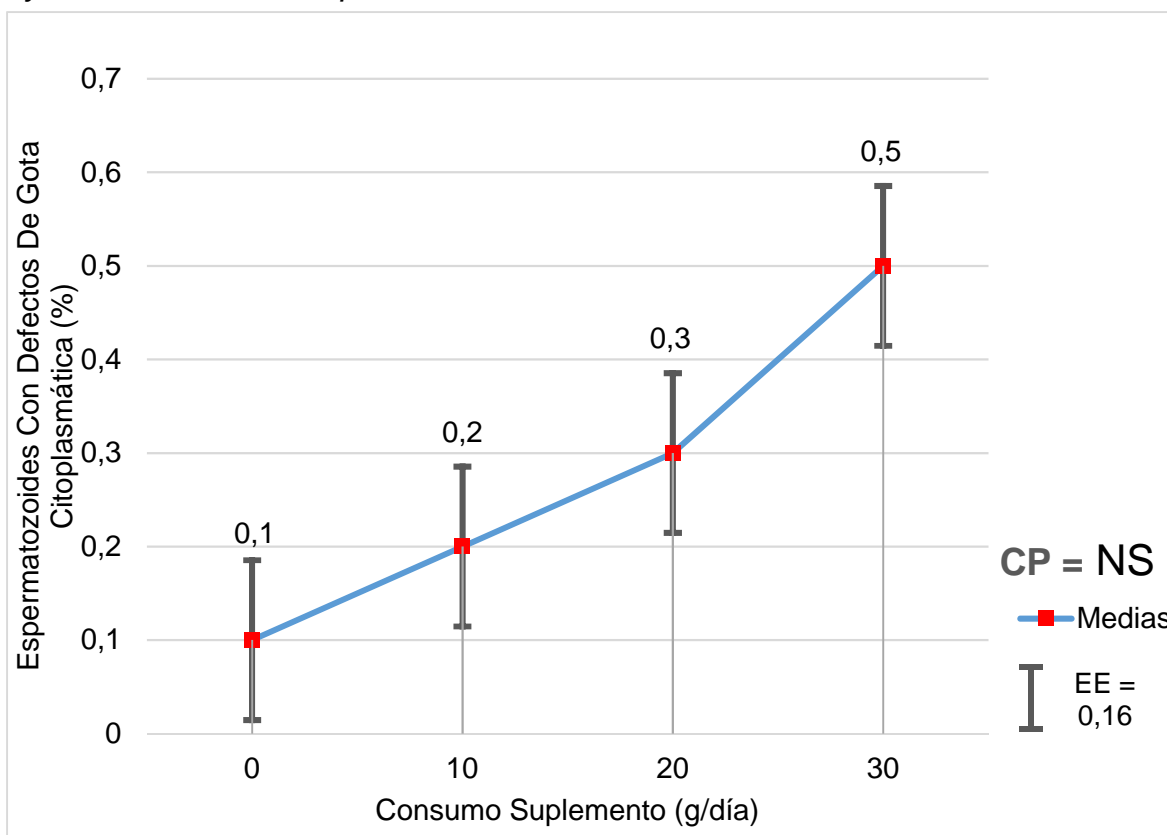
CP = Contraste polinomial. (L) Lineal; (Q) Cuadrático; (C) Cúbico; (NS) No Significativo

EE = Error estándar

* = Se 0,0007 %; Zn 0,20 %; Cu 0,017 %; Mn 0,033 %; Fe 0,23 %

3.1.3.4 Morfología – espermatozoides con defectos de gota citoplasmática. No se encontró efecto de la suplementación mineral sobre la proporción de espermatozoides con defectos de gota citoplasmática ($p>0,05$), a pesar del aparente incremento en los valores, en la medida en que el consumo de suplemento aumentó (Tabla 1; Gráfica 8), observándose un valor medio de 0,275 %.

Gráfica 8. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre el porcentaje de espermatozoides con defectos de gota citoplasmática, en el eyaculado de cerdos reproductores



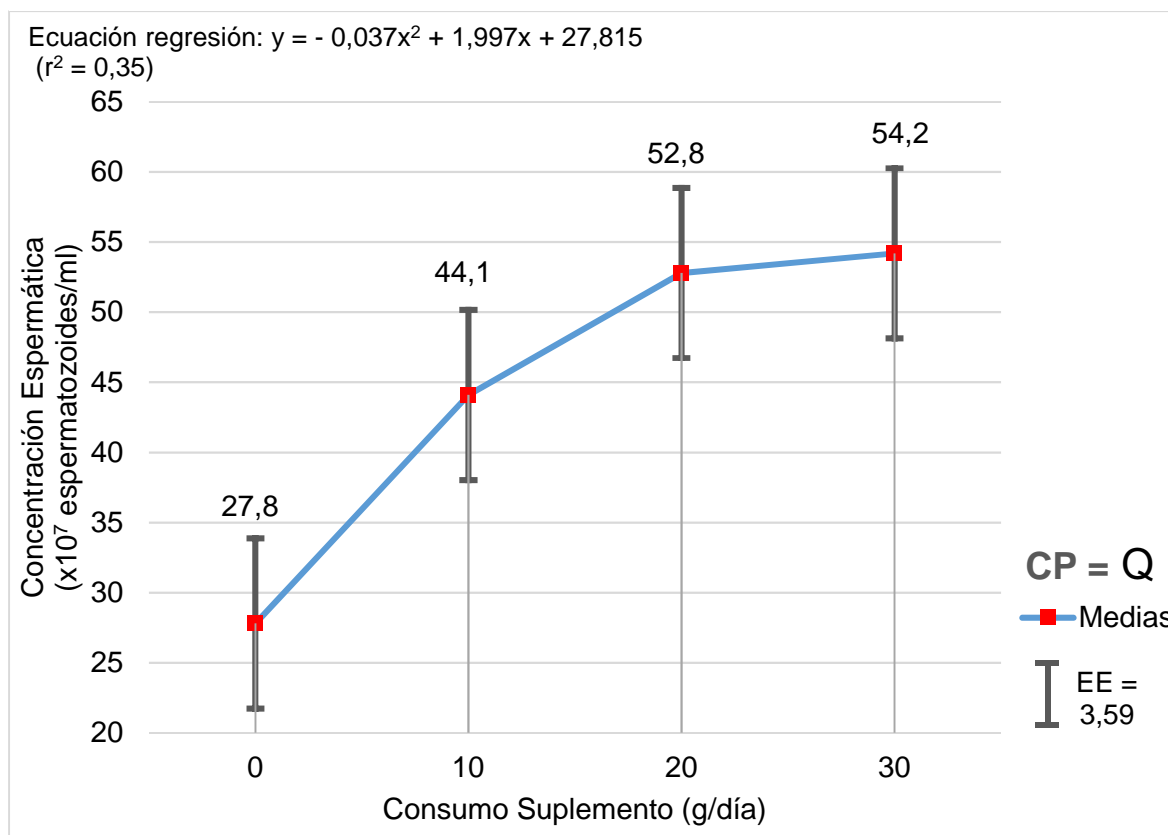
CP = Contraste polinomial. (L) Lineal; (Q) Cuadrático; (C) Cúbico; (NS) No Significativo

EE = Error estándar

* = Se 0,0007 %; Zn 0,20 %; Cu 0,017 %; Mn 0,033 %; Fe 0,23 %

3.1.4 Concentración espermática ($\times 10^7$ espermatozoides/ml). La concentración espermática del eyaculado fue influenciada cuadráticamente ($p < 0,05$) por la ingestión de suplemento mineral (Tabla 1). La ecuación que representó el comportamiento fue $y = - 0,037x^2 + 1,997x + 27,815$ ($r^2 = 0,35$) (Gráfica 9). El incremento más notorio (16,3 %) se presentó hasta el nivel de consumo de suplemento de 10 g/día, de ahí en adelante el efecto fue menos notorio, aunque siempre positivo.

Gráfica 9. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre la concentración espermática, en cerdos reproductores



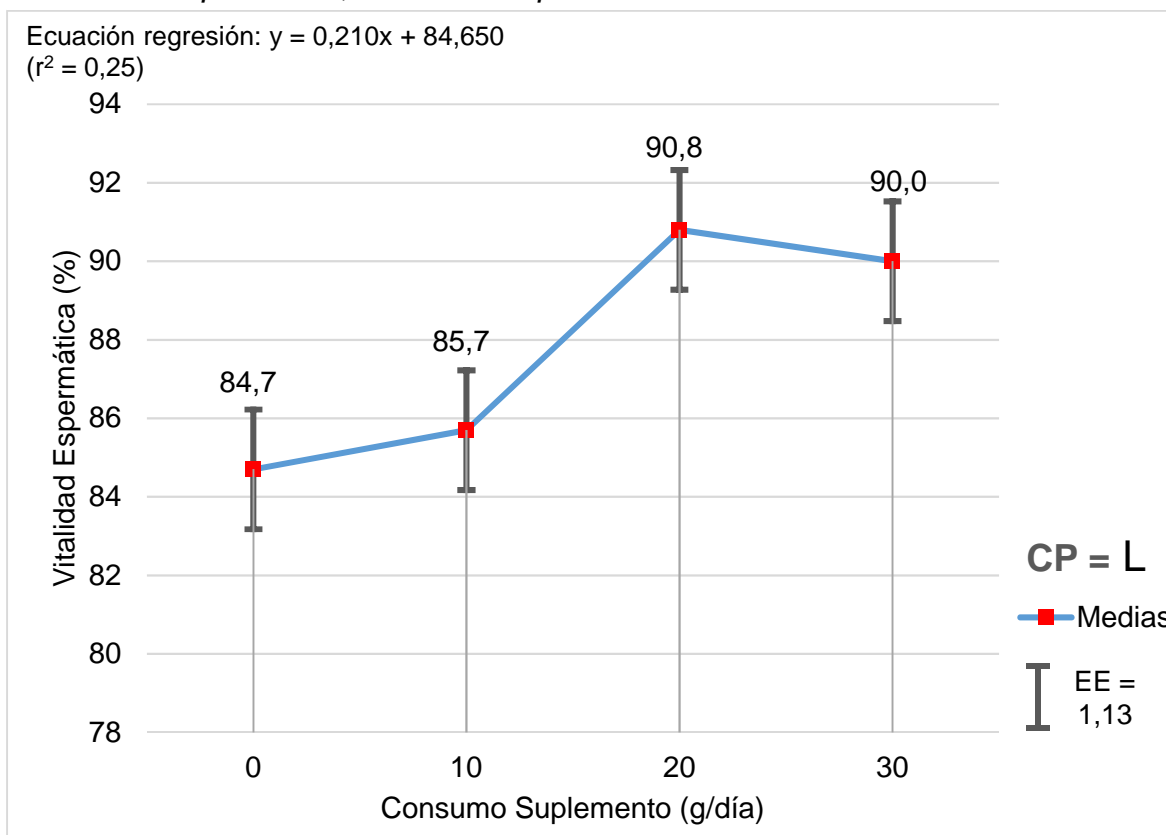
CP = Contraste polinomial. (L) Lineal; (Q) Cuadrático; (C) Cúbico; (NS) No Significativo

EE = Error estándar

* = Se 0,0007 %; Zn 0,20 %; Cu 0,017 %; Mn 0,033 %; Fe 0,23 %

3.1.5 Vitalidad espermática (%). La vitalidad del eyaculado se incrementó en forma lineal ($p < 0,001$) en función de la oferta del suplemento mineral (Tabla 1). La vitalidad del eyaculado se representó por la ecuación $y = 0,210x + 84,650$ ($r^2 = 0,25$). Teniendo en cuenta la ecuación de regresión y el efecto lineal del nivel de suplementación, por cada gramo de suplemento consumido, el porcentaje de vitalidad aumentó 0,210 % (Gráfica 10).

Gráfica 10. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre la vitalidad espermática, en cerdos reproductores



CP = Contraste polinomial. (L) Lineal; (Q) Cuadrático; (C) Cúbico; (NS) No Significativo

EE = Error estándar

* = Se 0,0007 %; Zn 0,20 %; Cu 0,017 %; Mn 0,033 %; Fe 0,23 %

4.2 CUALIFICACIÓN DE LAS VARIABLES SEMINALES NO PARAMÉTRICAS (PH, COLOR Y ASPECTO)

4.2.1. pH seminal (subjetivo). El pH seminal no fue influenciado significativamente por el consumo del suplemento mineral ($p > 0,05$). Relacionándose, teniendo en cuenta la coloración del papel de pH, a una escala de 8, durante todo el experimento (Tabla 2).

Tabla 2. Chi cuadrado de Pearson aplicado a la variable pH

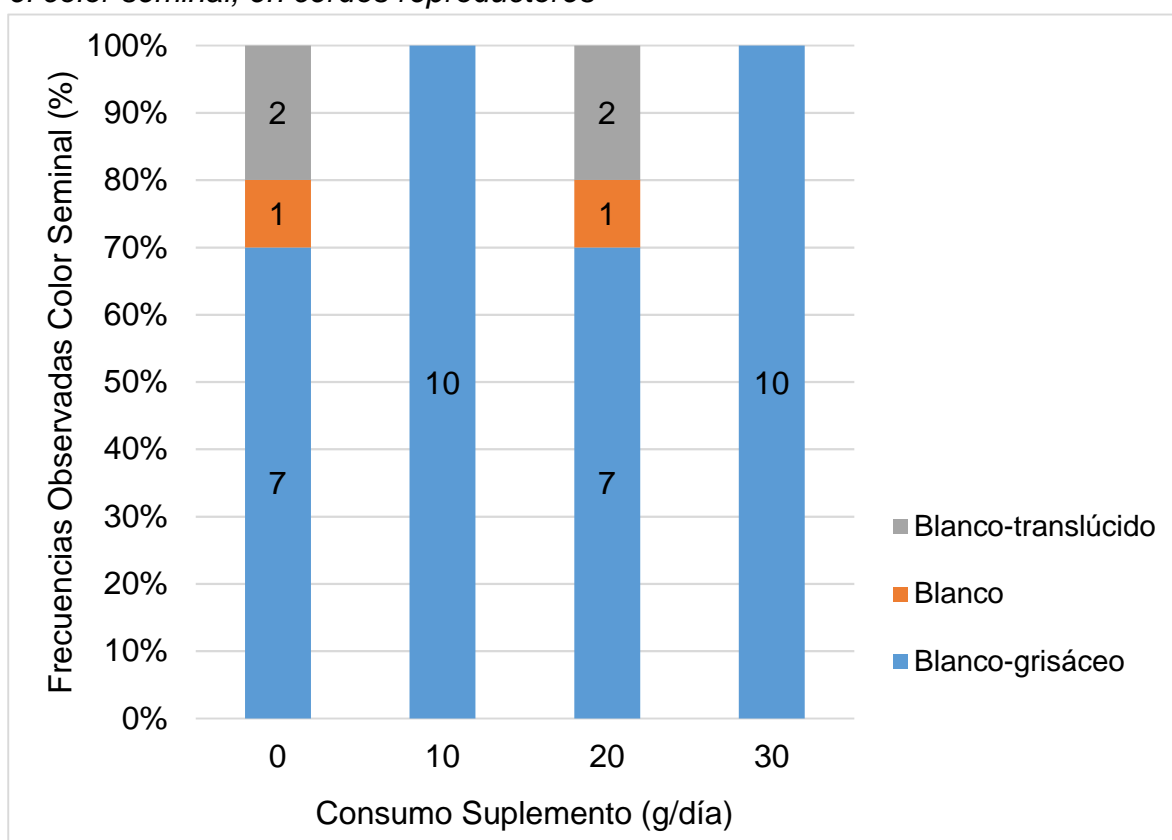
Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	0	3	>0,9999
Coef.Conting.Pearson	0	3	

4.2.2 Color seminal (subjetivo). No se observaron variaciones significativas en el color en función de la oferta de suplemento ($p = 0,3154$) como se aprecia en la Tabla 2. En la Gráfica 12 se observan las frecuencias encontradas para la variable color, en cada nivel de consumo de suplemento mineral.

Tabla 3. Chi cuadrado de Pearson aplicado a la variable color

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	7,06	6	0,3154
Coef.Conting.Pearson	0,39		

Gráfica 11. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre el color seminal, en cerdos reproductores



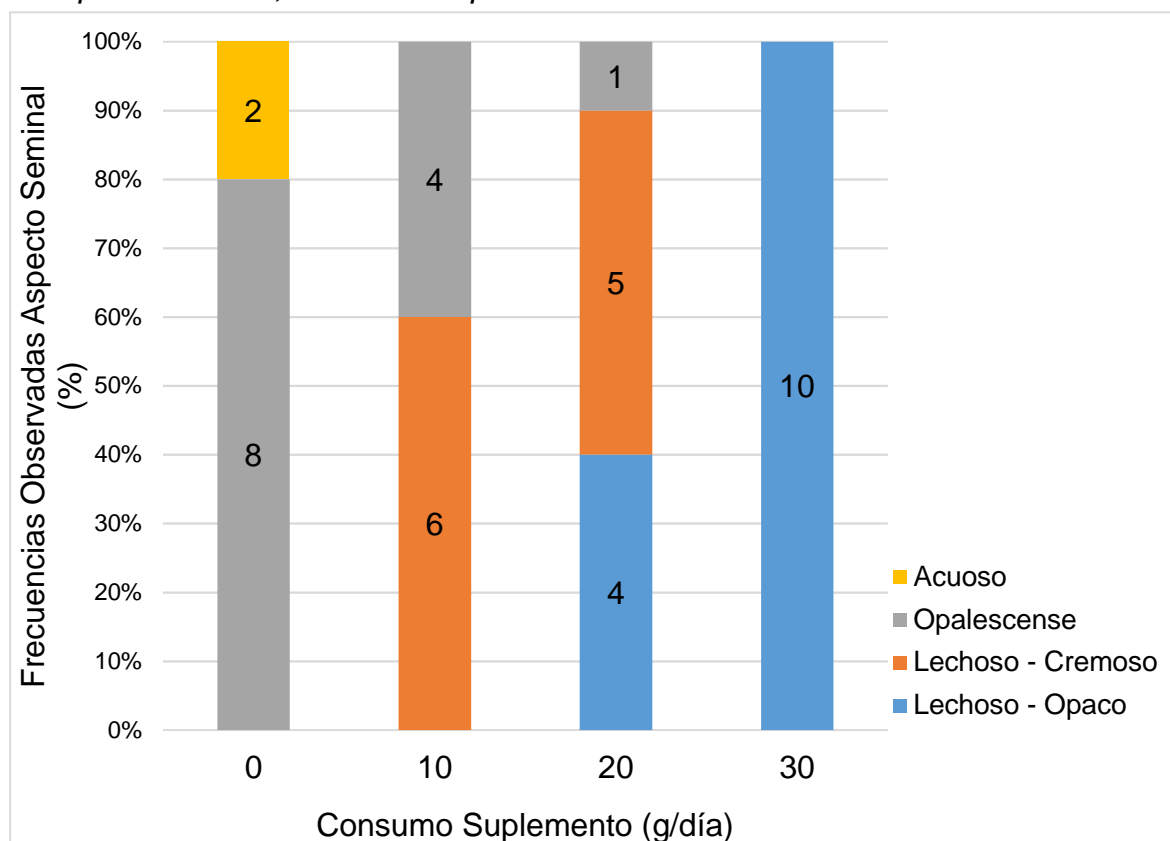
* = Se 0,0007 %; Zn 0,20 %; Cu 0,017 %; Mn 0,033 %; Fe 0,23 %

4.2.3 Aspecto seminal (subjetivo). El aspecto seminal varió en función del consumo de suplemento mineral ($p < 0,001$) como se aprecia en la Tabla 4 y en la Gráfica 13. En cada nivel de suplementación se observaron frecuencias diferentes en relación a los tipos de aspecto estudiados. En el semen de los animales no suplementados predominó el aspecto opalescente, el aspecto lechoso – cremoso predominó en los niveles 10 y 20 g/día, y el aspecto lechoso – opaco se apreció en todos los eyaculados procedentes de animales suplementados con 30 g/día.

Tabla 4. Chi cuadrado de Pearson aplicado a la variable aspecto

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	48,25	9	<0,0001
Coef.Conting.Pearson	0,74		

Gráfica 12. Efecto de la oferta de niveles crecientes de suplemento mineral* sobre el aspecto seminal, en cerdos reproductores



* = Se 0,0007 %; Zn 0,20 %; Cu 0,017 %; Mn 0,033 %; Fe 0,23 %

5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

El impacto del suplemento mineral, en este estudio, fue analizado y comparado con respecto a dos de sus componentes que, según la teoría, son los más estudiados y de mucha importancia en el aspecto reproductivo de los verracos. Tales compuestos son el zinc y el selenio^{110,111}. Cabe decir, también, que las interacciones entre microelementos se dan a modo de tándem (interacciones entre dos o más elementos que se complementan) y no de forma aislada¹¹².

5.1 ANÁLISIS DE LAS VARIABLES SEMINALES PARAMÉTRICAS (VOLUMEN, MOTILIDAD, MORFOLOGÍA, CONCENTRACIÓN Y VITALIDAD)

5.1.1 Volumen seminal

Los niveles de suplemento afectaron de manera positiva esta característica, produciendo un aumento considerable del volumen seminal, asociado a un efecto lineal de suplementación mineral de 10, 20 y 30 g ($p < 0,05$). Estudios llevados a cabo por diversos autores, con selenio como componente mineral primario de la mezcla alimenticia, en la especie porcina, muestran igualmente mejoras significativas en este parámetro^{113,114}. En contraste, otros autores exponen que, posiblemente, la suplementación mineral con selenio no afecte de manera significativa este

¹¹⁰ CHEAH, Y. y YANG, W. Functions Of Essential Nutrition For High Quality Spermatogénesis. En: Advances In Bioscience And Biotechnology. Agosto, 2011. vol. 2, no. 4, p. 182-197.

¹¹¹ KING'ORI, Anthony. The Breeding Boar – Maximizing Productivity. En: International Journal Of Livestock Research. Septiembre, 2012. vol. 2, no. 3, p. 7-14.

¹¹² PATIENCE, J.; THACKER, P. y DE LANGE, C. Swine Nutrition Guide. 2 ed. Canada: Prairie Swine Center Inc., 1995. 296 p.

¹¹³ MARÍN-GUZMÁN, J. *et al.* Effects Of Dietary Selenium And Vitamin E On Boar Performance And Tissue Responses, Semen Quality And Subsequent Fertilization Rates In Mature Gilts. En: Journal Of Animal Science. Octubre, 1997. vol. 75, no. 11, p. 2994-3003.

¹¹⁴ SOLIS, Karla. Evaluación De La Calidad De Semen De Verracos Utilizados Para Inseminación Artificial Consumiendo Spermax Forte®. Proyecto especial presentado como requisito para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras: Universidad Zamorano, 2007. 22 p.

parámetro seminal: López *et al.*¹¹⁵; Thongchalam, Rukkwamsul y Chomchai¹¹⁶; Lovercamp *et al.*¹¹⁷.

Otros autores exponen, de igual forma, mejoras significativas en este parámetro, con mezclas alimenticias, cuyo componente mineral primario es el zinc^{118,119}. Sin embargo, estudios hechos exclusivamente en la especie porcina, son escasos¹²⁰. Además, diversos estudios hechos en otras especies, han demostrado resultados similares, en esta variable: Murugesan *et al.*¹²¹; Contri *et al.*¹²²; Kumar *et al.*¹²³; Kumar, P., Yadav, B., y Yadav, S.¹²⁴; El-Masry, Nasr y Kamal¹²⁵.

¹¹⁵ LÓPEZ, Alfonso *et al.* Effect of Organic Selenium in the Diet on Sperm Quality of Boars. En: *Reproduction In Domestic Animals*. 2010. vol. 45, p. 297-305.

¹¹⁶ THONGCHALAM, Khuanruan; RUKKWAMSUL, Theera y CHOMCHAI, Srisuwan. Blood And Semen Selenium Concentrations And Semen Quality In Boars Supplemented With Organic or Inorganic Selenium. En: *Journal Of Animal And Veterinary Advances*. 2012. vol. 11, no. 5, p. 603-608.

¹¹⁷ LOVERCAMP, K. *et al.* Effect Of Dietary Selenium On Boar Sperm Quality. En: *Animal Reproduction Science*. Mayo, 2013. vol. 138, no. 3-4, p. 268-275.

¹¹⁸ HORKÝ, P.; JAN ÍKOVÁ, P. y ZEMAN, L. The Influence Of The Organic And Inorganic Form Of Zinc On Volume Ejaculate, Sperm, Concentration And Percentaje Of Pathologic Sperm. En: *Research In Pigs Breeding*. 2011. vol. 5, no. 1, p. 22-27.

¹¹⁹ ARESTOVA, Inessa y ALEKSEEV, Vladislav. Morphological Analysis Of The Sperms Of Breeding Boars Maintained On Nutritional Supplements. En: *Global Veterinaria*. 2013. vol. 11, no. 1, p. 84-87.

¹²⁰ ESTIENNE, Mark y HARPER, Allen. Maximizing Boar Productivity With Optimum Trace Mineral Supplementation. 2005.

¹²¹ SHANMUGAM, M. *et al.* Dietary Organic Zinc And Selenium supplementation Improves Semen Quality And Fertility In Layer Breeders. En: *Indian Journal Of Animal Sciences*. Febrero, 2015. vol. 85, no. 2, p. 202-204.

¹²² CONTRI, A. *et al.* Effect Of Dietary Antioxidant supplementation On Fresh Semen Quality In Stallion. En: *Theriogenology*. Abril, 2011. vol. 75, no. 7, p. 1319-1326.

¹²³ KUMAR, N. *et al.* Effect Of Different Levels And Sources Of Zinc Supplementation On Quantitative And Qualitative Semen Attributes And Serum Testosterone Level In Crossbred Cattle (Bos Indicus x Bos Taurus) Bulls. En: *Reproduction Nutrition Development*. Noviembre-Diciembre, 2006. vol. 46, no. 2006, p. 662-675.

¹²⁴ KUMAR, Pankaj; YADAV, Brijesh y YADAV, Sarvajeet. Effect Of Zinc And Selenium Supplementation On Semen Quality Of Barbari Bucks. En: *Indian Journal Of Animal Research*. 2014. vol. 48, no. 4, p. 366-369.

¹²⁵ EL-MASRY, K.; NASR, A. y KAMAL, T. Influences Of Season And Dietary Supplementation With Selenium And Vitamin E Or Zinc On Some Blood Constituents And Semen Quality Of New Zeland White rabbit Males. En: *World Rabbit Science*. Junio, 2010. vol. 2, no. 3, p. 79-86.

El zinc participa en muchos procesos hormonales, estructurales, enzimáticos, y como componente en diversas funciones a nivel celular y molecular¹²⁶. Esto, sumado al efecto que tiene sobre el eje hipotálamo-hipófisis y los testículos, en donde se ha demostrado que deficiencias de zinc pueden alterar la espermatogénesis y la producción de testosterona¹²⁷. Y la testosterona es necesaria para que la espermatogénesis y, en general, el proceso reproductivo se lleve a cabo; el zinc es un estimulador de la enzima 5 alfa reductasa, que es necesaria para la conversión de testosterona a en su forma biológica activa denominada alfa dihidrotestosterona (DHT)¹²⁸, por lo cual es necesario para mantener los niveles normales de testosterona en los testículos¹²⁹. De acuerdo con lo anterior, niveles de zinc deficientes pueden hacer que la glándula pituitaria aumente la síntesis de gonadotropinas en busca de mantener el proceso de espermatogénesis¹³⁰ y la producción de testosterona¹³¹. Este aumento de la síntesis de FSH y LH puede ser debido a un pobre desarrollo gonadal, que conduce a una baja producción de testosterona¹³² y a una retroalimentación positiva causada por la activina¹³³. El zinc

¹²⁶ OMU, Alexander *et al.* Molecular Basis For The Effects Of Zinc Deficiency On Spermatogenesis: An experimental Study In The Sprague-Dawley Rat Model. En: International Journal Of Urology. Enero-Marzo, 2015. vol. 31, no. 1, p. 57-64.

¹²⁷ LEI, K.; ABBASI, A. y PRASAD, A. Function Of Pituitary-Gonadal Axis In Zinc Deficient Rats. En: American Journal Of Physiology. Junio, 1976. vol. 230, no. 6, p. 1730-1732.

¹²⁸ AL-ANI, N.; AL KAWAZ, U. y SAEED, B. Protective Influence Of Zinc On Reproductive Parameters In Male Rat Treated With Cadmium. En: American Journal Of Medicine And Medical Sciences. 2015. vol. 5, no. 2, p. 73-81.

¹²⁹ AMIDU, N. *et al.* The Impact Of Seminal Zinc And Fructose Concentration On Human Sperm Characteristic. En: Journal Of Medical And Biomedical Sciences. 2012. vol. 1, no.1, p. 14-20.

¹³⁰ ROOT, A. *et al.* Effects Of Zinc Deficiency Upon Pituitary Function In Sexually Mature And Inmature Male Rats. En: Journal Of Nutrition. Junio, 1979. vol. 109, no. 6, p. 958-954.

¹³¹ AL-ANI, N.; AL KAWAZ, U. y SAEED, B. Protective Influence Of Zinc On Reproductive Parameters In Male Rat Treated With Cadmium. En: American Journal Of Medicine And Medical Sciences. 2015. vol. 5, no. 2, p. 73-81.

¹³² MARTIN, G. y WHITE, C. 1992. Effects Of Dietary Zinc Deficiency On Gonadotrophin Secretion And Testicular Growth In Young Male Sheep. En: Journal Reproduction And Fertility. 1994. vol. 101, p. 87-96.

¹³³ GARNER, D. y HAFEZ, E. Espermatozoides y Plasma Seminal. En: HAFEZ, E; HAFEZ, B (eds), Reproducción E Inseminación Artificial. 7 ed. USA: McGraw-Hill, 2002. p. 98-112.

cumple un papel fundamental en el desarrollo sexual¹³⁴ y la espermatogénesis¹³⁵; en deficiencia de zinc, las células de Leydig son anormales, con pérdida de tejido epitelial en los túbulos seminíferos de las gónadas¹³⁶.

El zinc es un estimulador de la espermatogénesis y, especialmente, de la función prostática en varias especies¹³⁷. El volumen del semen está constituido principalmente por secreciones provenientes de los testículos y el epidídimo (2-4%), glándulas bulbouretrales (10-25%), vesículas seminales (14-20%) y, en primer lugar, de la glándula prostática (55-75%)¹³⁸. La fuente primaria de zinc, en el semen, es la próstata, donde se han demostrado las mayores concentraciones de zinc, en este tipo de órganos^{139,140}. La próstata secreta, también, diversos tipos de sustancias. Las secreciones prostáticas incluyen grandes cantidades de Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, Zn⁺⁺, ácido cítrico, fosfatasa ácida y una enzima parecida a la quimiotripsina encargada de licuar el eyaculado. Los testículos y las glándulas accesorias son órganos andrógeno – dependientes¹⁴¹; experimentos llevados a cabo por Kochman

¹³⁴ SHANMUGAM, M. *et al.* Dietary Organic Zinc And Selenium supplementation Improves Semen Quality And Fertility In Layer Breeders. En: Indian Journal Of Animal Sciences. Febrero, 2015. vol. 85, no. 2, p. 202-204.

¹³⁵ YATOO, M. *et al.* Role Of Trace Elements In Animals: A Review. En: Veterinarian World. Diciembre, 2013. vol. 6, p. 963-967.

¹³⁶ CLOSE, W. The Role Of The Boar In Maximizing Reproduction: Effects On Nutrition Management. En: TAYLOR-PICKARD, J.; NOLLET, L (eds), Nutritional Approaches To Arresting The Decline In Fertility Of Pigs And Poultry. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2006. p. 93-115.

¹³⁷ KUMAR, Pankaj; YADAV, Brijesh y YADAV, Sarvajeet. Effect Of Zinc And Selenium Supplementation On Semen Quality Of Barbari Bucks. En: Indian Journal Of Animal Research. 2014. vol. 48, no. 4, p. 366-369.

¹³⁸ BONET, S.; GARCÍA, E. y SEPÚLVEDA, L. The Boar Reproductive System. En: BONET, S.; CASAS, I.; HOLT, W.; YESTE, M. (eds), Boar Reproduction: Fundamentals And New Biological Trends. Ed. Springer, 2013. p. 65-107.

¹³⁹ KUMAR, N. *et al.* Effect Of Different Levels And Sources Of Zinc Supplementation On Quantitative And Qualitative Semen Attributes And Serum Testosterone Level In Crossbred Cattle (Bos Indicus x Bos Taurus) Bulls. En: Reproduction Nutrition Development. Noviembre-Diciembre. 2006. vol. 46, no. 2006, p. 662-675.

¹⁴⁰ CHEAH, Y. y YANG, W. Functions Of Essential Nutrition For High Quality Spermatogénesis. En: Advances In Bioscience And Biotechnology. Agosto, 2011. vol. 2, no. 4, p. 182-197.

¹⁴¹ HAFEZ E. y CUNNINGHAM, G. Regulatory Physiology Of Male Accessory Organs. En: CUNNINGHAM, G.; SCHILL, W.; HAFEZ, E. (eds), Clinics In Andrology. 5 ed. The Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers, 1980. p. 35-38.

*et al.*¹⁴² y Egwurugwu *et al.*¹⁴³ demostraron que se pueden aumentar los niveles basales de FSH y LH, al estimular la GnRH hipotalámica, con administración de complejos con iones de Cu⁺⁺ y Zinc⁺⁺. Estos procesos y estructuras, entonces, son influenciados por la ingesta diaria de este mineral¹⁴⁴

La principal función de la próstata es acumular y secretar grandes cantidades de citrato. Además del citrato, la próstata acumula los niveles más altos de zinc en el organismo¹⁴⁵. El citrato es un anión trivalente orgánico que puede tomar diferentes papeles en los tejidos, como también funcionar como un agente quelador de cationes fisiológicamente importantes como el Ca⁺⁺, Zn⁺⁺ y Mg⁺⁺. Los niveles inusuales de producción de citrato en las células de la glándula prostática, son debidos a la baja actividad de la Aconitasa Mitocondrial (m-aconitasa), la cual previene el metabolismo del citrato a través del ciclo de los ácidos tricarbónicos. La expresión de la m-aconitasa es inhibida por el zinc, aunque el mecanismo exacto no ha sido dilucidado¹⁴⁶. Entonces, en vez de ser oxidado, el citrato sintetizado por las células prostáticas, se acumula y es secretado como un componente mayor del fluido prostático¹⁴⁷.

Hunt *et al.*¹⁴⁸, proponen un modelo para explicar aumento del volumen seminal. Mencionan que I) el citrato es el anión prevalente del fluido prostático, II) el citrato forma complejos con el calcio, magnesio y zinc, III) las concentraciones en el fluido prostático son mayores que el total de los metales divalentes (incluyendo al zinc) y IV) la secreción del fluido prostático está bajo control andrógeno, a nivel de la bomba sodio-potasio. La carga iónica transferida por la activa secreción de citrato, que es

¹⁴² KOCHMAN, K. *et al.* Increased LH And FSH Release From The Anterior pituitary Of Ovariectomized Rat, In Vivo, By Copper-, Nickel-, And Zinc-LHRH Complexes. En: Journal Of Inorganic Biochemistry. Octubre, 1992. vol. 48, no. 1, p. 41-46.

¹⁴³ EGWURUGWU, J. *et al.* Effects Of Zinc On Male Sex Hormones And Semen Quality In Rats. En: Nigerian Journal Of Physiological Sciences. 2013. vol. 28, no. 1, p. 17-22.

¹⁴⁴ MCDOWELL, Lee. Zinc. En: Minerals In Animal And Human Nutrition. 2 ed. The Netherlands: Elsevier, 2003. p. 357-395.

¹⁴⁵ KINDBLOM, Jon. Role Of The prolactin In The Prostate Gland. Gothenburg, Suecia: Intellecta Docusys. 2003. ISBN 91-628-5650-5.

¹⁴⁶ MYCIELSKA, M. *et al.* Citrate Transport And Metabolism In Mammalian Cells. En: BioEssays. Enero, 2009. vol. 31, no. 1, p. 10-20.

¹⁴⁷ COSTELLO, L. y FRANKLIN, R. Novel Role Of Zinc In The Regulation Of Prostate Citrate Metabolism And Its implications In Prostate Cancer. En: The Prostate. Junio, 1998. vol. 35, no. 4, p. 285-296.

¹⁴⁸ HUNT, C. *et al.* Effects Of Dietary Zinc Depletion on Seminal Volume And Zinc Loss, Serum Testosterone Concentrations, And Sperm Morphology In Young Men. En: The American Journal Of Clinical Nutrition. Julio, 1992. vol. 56, no. 1, p. 148-157.

un ión con baja permeabilidad membranal, causa movimiento transmembrana de potasio, cloro y en menor cantidad, sodio. Si estos iones no satisfacen completamente las nuevas condiciones de equilibrio, la carga negativa remanente inducida por citrato es neutralizada por el cotransporte de calcio, magnesio, zinc, hidrógeno no disociado y cationes no difusibles (probablemente poliaminas). Este proceso se realizará hasta que la célula prostática alcance un estado de equilibrio de su medio intracelular, con su medio extracelular¹⁴⁹. En consecuencia, con niveles apropiados de zinc y teniendo en cuenta la influencia que ejerce este elemento en todo el sistema reproductivo del animal¹⁵⁰, se pueden incrementar la secreción y producción de fluidos seminales, especialmente el líquido prostático, a través de la influencia que tienen los andrógenos, principalmente testosterona y prolactina¹⁵¹.

Entonces, un aumento en el volumen seminal, debido a una dieta suplementada con zinc, puede ser atribuido a la inhibición de la enzima m-aconitasa, al efecto trófico del zinc y otros microminerales en las glándulas accesorias y el hipotálamo, y al incremento de la actividad secretoria de las células prostáticas, ya que 50 a 75% del volumen total de semen, proviene de estas células. Además, el zinc puede prolongar la vida del espermatozoide al liberarse, con el plasma seminal, en el eyaculado^{152,153}. Por tanto, un aumento en volumen del plasma seminal significa más ATP para los espermatozoides y, consecuentemente, buena fertilidad¹⁵⁴.

A partir de las anteriores consideraciones se puede afirmar que el efecto marcado del consumo de niveles crecientes de suplemento mineral (microelementos) observado en este trabajo se debe al mayor aporte de minerales micro, los cuales no eran suficientemente aportados por la dieta base.

¹⁴⁹ HEIDEMAN, R. The Molecular And Cellular Bases Of Physiological Regulation 1. En: KLEIN, B. (ed), Cunningham's Textbook Of Veterinary Physiology. 5 ed. St. Louis, Missouri: Elsevier-Saunders, 2013. p. 1-26.

¹⁵⁰ SALGUEIRO, J. *et al.* Zinc As An Essential Micronutrient: A Review. En: Nutrition Reseach. Mayo, 2000. vol. 20, no. 1, p. 737-755.

¹⁵¹ COSTELLO, L. y FRANKLIN, R. Effect Of Prolactin On The Prostate. En: The Prostate. 1994. vol. 24, no. 3, p. 162-166.

¹⁵² CROXFORD, T.; MCCORMICK, N. y KELLEHER, S. Moderate Zinc Deficiency Reduces Testicular Zip6 And Zip10 Abundance And Impairs Spermatogenesis In Mice. En: The Journal Of Nutrition. Marzo, 2011. vol. 141, no. 3, p. 359-365.

¹⁵³ KINDBLOM, Jon. Role Of The prolactin In The Prostate Gland. Gothenburg, Suecia: Intellecta Docusys. 2003. ISBN 91-628-5650-5.

¹⁵⁴ ABED, Asad. y JARAD, Amad. Significance of Some Trace Elements in Semen Of Infertile Men. En: Iboshina Journal Of Medicine And Biomedical Sciences. Mayo, 2014. vol. 6, no. 3, p. 145-151.

5.1.2 Motilidad espermática

Hubo un marcado aumento de este parámetro, con los niveles crecientes de suplementación, y asociado a un efecto lineal ($p < 0,05$), especialmente en los tratamientos T2 y T3, para los rasgos de motilidad masal, individual y progresiva. Investigaciones similares, llevadas a cabo por Solis¹⁵⁵, Marín-Guzmán *et al.*¹⁵⁶ y Tareq *et al.*¹⁵⁷, demostraron resultados similares a los expuestos en este trabajo. Sin embargo, otros estudios similares hechos por López *et al.*¹⁵⁸, Thongchalan *et al.*¹⁵⁹ y por Lovercamp *et al.*¹⁶⁰, dieron resultados no estadísticamente significativos en motilidad progresiva e individual.

Este aumento, podría explicarse porque el selenio es uno de los cofactores de la glutatión peroxidasa (GSH-Px). Esta enzima es un poderoso antioxidante que protege a las células espermáticas del daño causado por las Especies Reactivas De Oxígeno (ROS)¹⁶¹. Por otro lado, un estudio hecho por Marín-Guzmán, Mahan y Whitmoyer¹⁶², demostró que cerdos con dietas bajas en selenio producían células espermáticas con baja concentración de ATP, con alteraciones en la forma de las mitocondrias de la cola y brechas entre la membrana plasmática y la cola, lo que compromete el correcto funcionamiento motriz de la célula espermática. Cabe resaltar, también, que se ha descubierto que existen altas concentraciones de zinc

¹⁵⁵ SOLIS, Karla. Evaluación De La Calidad De Semen De Verracos Utilizados Para Inseminación Artificial Consumiendo Spermax Forte®. Proyecto especial presentado como requisito para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras: Universidad Zamorano, 2007. 22 p.

¹⁵⁶ MARÍN-GUZMÁN, J. *et al.* Effects Of Dietary Selenium And Vitamin E On Boar Performance And Tissue Responses, Semen Quality And Subsequent Fertilization Rates In Mature Gilts. En: Journal Of Animal Science. Octubre, 1997. vol. 75, no. 11, p. 2994-3003.

¹⁵⁷ TAREQ, K. *et al.* Effect Of Selenium And Vitamin E On Acrosome Reaction In Porcine Spermatozoa. En: Reproductive Medicine And Biology. Noviembre, 2010. vol. 9, no. 2, p. 73-81.

¹⁵⁸ LÓPEZ, Alfonso *et al.* Effect of Organic Selenium in the Diet on Sperm Quality of Boars. En: Reproduction In Domestic Animals. 2010. vol. 45, p. 297-305.

¹⁵⁹ THONGCHALAM, Khuanruan; RUKKWAMSUL, Theera y CHOMCHAI, Srisuwan. Blood And Semen Selenium Concentrations And Semen Quality In Boars Supplemented With Organic or Inorganic Selenium. En: Journal Of Animal And Veterinary Advances. 2012. vol. 11, no. 5, p. 603-608.

¹⁶⁰ LOVERCAMP, K. *et al.* Effect Of Dietary Selenium On Boar Sperm Quality. En: Animal Reproduction Science. Mayo, 2013. vol. 138, no. 3-4, p. 268-275.

¹⁶¹ TAREQ. Op. Cit., p. 73-81.

¹⁶² MARÍN-GUZMÁN, J.; MAHAN, D. y WHITMOYER, R. Effect Of Dietary Selenium And Vitamin E On The Ultrastructure And ATP Concentration Of Boar Spermatozoa, And The Efficacy Of Added Sodium Selenite In Extended Semen On Sperm Motility. En: Journal Of Animal Science. Junio, 2000. vol. 78, no. 6, p. 1544-1550.

en la cola del espermatozoide maduro, por lo que se infiere que este mineral, también, está implicado en la utilización y control de energía por medio del ATP¹⁶³; aunque los mecanismos moleculares no están demostrados científicamente, se ha probado de que el zinc extracelular ejerce influencia sobre las mitocondrias de las células y, dentro de éstas, sobre algunas enzimas implicadas en la cadena generadora de energía (m-aconitasa, NADP+), limitando el uso de la energía por la vía de los ácidos tricarbónicos¹⁶⁴.

El zinc y el selenio pueden afectar la conformación estructural y la dinámica motriz de la célula espermática:

5.1.2.1 Conformación estructural. El zinc y el selenio no están predominantemente enlazados a enzimas, sino a las proteínas estructurales del espermatozoide. El zinc está asociado principalmente con las Fibras Densas Externas¹⁶⁵ de la cola del espermatozoide¹⁶⁶. En donde es más probable encontrarlo enlazado a grupos sulfhidrilo, de proteínas ricas en cisteína¹⁶⁷. La selenoproteína GPx4, está localizada en la pieza media del espermatozoide, donde cumple un papel antioxidante y estructural¹⁶⁸.

Las Fibras Densas Externas (*Outer Dense Fibers*, ODF) son estructuras citoesqueléticas propias de la cola del espermatozoide. Consisten en nueve fibras que rodean el axonema por su lado externo, acompañando los microtúbulos en la pieza media y principal, de la cola, por su lado interno. En la actualidad, la capacidad motriz del espermatozoide no se le asigna a las ODF. Sin embargo, su función principal, se admite, es mantener la estructura pasiva elástica y la capacidad de retroceso elástico de la cola. Además, protege a la estructura de la cola contra las fuerzas de choque durante el transporte en el epidídimo y, especialmente, durante

¹⁶³ SHANMUGAM, M. *et al.* Dietary Organic Zinc And Selenium supplementation Improves Semen Quality And Fertility In Layer Breeders. En: Indian Journal Of Animal Sciences. Febrero, 2015. vol. 85, no. 2, p. 202-204.

¹⁶⁴ LEMIRE, Joseph; MAILLOUX, Ryan y APPANNA, Vasu. Zinc Toxicity Alters Mitochondrial Metabolism And Leads To Decreased ATP Production In Hepatocytes. En: Journal Of Applied Toxicology. Marzo, 2008. vol. 28, no. 2, p. 175-182.

¹⁶⁵ HENKEL, Ralf *et al.* Relevance Of Zinc In Human Sperm Flagella And Its Relation To Motility. En: Fertility And Sterility. Junio, 1999. vol. 71, no. 6, p. 1138-1143.

¹⁶⁶ BJÖRNDAHL, L. y KVIST, U. Importance Of Zinc For Human Sperm Head-Tail Connection. En: Acta Pshysiological Scandinavian. Enero, 1982. vol. 116, no. 1, p. 51-55.

¹⁶⁷ BEHNE, D. *et al.* Selenium, Rubidium And Zinc In Human Semen And Semen Fractions. En: International Journal Of Andrology. Octubre, 1988. vol. 11, no. 5, p. 415-423.

¹⁶⁸ AHSAN, U. *et al.* Role Of Selenium In Animal Reproduction – A review. En: Animal Reproduction Science. Abril, 2014. vol. 146, no. 2014, p. 55-62.

la eyaculación. También se les atribuye, como parte de sus funciones, ayudar o brindar soporte al golpe axonémico (fuerza de transmisión)¹⁶⁹.

El espermatozoide inmaduro de los mamíferos tiene un alto contenido de grupos sulfhidrilos (-SH), los cuales están asociados con proteínas¹⁷⁰. Posiblemente estén ligados con moléculas de arginina y cisteína, del espermatozoide¹⁷¹. Durante la formación de las ODF, en la espermatogénesis, el zinc se enlaza a los grupos sulfhidrilo de la cisteína. Pero, durante el tránsito del espermatozoide a través del epidídimo, considerables cantidades de zinc (cerca de un 60%) son reducidas, de los espermatozoides. Los contenidos de zinc en las ODF son disminuidos, provocando una estabilización en las proteínas de estas fibras, debido a la oxidación de los grupos sulfhidrilo (-SH), y convirtiendo esos enlaces, en puentes o enlaces disulfuro (S-S); la curva flagelar es altamente dependiente del diámetro de las ODF, y su radio es determinado por la dureza de estos elementos estructurales. Entonces, las ODF son importantes porque modulan e influyen en el patrón de movimiento. Estas estructuras pueden ser "suavizadas" por el zinc, lo que hace a este mineral, un regulador de la dureza de las ODF. La estabilización de estas estructuras puede servirle al axonema como un contrafuerte de modo que el golpe flagelar se vuelve más estable, fuerte y restringido a una dirección, a causa de los diferentes diámetros de las ODF. Este mecanismo generará motilidad progresiva. Consecuentemente, una alta dureza de las ODF podría resultar en una pobre motilidad; los efectos amplificadores de la cola del espermatozoide dependen de la concentración del zinc en las ODF, puesto que el movimiento de los espermatozoides es mínimo en los testículos y en la cola del epidídimo, en los cuales estas estructuras contienen grandes cantidades de zinc. Sin embargo, aún no es del todo claro por qué grandes cantidades de zinc son incorporadas durante la espermatogénesis, al cuerpo del espermatozoide, sólo para ser eliminadas durante el tránsito epididimal. Se especula que es para que su desarrollo normal no sea perturbado por oxidación prematura de los grupos sulfhidrilo, de las proteínas de las ODF¹⁷².

Deficiencias y excesos de selenio ocasionan reducción de la motilidad, concentración y fertilidad. Dietas deficientes en selenio son asociadas con brechas

¹⁶⁹ PETERSEN, Christoph.; FÜZESI, Laszlo y HOYER-FENDER, Sigrid. Outer Dense Fibers Proteins From Human Sperm Tail: Molecular Cloning And Expression Analyses Of Two cDNA Transcripts Encoding Proteins Of ~70 kDa. En: Molecular Human Reproduction. Julio, 1999. vol. 5, no. 7, p. 627-635.

¹⁷⁰ CALVIN, H.; YU, C. y BEDFORD, J. Effects Of Epididymal Maturation, Zinc (II) And Copper (II) On The Reactive Sulfhydryl Content Of Structural Elements In Rat Spermatozoa. En: Experimental Research. 1973. vol. 81, no.2, p. 333-341.

¹⁷¹ BJÖRNDAHL, L. y KUVIST, U. Human Sperm Chromatin Stabilization: A Proposed Model Including Zinc Bridges. En: Molecular Human Reproduction. Enero, 2010. vol 15, no. 1, p. 23-29.

¹⁷² HENKEL, Ralf *et al.* Relevance Of Zinc In Human Sperm Flagella And Its Relation To Motility. En: Fertility And Sterility. Junio, 1999. vol. 71, no. 6, p. 1138-1143.

entre las mitocondrias espermáticas, gotas citoplasmáticas, pérdida del contacto entre la membrana mitocondrial con la membrana plasmática, rompimiento de las ODF y la presencia de una fusión membranal entre la pieza media y la pieza principal. Además de estos efectos, se pueden observar cromatinas parcialmente condensadas, lo que conlleva al rompimiento del ADN. Por otro lado, las dietas con exceso de selenio también afectan negativamente la motilidad de las células espermáticas; se pueden observar piezas medias y colas en un mismo espacio citoplasmático, lo que ocasiona una incapacidad para que el esperma maduro se impulse apropiadamente y, en consecuencia, se comprometa la calidad espermática y fertilidad del macho reproductor¹⁷³.

5.1.2.2 Dinámica motriz. La circulación de zinc, fuera del epidídimo, parece estar relacionada con la modulación de la motilidad espermática. La motilidad espermática representa una función importante en la capacidad fertilizadora de las células espermáticas. Todas las condiciones asociadas con la activación espermática, como la adquisición de hipermotilidad, capacitación y reacción acrosomal son paralelas a una drástica disminución en el contenido intracelular de zinc. Estos efectos parecen ser revertidos por la exposición a concentraciones fisiológicas de zinc extracelular, adquiridas del plasma seminal. Asumiendo esto, un modelo mecánico teniendo en cuenta al zinc como un inhibidor de la motilidad espermática, debida a la alcalinización intracelular, ha sido recientemente propuesto; el fenómeno de alcalinización intracelular es un paso previo para que se dé la motilidad. La alcalinización, es un evento clave requerido para la activación del CatSper (*Cation Channel Of Sperm*)¹⁷⁴. El CatSper es un canal iónico específico para el Ca⁺⁺. Ese canal se encuentra en el flagelo, y su activación es necesaria para la hipermotilidad. En este sistema, el zinc también actúa como un potente inhibidor del Hv1, un canal situado también en el flagelo, encargado de regular el flujo de protones (H⁺, OH⁻) y mediar la alcalinización intracelular. El Hv1 ejerce control, también, sobre el pH intraflagelar y, por tanto, modula la actividad del CatSper; la actividad del Hv1 puede verse influenciada por la despolarización de membrana, pH intracelular alcalino y remoción de zinc extracelular. Al momento de activarse, el Hv1 induce la alcalinización intracelular al aumentar el pH ácido de la célula espermática (6,0 – 6,5) con sustratos extracelulares alcalinos. Posterior a esto, el Hv1 activa el canal CatSper¹⁷⁵. En consecuencia, el Hv1 causa elevación intracelular de Ca⁺⁺. De esta forma, al momento de la eyaculación, eventos

¹⁷³ SHALINI, Sonia y BANSAL, Mohinder. Dietary Selenium Deficiency As Well As Excess Supplementation Induces Multiple Defects In Epididymal Spermatozoa: Understanding The Role Of Selenium In Male Fertility. En: International Journal Of Andrology. Agosto, 2008. vol. 31, no. 4, p. 438-449.

¹⁷⁴ FORESTA, C. *et al.* Role Of Zinc Trafficking In Male Fertility: From Germ To Sperm. En: Human Reproduction. Junio, 2014. vol. 29, no. 6, p. 1134-1145.

¹⁷⁵ LISHKO, P. *et al.* Acid Extrusion From Human Spermatozoa Is Mediated by Flagellar Voltage-Gated Proton Channel. En: Cell. Febrero, 2010. vol. 40, no. 3, p. 327-337.

fisiológicos como la remoción del zinc extracelular, por agentes quelantes de origen prostático, bajarían rápidamente las concentraciones circundantes de zinc, promoviendo la hipermotilidad espermática (potencial de membrana)¹⁷⁶.

Aunque no es del todo comprendido, hay evidencia que sugiere que el zinc está envuelto en un mecanismo que mantiene al espermatozoide en un estado de quietud transitoria, hasta su llegada al tracto reproductor de la hembra¹⁷⁷.

5.1.3 Morfología espermática

La proporción de espermatozoides normales se afectó de manera cuadrática, por la ingestión del suplemento, y la proporción de defectos de cola disminuyó en la medida en que se incrementó el consumo de suplemento ($p < 0,05$). En el caso de defectos de cabeza y sobre gotas citoplasmáticas, no se observó efecto de los tratamientos ($p > 0,05$). Otros Investigadores también encontraron mejoras en estos parámetros: Solis¹⁷⁸; Kolodziej y Jacyno¹⁷⁹; Marín-Guzmán *et al.*¹⁸⁰; Jacyno, Kawecka y Kamyczek¹⁸¹; Arestova y Aleksev¹⁸². Estos le atribuyen tal mejoría, al poder antioxidante del GSH-Px (Glutación Peroxidasa) y su eficaz protección frente al daño producido por agentes externos, como los Especies Reactivas De Oxígeno (ROS). La GSH-Px es una enzima que se encarga de eliminar residuos del metabolismo celular (peróxido de hidrógeno)¹⁸³. El exceso ROS, frecuentemente,

¹⁷⁶ FORESTA, C. *et al.* Role Of Zinc Trafficking In Male Fertility: From Germ To Sperm. En: Human Reproduction. Junio, 2014. vol. 29, no. 6, p. 1134-1145.

¹⁷⁷ *Ibíd.*, p. 1134-1145.

¹⁷⁸ SOLIS, Karla. Evaluación De La Calidad De Semen De Verracos Utilizados Para Inseminación Artificial Consumiendo Spermax Forte®. Proyecto especial presentado como requisito para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras: Universidad Zamorano, 2007. 22 p.

¹⁷⁹ KOLODZIEJ, Anita y JACYNO, Eugenia. Effect Of Dietary Selenium And Vitamin E Supplementation On Reproductive Performance Of Young Boars. En: Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Animal Husbandry. 2004. vol. 7, no. 1.

¹⁸⁰ MARÍN-GUZMÁN, J. *et al.* Effects Of Dietary Selenium And Vitamin E On Boar Performance And Tissue Responses, Semen Quality And Subsequent Fertilization Rates In Mature Gilts. En: Journal Of Animal Science. Octubre, 1997. vol. 75, no. 11, p. 2994-3003.

¹⁸¹ JACYNO, E.; KAWECKA, M. y KAMYCZEK, M. Influence Of Organic Se + Vitamin E And Organic Se + Vitamin E On Reproductive Performance Of Young Boars. En: Agricultural And Food Science In Finland. 2002. vol. 11, no. 2002, p. 175-184.

¹⁸² ARESTOVA, Inessa y ALEKSEEV, Vladislav. Morphological Analysis Of The Sperms Of Breeding Boars Maintained On Nutritional Supplements. En: Global Veterinaria. 2013. vol. 11, no. 1, p. 84-87.

¹⁸³ SURAI, Peter y FISININ, Vladimir. Selenium in Pig Nutrition and Reproduction: Boars and Semen Quality — A Review. En: Asian Australasian Journal Of Animal Science. Mayo, 2015. vol. 8, no. 5, p. 730-746.

conlleva a errores en la espermatogénesis que resultan en la liberación prematura del espermatozoide del epitelio germinal y exhibiendo anomalías estructurales¹⁸⁴. Además de lo anterior, aunque la GSH-Px está presente *per se* en el eyaculado, hay evidencia que sugiere que la suplementación con selenio, incrementa su actividad¹⁸⁵.

El zinc juega un papel importante en la función de los receptores de hormonas y el selenio, como un modulador de la expresión de ciertos factores de transcripción, como el AP-1.

Para estimular el proceso de espermatogénesis, la testosterona, así como las otras hormonas secretadas por los machos, necesita enlazarse a su respectivo receptor intracelular. Una vez que la hormona se asocia con su molécula receptora, el complejo es transportado del citoplasma al núcleo celular, donde se enlaza a un segmento específico de ADN y un ARN polimerasa (un factor de transcripción y metaloenzima). Una deficiencia en zinc, puede ocasionar que el complejo receptor-hormona no enlace al ADN. Por otro lado, una deficiencia en selenio puede ocasionar que los genes c-Jun y c-Fos, precursores del factor de transcripción AP-1, no expresen todo su potencial. Esto podría imposibilitar la activación de los genes regulados por estos factores de transcripción y, por tanto, ocasionar anomalías endocrinológicas asociadas con deficiencias de zinc. También podrían afectar la actividad de ARN polimerasa, directamente¹⁸⁶.

La FSH es la hormona predominante en la espermatogénesis, mientras la testosterona regula las últimas fases de esta. Ambas son muy importantes para el proceso espermatogénico¹⁸⁷. Deficiencias de zinc ocasionan baja producción de FSH y testosterona, lo que comprometería el desarrollo normal del espermatozoide¹⁸⁸; tanto la FSH como la testosterona son necesarias en todos los

¹⁸⁴ BANSAL, Amrit y BILASPURI, Gurmail. Impacts of Oxidative Stress and Antioxidants On Semen Functions. En: Veterinary Medicine International. Septiembre, 2010. vol. 2011, p. 1-7.

¹⁸⁵ MAR MARÍN-GUZMÁN, J. *et al.* Effects Of Dietary Selenium And Vitamin E On Boar Performance And Tissue Responses, Semen Quality And Subsequent Fertilization Rates In Mature Gilts. En: Journal Of Animal Science. Octubre, 1997. vol. 75, no. 11, p. 2994-3003.

¹⁸⁶ VALLEE, B. y FALCHUK, K. The Biochemical Basis Of Zinc Physiology. En: Physiological Reviews. Enero, 1993. vol. 73, no. 1, p. 79-118.

¹⁸⁷ RUWANPURA, Saleela.; MCLACHLAN, Robert.; MEACHEM, Sarah. Hormonal regulation Of Male Germ Cell Development. En: Journal Of Endocrinology. 2010. vol. 205, p. 117-131.

¹⁸⁸ LEI, K.; ABBASI, A. y PRASAD, A. Function Of Pituitary-Gonadal Axis In Zinc Deficient Rats. En: American Journal Of Physiology. Junio, 1976. vol. 230, no. 6, p. 1730-1732.

niveles de desarrollo de la célula espermática¹⁸⁹. Esto podría explicar, entre otras cosas, anomalías reproductivas y en la morfología espermática. En consecuencia, la morfología del espermatozoide puede ser comprometida por diversos factores. Estos factores pueden ser desencadenantes o parte de una cadena de procesos fisiológicos que pueden ocasionar poco estímulo para la replicación celular, falla en los procesos de espermatogénesis o maduración incompleta.

Es sabido que el zinc y el selenio tienen un gran impacto en la integridad morfológica del espermatozoide, especialmente en la formación de la pieza media¹⁹⁰. Una pieza media anormal, causaría defectos en la conexión de la cabeza del espermatozoide y la cola; algunas deficiencias minerales, pueden causar defectos de pieza media¹⁹¹, acrosoma¹⁹², cola y cabeza^{193,194}. El zinc y el selenio son dispuestos como componentes estructurales de la célula espermática¹⁹⁵.

El zinc es transportado hacia las espermatogonias por medio de unas proteínas llamadas, comúnmente "Transportadores De Zinc". Estos transportadores de zinc, hacen parte de la familia de proteínas ZIP, y son denominados como *Zinc Regulated Transporters* (ZRT). Su función principal es facilitar la entrada de zinc al citoplasma de la célula, desde el medio extracelular, o, también, transportar el zinc dentro de las membranas de la célula. Durante la espermatogénesis, estos transportadores son los encargados de proveer, en cada nivel espermatogénico, del sustrato necesario para que el proceso se lleve a cabo normalmente. También proveen a los receptores nucleares de las células de Leydig, con las cantidades necesarias del mineral, para la producción de testosterona¹⁹⁶. Por su parte, el selenio es

¹⁸⁹ KOCHMAN, K. *et al.* Increased LH And FSH Release From The Anterior pituitary Of Ovariectomized Rat, In Vivo, By Copper-, Nickel-, And Zinc-LHRH Complexes. En: Journal Of Inorganic Biochemistry. Octubre, 1992. vol. 48, no. 1, p. 41-46.

¹⁹⁰ CHEAH, Y. y YANG, W. Functions Of Essential Nutrition For High Quality Spermatogénesis. En: Advances In Bioscience And Biotechnology. Agosto, 2011. vol. 2, no. 4, p. 182-197.

¹⁹¹ AHSAN, U. *et al.* Role Of Selenium In Animal Reproduction – A review. En: Animal Reproduction Science. Abril, 2014. vol. 146, no. 2014, p. 55-62.

¹⁹² BEDWAL, R. y BAHUGUNA, A. Zinc, Copper And Selenium In Reproduction. En: Experimentia. Julio, 1994. vol. 50, no. 7, p. 626-640.

¹⁹³ HESKETH, J. Effects Of Dietary Zinc Deficiency On Leydig Cell Ultrastructure In The Boar. En: Journal Of Comparative Pathology. Abril, 1982. Vol 92, no. 2, p. 239-247.

¹⁹⁴ MERRELS, K. *et al.* Relationship Between Abnormal Sperm Morphology Induced By Dietary Zinc Deficiency And Lipid Composition In Testes Of Growing Rats. En: British Journal Of Nutrition. Julio, 2009. vol. 102, no. 2, p. 226-232.

¹⁹⁵ BEHNE, D. *et al.* Selenium, Rubidium And Zinc In Human Semen And Semen Fractions. En: International Journal Of Andrology. Octubre, 1988. vol. 11, no. 5, p. 415-423.

transportado desde el torrente sanguíneo hasta las células de Sertoli, por la Selenoproteína P, para soportar el proceso de espermatogénesis. Sin un adecuado suministro de selenio, se podrían presentar defectos en la estructura del esperma¹⁹⁷. Los mecanismos subyacentes en la producción de espermatozoides con anormalidades, están sin descubrir¹⁹⁸. Sin embargo, el rol del selenio puede atribuirse a que es un modulador de la expresión de diversos genes que codifican factores de transcripción (AP-1); Kaur y Parshad¹⁹⁹ y Shalini y Bansal²⁰⁰, han demostrado que la presencia de niveles circundantes apropiados de selenio, en el organismo animal, influyen positivamente en el proceso de espermatogénesis de múltiples maneras (conteo de espermias, morfología, vitalidad).

5.1.4 Concentración espermática

En esta característica, se observó una mejora con nivel de suplementación, asociada a un efecto cuadrático ($p < 0,05$).

Autores, que experimentaron con selenio como componente mineral primario en una dieta, también obtuvieron resultados estadísticamente significativos en esta variable: Kolodziej y Jacyno²⁰¹; López *et al.*²⁰²; Marín-Guzmán *et al.*²⁰³. Sin embargo, no explican el mecanismo exacto por el cual pudo suceder.

¹⁹⁶ CROXFORD, T.; MCCORMICK, N. y KELLEHER, S. Moderate Zinc Deficiency Reduces Testicular Zip6 And Zip10 Abundance And Impairs Spermatogenesis In Mice. En: The Journal Of Nutrition. Marzo, 2011. vol. 141, no. 3, p. 359-365.

¹⁹⁷ AHSAN, U. *et al.* Role Of Selenium In Animal Reproduction – A review. En: Animal Reproduction Science. Abril, 2014. vol. 146, no. 2014, p. 55-62.

¹⁹⁸ WATANABE, Toshiaki. y ENDO, Akira. Effects Of Selenium Deficiency On Sperm Morphology And Spermatoocyte Chromosomes In Mice. En: Mutation Research. Febrero, 1991. vol. 262, no. 2, p. 93-99.

¹⁹⁹ KAUR, R.; y PARSHAD, V. Effects Of Dietary Selenium On Differentiation, Morphology And Functions Of Spermatozoa Of The House Rat, *Rattus rattus* L. En: Mutation Research. Agosto, 1994. vol. 309, no 1, p. 29-35.

²⁰⁰ SHALINI, Sonia y BANSAL, Mohinder. Role Of Selenium In Regulation Of Spermatogenesis: Involvement Of Activator Protein 1. En: Biofactors. 2005. vol. 23, no. 2005, p. 151-162.

²⁰¹ KOLODZIEJ, Anita y JACYNO, Eugenia. Effect Of Dietary Selenium And Vitamin E Supplementation On Reproductive Performance Of Young Boars. En: Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Animal Husbandry. 2004. vol. 7, no. 1.

²⁰² LÓPEZ, Alfonso *et al.* Effect of Organic Selenium in the Diet on Sperm Quality of Boars. En: Reproduction In Domestic Animals. 2010. vol. 45, p. 297-305.

²⁰³ MARÍN-GUZMÁN, J. *et al.* Effects Of Dietary Selenium And Vitamin E On Boar Performance And Tissue Responses, Semen Quality And Subsequent Fertilization Rates In Mature Gilts. En: Journal Of Animal Science. Octubre, 1997. vol. 75, no. 11, p. 2994-3003.

Investigaciones llevadas a cabo con zinc, también mostraron aumento en concentración seminal, en la especie porcina: Horký *et al.*²⁰⁴; Arestova y Alekseev²⁰⁵.

En machos y hembras, la gametogénesis es regulada por el eje hipotálamo-pituitario-gonadal. Lo cual, corresponde al eje hormonal Hormona Liberadora Gonadotropinas (GnRH)-Gonadotropinas-Esteroides. El blanco de la GnRH son las células gonadotropas de la adenohipófisis. Estas células liberan dos hormonas: la Hormona Folículo Estimulante (FSH) y la Hormona Luteinizante (LH). Ambas, a través de la circulación, llegan a las gónadas y regulan la gametogénesis vía síntesis de las hormonas esteroideas²⁰⁶. Por tanto, el estímulo constante de andrógenos es necesario para que se lleve a cabo la espermatogénesis²⁰⁷.

El desarrollo de las células germinales es altamente dependiente de la activación de señales tipo cAMP, en los testículos. Estas señalizaciones son mediadas por las hormonas gonadotrópicas FSH y LH, las cuales se enlazan a sus receptores transmembranales, en las células de Sertoli y Leydig, respectivamente²⁰⁸.

Las células de Sertoli son los objetivos principales de los estímulos hormonales que regulan la espermatogénesis ya que este tipo de células son las únicas que, dentro de los túbulos seminíferos, poseen receptores para la testosterona y la FSH. El metabolismo de las células de Sertoli es fundamental para el normal desarrollo de la espermatogénesis. En el tejido testicular, la FSH estimula directamente el receptor androgénico de las células de Sertoli (FSH – R), que es expresado en este tipo de células, promoviendo el desarrollo y supervivencia de las células espermáticas y, por tanto, incrementado la capacidad espermatogénica de los testículos. Las células de Sertoli, también, proveen del soporte nutricional necesario para el desarrollo de las células germinales. Estos procesos están bajo control

²⁰⁴ HORKÝ, P.; JAN ÍKOVÁ, P. y ZEMAN, L. The Influence Of The Organic And Inorganic Form Of Zinc On Volume Ejaculate, Sperm, Concentration And Percentaje Of Pathologic Sperm. En: Research In Pigs Breeding. 2011. vol. 5, no. 1, p. 22-27.

²⁰⁵ ARESTOVA, Inessa y ALEKSEEV, Vladislav. Morphological Analysis Of The Sperms Of Breeding Boars Maintained On Nutritional Supplements. En: Global Veterinaria. 2013. vol. 11, no. 1, p. 84-87.

²⁰⁶ MECCARIELLO, Rosaria *et al.* Modulators Of Hypothalamic-Pituitari-Gonadal Axis For The Control Of Spermatogenesis And Sperm Quality In Vertebrates. En: Frontiers In Endocrinology. Agosto, 2014. vol. 5, p. 4-5.

²⁰⁷ CHUNG, K. *et al.* Androgen Receptors In Ventral Prostate Gland Of Zinc Deficient Rats. En: Life Sciences. Enero, 1986. vol. 27, no. 4, p. 351-356.

²⁰⁸ WALKER, William H. y HABENER, Joel. Role Of Transcription Factors CREB And CREM In cAMP-Regulated Transcription During Spermatogenesis. En: Trends In Endocrinology & Metabolism. 1996. vol. 7, no. 4, p. 133-138.

estricto y cualquier alteración puede resultar en consecuencias dramáticas para la fertilidad del macho²⁰⁹.

La testosterona, al igual que la FSH, juega un papel importante en la diferenciación de las células germinales de los testículos; debido a que las células de Sertoli son las únicas, dentro de los túbulos seminíferos, que poseen receptores de andrógenos, son estas las que median las funciones de señalización de la testosterona²¹⁰. En ausencia de testosterona, la espermatogénesis no progresa más allá de la meiosis debido a: I) la integridad de la barrera hematotesticular es comprometida, lo que causa exposición de las células germinales postmeióticas que estaban en un medio propicio para su desarrollo, a ataque autoinmune, II) No hay conversión de espermatogonias a espermatogonias alargadas debido a defectos en la adhesión entre estas y las células de Sertoli y III) los espermatozoides maduros no pueden ser liberados de las células de Sertoli y, entonces, son fagocitados por estas últimas²¹¹.

En las células de Sertoli, el *cAMP Response Element Binding Protein* (CREB) es un importante transductor de señales provenientes de la FSH, que induce a la expresión génica. Estudios sugieren que la actividad del CREB en las células de Sertoli es requerida para la espermatogénesis²¹².

La FSH, en las células de Sertoli, actúa como un transductor de la expresión génica y secreción de péptidos y otras moléculas señalizadoras. En estas células, el *cAMP Response Element Binding* (CREB) es un factor de transcripción y un importante transmisor de señales provenientes de la FSH. Los factores de transcripción pertenecientes a la familia CREB están involucrados en la regulación de la expresión génica que conlleva al desarrollo de las células germinales y las mismas células de Sertoli, lo que da a entender que las isoformas del CREB están íntimamente ligados al proceso de espermatogénesis. El factor de transcripción *cAMP Response Element Modulator* (CREM), también perteneciente a la familia CREB, es altamente expresado en las células germinales del macho y regula la

²⁰⁹ OLIVEIRA, P. y ALVES, M. Sertoli Cell Metabolism And Spermatogenesis. Switzerland: Springer, 2015. 98 p. ISBN 978-3-319-19790-6.

²¹⁰ CHEN, Liang-Yu. Testosterone Regulation Of The Spermatogonial Stem Cell Niche In Mice. Tesis Doctoral. Washington: Washington State University, 2008. 172 p.

²¹¹ WALKER, William. Testosterone Signaling And The Regulation Of Spermatogenesis. En: Spermatogenesis. 2011. vol. 1, no. 2, p. 116-120.

²¹² RANAWAT, Pavitra y BANSAL, Mohinder. Modulatory Effects Of Selenium On Spermatogenesis: Involvement Of Transcription Factors CREB And CREM. En: American Journal Of Biomedical Sciences. 2010. vol. 2, no. 4, p. 329-341.

replicación de muchas células espermáticas, especialmente de aquellas que han pasado por la fase meiótica²¹³.

Aunque el mecanismo preciso por el cual los andrógenos controlan la expresión genética, no ha sido dilucidado²¹⁴, se da por hecho que la inadecuada ingestión de microminerales como el zinc y el selenio, puede tener profundos efectos sobre la fisiología animal. Tales efectos pueden desencadenar, en caso de ingestión deficiente, una poca o nula síntesis de andrógenos, expresión génica y baja replicación celular^{215,216,217}.

El zinc cumple un papel fundamental al ser el soporte estructural de los denominados “Dedos De Zinc”²¹⁸. Los dedos de zinc son una clase de proteínas que participan en una variedad de funciones celulares como replicación, reparación, transcripción y proliferación celular²¹⁹. Estas estructuras son “pequeños péptidos” hechos de residuos de aminoácidos (usualmente cisteína e histidina), enlazados por un ion de zinc²²⁰ que, además, forman parte de algunos factores de transcripción. Los factores de transcripción son proteínas que reconocen secuencias de ADN durante la transcripción y replicación de ADN²²¹; la producción espermática necesita una extensa división celular, y es el zinc quién influencia las divisiones mitóticas y

²¹³ GUERRIERO, Giulia, *et al.* Roles Of Reactive Oxygen Species In The Spermatogenesis Regulation. Modulators Of Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis For The Control Of Spermatogenesis And Sperm Quality In Vertebrates. En: *Frontiers In Endocrinology*. Abril, 2014. 4 p.

²¹⁴ MATUSIK, R.; KREIS, C. y DODD, J. Regulation Of Prostatic Genes: Role Of Androgens And Zinc In Gene Expression. En: *Biochemistry And Cell Biology*. 1985. vol. 64, no. 6, p. 601-607.

²¹⁵ COUSINS, Robert. Integrative Aspects Of Zinc Metabolism And Function. En: ROUSSEL, A.; ANDERSON, R.; FAVRIER, A. (eds), *Trace Elements In Man And Animals*. 10 ed. New York: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 1-7. ISBN: 978-0-306-47466-8 (Online).

²¹⁶ YAMAGUCHI, Sonoko *et al.* Zinc Is An Essential Trace Element For Spermatogenesis. En: *PNAS*. Junio, 2009. vol. 106, no. 26, p. 10859-10854.

²¹⁷ OMU, Alexander *et al.* Molecular Basis For The Effects Of Zinc Deficiency On Spermatogenesis: An experimental Study In The Sprague-Dawley Rat Model. En: *International Journal Of Urology*. Enero-Marzo, 2015. vol. 31, no. 1, p. 57-64.

²¹⁸ OSREDKAR, Josko y SUSTAR, Natasa. Copper And Zinc, Biological Role And Significance Of Copper/Zinc Imbalance. En: *Journal Of Clinical Toxicology*. Diciembre, 2011. 18 p.

²¹⁹ KLUG, Aaron. y SCHWABE, John. Zinc Fingers. En: *The FASEB Journal*. Mayo, 1995. vol. 9, no. 8, p. 597-604.

²²⁰ KRISHNA, S.; MAJUMDAR, I. y GRISHIN, N. 2003. Structural Classification Of Zinc Fingers Survey And Summary. En: *Nucleic Acids Research*. Enero, 2003. vol. 31, no. 2, 532-550.

²²¹ OSREDKAR, Josko y SUSTAR, Natasa. Copper And Zinc, Biological Role And Significance Of Copper/Zinc Imbalance. En: *Journal Of Clinical Toxicology*. Diciembre, 2011. 18 p.

meióticas, junto con la síntesis de DNA y RNA, al impulsar la actividad de las dos metaloenzimas involucradas en ese proceso: la polimerasa DNA y la polimerasa RNA²²². Además, se ha comprobado que el zinc es un potente inhibidor de la proteína apoptótica *Caspase-3*. Sin embargo, el mecanismo de acción molecular por el cual el zinc inhibe esta proteína, no ha sido descubierto²²³.

Por otro lado, el zinc hace parte estructural de todos los receptores de andrógenos²²⁴. Diversos estudios han demostrado que los animales alimentados con dietas deficientes en zinc, presentan baja producción de testosterona y una disminución de los receptores de andrógenos a nivel celular^{225,226}. Esto trae como consecuencia, una disminución en diferentes parámetros de calidad seminal. Estos procesos y estructuras, entonces, son influenciados por la ingesta diaria de este mineral²²⁷.

En los testículos es donde se concentra la mayor cantidad de selenio en el organismo animal y, en consecuencia, posee gran influencia sobre los tejidos, órganos y procesos asociados a la espermatogénesis²²⁸. La importancia del selenio en todo el proceso de división celular subyace en el hecho que:

5.1.4.1 Experimentos hechos por Ranawat y Bansal²²⁹ demostraron que, en un entorno testicular con cantidades adecuadas de selenio, el estímulo propiciado por

²²² KUMAR, N. *et al.* Effect Of Different Levels And Sources Of Zinc Supplementation On Quantitative And Qualitative Semen Attributes And Serum Testosterone Level In Crossbred Cattle (Bos Indicus x Bos Taurus) Bulls. En: *Reproduction Nutrition Development*. Noviembre-Diciembre, 2006. vol. 46, no. 2006, p. 662-675.

²²³ PERRY, David *et al.* Zinc Is A Potent Inhibitor Of The Apoptotic Protease, Caspase-3. En: *The Journal Of Biological Chemistry*. Julio, 1997. vol. 272, no. 30, p. 18530-18533.

²²⁴ FAVIER, A. The Role of Zinc in Reproduction: Hormonal Mechanisms. En: *Biological Trace Element Research*. Enero-Marzo, 1992. no. 32, p. 363-382.

²²⁵ CHUNG, K. *et al.* Androgen Receptors In Ventral Prostate Gland Of Zinc Deficient Rats. En: *Life Sciences*. Enero, 1986. vol. 27, no. 4, p. 351-356.

²²⁶ MARTIN, G. y WHITE, C. 1992. Effects Of Dietary Zinc Deficiency On Gonadotrophin Secretion And Testicular Growth In Young Male Sheep. En: *Journal Reproduction And Fertility*. 1994. vol. 101, p. 87-96.

²²⁷ MCDOWELL, Lee. Zinc. En: *Minerals In Animal And Human Nutrition*. 2 ed. The Netherlands: Elsevier, 2003. p. 357-395.

²²⁸ BEHNE, D. *et al.* Selenium In The Testis Of The Rat: Studies On Its Regulation And Its Importance For The Organism. En: *Journal Of Nutrition*. Septiembre, 1982. vol. 112, no. 9, p. 1682-1687.

²²⁹ RANAWAT, Pavitra y BANSAL, Mohinder. Modulatory Effects Of Selenium On Spermatogenesis: Involvement Of Transcription Factors CREB And CREM. En: *American Journal Of Biomedical Sciences*. 2010. vol. 2, no. 4, p. 329-341.

la FSH en los receptores de las células de Sertoli, incitan a las Proteínas G que, a su vez, ejercen su influencia sobre la enzima adenil ciclasa, causando un incremento en los niveles intracelulares de AMP cíclico (cAMP). Este incremento de cAMP causa la que el complejo Proteína Quinasa A (*Protein Kinase A*), se disocie en subunidades catalíticas y regulatorias. Las unidades catalíticas emigran al núcleo, donde son fosforiladas y, por tanto, activan factores transcripcionales como el *cAMP Regulatory Element Binding* (CREB). El CREB, interactúa con el *cAMP Response Element* (CRE), encontrado en los promotores de algunos genes, para activar la transcripción y empezar la replicación genética^{230,231}. En caso contrario, en un medio con concentraciones deficientes de selenio, la actividad de la FSH es baja; sin el adecuado estímulo de FSH, la Proteína Quinasa A no es activada y la fosforilación del CREB no puede llevarse a cabo perturbándose, de este modo, el proceso de espermatogénesis²³². Por otro lado, El CREM es abundante en todas las células de los testículos, en especial en las células germinales y espermátidas²³³ y, al igual que el CREB, puede estar influenciado por los cambios en los niveles de selenio en el organismo; el CREB regula las últimas fases de la espermatogénesis.

5.1.4.2 La expresión de los genes c-Jun y c-Fos (testículos) que codifican las proteínas c-Jun y c-Fos. Ambas proteínas conforman la Proteína Activadora 1 (*Activator Protein-1*, AP-1). Esta proteína se enlaza con cadenas específicas de ADN, y tiene como función primaria ser un factor de transcripción para la proliferación celular. Además, otros objetivos potenciales de enlace de la AP-1, son algunos genes relacionados con la síntesis de precursores de antioxidantes como la gamma-glutamil sintetasa (GCS), la enzima precursora de la Glutatión Peroxidasa (GSH-Px)²³⁴. La Glutatión Peroxidasa es un poderoso antioxidante²³⁵.

²³⁰ SASSONE-CORSI, P. Coupling Gene Expression To Camp Signaling: Role Of CREB And CREM. En: The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology. Enero, 1998. vol. 30, no. 1, p. 27-38.

²³¹ FIMIA, Gian *et al.* Transcriptional cascades during spermatogenesis: pivotal role of CREM and ACT. En: Molecular And Cellular Endocrinology. Junio, 2001. Col. 179, no. 1-2, p. 17-23.

²³² RANAWAT, Pavitra y BANSAL, Mohinder. Modulatory Effects Of Selenium On Spermatogenesis: Involvement Of Transcription Factors CREB And CREM. En: American Journal Of Biomedical Sciences. 2010. vol. 2, no. 4, p. 329-341.

²³³ SASSONE-CORSI. Op. Cit., p. 27-38.

²³⁴ SHALINI, Sonia y BANSAL, Mohinder. Role Of Selenium In Regulation Of Spermatogenesis: Involvement Of Activator Protein 1. En: Biofactors. 2005. vol. 23, no. 2005, p. 151-162.

²³⁵ AHSAN, U. *et al.* Role Of Selenium In Animal Reproduction – A review. En: Animal Reproduction Science. Abril, 2014. vol. 146, no. 2014, p. 55-62.

Estudios llevados a cabo por Shalini y Bansal^{236,237} han revelado que el selenio ejerce una gran influencia en la expresión genética de c-Jun y c-Fos y, por tanto, del AP-1: si los niveles de selenio circundante son deficientes, los genes anteriormente mencionados no codifican para las proteínas c-Jun y c-Fos, componentes primarios del AP-1. El AP-1 funciona como un transductor o transcriptor de señales para la proliferación celular y de antioxidantes, y es sensible a los ambientes con elevados niveles de oxidación. Para evitar niveles altos de oxidación, las células producen GSH-Px. Para realizar la síntesis de esta enzima, las células necesitan de las selenocisteínas y, por tanto, del selenio.

En un medio celular altamente oxidado y sin un adecuado suministro de selenio, la expresión de los genes c-Jun y c-Fos y la síntesis de antioxidantes (GSH-Px) son enormemente disminuidas, causando la expresión del gen que codifica para las Quinasas c-Jun N-Terminal (JNK). Este tipo de quinasas se activan en respuesta a estrés celular, bloqueando la proliferación celular. Sin embargo, estas quinasas pueden ser inhibidas con niveles normales de selenio²³⁸.

De acuerdo con lo anterior, la actividad del factor de transcripción AP-1 está modulada por el selenio y por los procesos redox del organismo. Entonces, es hipotetizado, que este es uno de los mecanismos por el cual la ingesta de selenio puede afectar positiva o negativamente la concentración espermática²³⁹.

5.1.5 Vitalidad espermática

Este estudio mostró mejoras significativas en esta variable asociadas una suplementación creciente y con efecto lineal ($p < 0,05$). Otros autores, igualmente, obtuvieron mejoras en la especie porcina: Jacyno, Kawecka y Kamyczek²⁴⁰; Tareq

²³⁶ SHALINI, Sonia y BANSAL, Mohinder. Role Of Selenium In Regulation Of Spermatogenesis: Involvement Of Activator Protein 1. En: Biofactors. 2005. vol. 23, no. 2005, p. 151-162.

²³⁷ SHALINI, Sonia y BANSAL, Mohinder. Role Of Selenium In Spermatogenesis: Differential Expression Of Cjun And Cfos In Tubular Cells of Mice Testis. En: Molecular And Cellular Biochemistry. Noviembre, 2006. vol. 292, no. 1-2, p. 27-38.

²³⁸ RANAWAT, Pavitra y BANSAL, Mohinder. Delineating The Molecular Mechanism Behind Regulation Of Spermatogenesis By Selenium: Involvement Of Mitogen Activated Protein Kinase; (JNK). En: American Journal Of Biomedical Sciences. 2009. vol. 1, no. 3, p. 226-241.

²³⁹ SHALINI, Op. Cit., p. 151-162.

²⁴⁰ JACYNO, E.; KAWECKA, M. y KAMYCZEK, M. Influence Of Organic Se + Vitamin E And Organic Se + Vitamin E On Reproductive Performance Of Young Boars. En: Agricultural And Food Science In Findland. 2002. vol. 11, no. 2002, p. 175-184.

*et al.*²⁴¹; Kolodziej y Jacyno²⁴². Estos autores exponen que, posiblemente, la mejora pudo deberse al aumento del poder antioxidante del organismo del animal, proveída por el selenio o el zinc.

Una mejora en la vitalidad del espermatozoide puede ser debida a la acción estabilizadora que ejerce el zinc sobre la membrana plasmática del espermatozoide, al prevenir la fuga de enzimas, proteínas y otros componentes vitales del espermatozoide. Este mineral, estabiliza ribosomas, lisosomas, AND, ARN, lo cual ayuda en la supervivencia y el funcionamiento normal del espermatozoide²⁴³; la integridad de la membrana espermática es importante para el metabolismo de la célula espermática, pero también se necesita de un cambio particular en sus propiedades para que suceda la unión entre los gametos masculino y femenino (reacción acrosomal). Por tanto, el zinc es un componente estructural que ejerce funciones específicas que no pueden ser reemplazadas por otros iones²⁴⁴.

El zinc regula la actividad de varias células y tejidos, operando a nivel membranar. Es un componente estructural de varias membranas biológicas y se enlaza a proteínas y lipoproteínas, otorgándoles estabilidad²⁴⁵; se considera que el zinc estabiliza la membrana plasmática al reaccionar con los grupos sulfhidrilo (-SH), formando mercaptanos estables²⁴⁶. El zinc es particularmente alto en las fracciones membranales y lipoprotéicas de las células espermáticas. Está empíricamente asociado con los fosfolípidos, lipoproteínas y metaloenzimas membranales²⁴⁷. Por

²⁴¹ TAREQ, K. *et al.* Effect Of Selenium And Vitamin E On Acrosome Reaction In Porcine Spermatozoa. En: Reproductive Medicine And Biology. Noviembre, 2010. vol. 9, no. 2, p. 73-81.

²⁴² KOLODZIEJ, Anita y JACYNO, Eugenia. Effect Of Dietary Selenium And Vitamin E Supplementation On Reproductive Performance Of Young Boars. En: Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Animal Husbandry. 2004. vol. 7, no. 1.

²⁴³ KUMAR, N. *et al.* Effect Of Different Levels And Sources Of Zinc Supplementation On Quantitative And Qualitative Semen Attributes And Serum Testosterone Level In Crossbred Cattle (Bos Indicus x Bos Taurus) Bulls. En: Reproduction Nutrition Development. Noviembre-Diciembre, 2006. vol. 46, no. 2006, p. 662-675.

²⁴⁴ ROY, Biswajit *et al.* Zinc And Male Reproduction In Domestic Animals: A Review. Indian Journal Of Animal Nutrition. 2013, vol. 30, no. 4, p. 339-350.

²⁴⁵ *Ibíd.*, p. 339-350.

²⁴⁶ CHVAPIL, Milos. New Aspects In The Biological Role Of Zinc: A Stabilizer Of Macromolecules And Biological Membranes. En: Life sciences. 1973. vol. 13, no. 8, p. 1041-1049.

²⁴⁷ ROY, Biswajit *et al.* Zinc And Male Reproduction In Domestic Animals: A Review. Indian Journal Of Animal Nutrition. 2013, vol. 30, no. 4, p. 339-350.

otro lado, el zinc y selenio protegen al espermatozoide del daño producido por las Especies Reactivas De Oxígeno (ROS), al eliminar el exceso de radicales libres y, en consecuencia, incrementando su viabilidad²⁴⁸; el selenio juega un rol importante en las defensas antioxidantes de la célula espermática, ya que forma el sitio catalítico de enzimas antioxidantes (principalmente selenocisteínas) como la GPx. La GPx protege al espermatozoide de los efectos dañinos de metabolitos tóxicos y radicales libres al prevenir la peroxidación lipídica de las membranas del espermatozoide de los mamíferos²⁴⁹. Por su parte, el zinc actúa como componente de la enzima SOD. La SOD actúa dismutando el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), en oxígeno (O_2) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Para que las funciones catalíticas de la SOD se mantengan, se necesitan moléculas de zinc⁺⁺²⁵⁰. Debido a su naturaleza altamente reactiva, las ROS pueden reaccionar con otras moléculas causando oxidación, lo que conlleva a cambios estructurales y funcionales, resultando en daño celular²⁵¹; las ROS son un producto natural del metabolismo celular. Si no son eliminadas rápidamente pueden, incluso, dañar los tejidos²⁵².

5.2 ANÁLISIS DE LAS VARIABLES SEMINALES NO PARAMÉTRICAS (PH, COLOR Y ASPECTO)

5.2.1 pH seminal

El pH, en todo el período experimental, se mantuvo en 8 ($p > 0,05$). Encontrándose en los rangos normales expuestos por autores como Frunz²⁵³ y Rodríguez²⁵⁴, quienes argumentan que los valores promedios oscilan entre 7,3 y 7,9.

²⁴⁸ KUMAR, N. *et al.* Effect Of Different Levels And Sources Of Zinc Supplementation On Quantitative And Qualitative Semen Attributes And Serum Testosterone Level In Crossbred Cattle (Bos Indicus x Bos Taurus) Bulls. En: Reproduction Nutrition Development. Noviembre-Diciembre, 2006. vol. 46, no. 2006, p. 662-675.

²⁴⁹ TAREQ, K. *et al.* Effect Of Selenium And Vitamin E On Acrosome Reaction In Porcine Spermatozoa. En: Reproductive Medicine And Biology. Noviembre, 2010. vol. 9, no. 2, p. 73-81.

²⁵⁰ FRITZIE, Celino *et al.* Tolerance Of Spermatogonia To Oxidative Stress Is Due To High Levels Of Zinc And Cu/Zn Superoxide Dismutase. En: PLoS ONE. Febrero, 2011. vol. 6, no. 2.

²⁵¹ BANSAL, Amrit y BILASPURI, Gurmail. Impacts of Oxidative Stress and Antioxidants On Semen Functions. En: Veterinary Medicine International. Septiembre, 2010. vol. 2011, p. 1-7.

²⁵² OSREDKAR, Josko y SUSTAR, Natasa. Copper And Zinc, Biological Role And Significance Of Copper/Zinc Imbalance. En: Journal Of Clinical Toxicology. Diciembre, 2011. 18 p.

²⁵³ FRUNZ, I.; CERNESCU, H. y KORODOI, G. Physical And Chemical Parameters Of Boar Sperm. En: Lucr ri Stiinfifice Medicin Veterinar. 2008. vol. 41, p. 631-640.

²⁵⁴ RODRÍGUEZ, Heriberto. Evaluación De La Calidad Seminal En El verraco. En: Avances En Tecnología Porcina. 2005. vol. 2, no. 7-8, p. 43-53.

Mantener el pH seminal es un factor muy importante para la capacidad fertilizadora de las células espermáticas.

Los fluidos del tracto genital masculino, mantienen el citoplasma espermático en un medio ácido ($\text{pH} < 6,5$), el cual es el mecanismo primario para mantener inmóvil al espermatozoide, antes de la eyaculación. Después de la eyaculación, y durante el tránsito a través del tracto reproductivo femenino, la motilidad espermática es iniciada y, entonces, hiperactivada para permitir a las células espermáticas penetrar a través del viscoso moco oviductal y las vestimentas protectoras del oocito²⁵⁵. De acuerdo con lo anteriormente mencionado un pH muy ácido, por ejemplo, podría disminuir la capacidad motriz y, por tanto, la fertilidad de las células espermáticas; un pH neutral cercano a 7,0 es donde la mayoría de las enzimas en el espermatozoide están más activas. Por otro lado, cualquier tipo de desviación hacia la alcalinidad o basicidad, puede reducir la tasa metabólica espermática. Un eyaculado ácido puede ser asociado con un exceso de Especies Reactivas De Oxígeno (ROS), los cuales podrían inhibir la motilidad y función espermática, en el tracto reproductor del macho²⁵⁶.

5.2.2 Color seminal

No se observaron variaciones en el color en función de la oferta de suplemento; los colores están distribuidos de manera uniforme en cada tratamiento.

En todo el período experimental, se visualizaron una gama de colores *sui-géneris*. Cabe anotar que ningún eyaculado presentó tonalidades que pudiesen señalar alguna patología reproductiva^{257,258}. El color “Blanco – grisáceo” fue el que se manifestó de forma mayoritaria.

5.2.3 Aspecto seminal

La variable aspecto mostró significancia, es decir, variaciones en el aspecto en función de la oferta de suplemento ($p < 0,05$).

²⁵⁵ LISHKO, P. *et al.* Acid Extrusion From Human Spermatozoa Is Mediated by Flagellar Voltage-Gated Proton Channel. En: Cell. Febrero, 2010. vol. 40, no. 3, p. 327-337.

²⁵⁶ OLATUNBOSUN, S. y ADESEOLU, F. Seminal Plasma pH, Inorganic Phosphate, Total And Ionized Calcium Concentrations In The Assessment Of Human Spermatozoa Function. En: Journal Clinical And Diagnostic Research. Noviembre, 2013. vol. 7, no. 11, p. 2483-2486.

²⁵⁷ FRUNZ , I.; CERNESCU, H. y KORODOI, G. Physical And Chemical Parameters Of Boar Sperm. En: Lucr ri Stiinfifice Medicin Veterinar . 2008. vol. 41, p. 631-640.

²⁵⁸ RODRÍGUEZ, Heriberto. Evaluación De La Calidad Seminal En El verraco. En: Avances En Tecnología Porcina. 2005. vol. 2, no. 7-8, p. 43-53.

El aspecto (apariencia, viscosidad, consistencia, densidad) del esperma del verraco, depende de las secreciones de las glándulas accesorias y del contenido o concentración de espermatozoides. Dentro de la fracción espermática y post – espermática de los eyaculados, el aspecto puede variar en proporción a la concentración de espermatozoides^{259,260,261}. Este hecho es tomado en cuenta porque permite valorar, de manera subjetiva y de primera mano, la concentración seminal del eyaculado del macho²⁶².

Las células de Sertoli²⁶³ y las glándulas accesorias son órganos andrógeno – dependientes²⁶⁴ y sus funciones vienen influidas por los niveles circundantes de FSH, testosterona y dihidrotestosterona. La producción de estas hormonas andrógenas, a su vez, depende de los estímulos gonadotrópicos (FSH, LH) en las células de Sertoli y Leydig²⁶⁵.

²⁵⁹ GÓMEZ, Verano y MIGLIOSIRI, Lorena. Protocolo Para La Evaluación De Semen En Rumiantes. 2007.

²⁶⁰ CAIZA, Darío. Manejo De Verracos Para La Obtención y Procesamiento De Semen Porcino e Inseminación Artificial. Proyecto previo para la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial. Quito: Escuela Politécnica Nacional, 2009. 133 p.

²⁶¹ VALENCIA, León y ELIZABETH, Carla. Elaboración De Diluyente De Semen Porcino. Quito: Escuela Politécnica Nacional, 2006. 122 p.

²⁶² CISNEROS PRADO, Jadiel Leonel. Desarrollo De Un Método Para La Determinación Rápida De La Concentración Espermática En Eyaculados De Bovino, Ovino Y Cerdo. Tesis Pregrado. Veracruz: Universidad Veracruzana, 2011. 57 p.

²⁶³ OLIVEIRA, P. y ALVES, M. Sertoli Cell Metabolism And Spermatogenesis. Switzerland: Springer, 2015. 98 p. ISBN 978-3-319-19790-6.

²⁶⁴ HAFEZ E. y CUNNINGHAM, G. Regulatory Physiology Of Male Accessory Organs. En: CUNNINGHAM, G.; SCHILL, W.; HAFEZ, E. (eds), Clinics In Andrology. 5 ed. The Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers, 1980. p. 35-38.

²⁶⁵ ROMANO, J. y BRINSKO, S. Reproductive Physiology Of The Male. En: KLEIN, B. (ed), Cunningham´s Textbook Of Veterinary Phisiology. 5 ed. St. Louis, Missouri: Elsevier-Saunders, 2013. p. 451-459.

Se ha constatado que machos alimentados con cantidades insuficientes de zinc^{266,267} o selenio²⁶⁸, tienden a tener una baja concentración espermática y también de FSH, LH y testosterona en su organismo; un cambio en el aspecto o apariencia seminal, viene dado porque el zinc y el selenio pueden tener un efecto trófico sobre el aparato reproductor, al modular las concentraciones FSH, LH^{269,270} y la actividad de la enzima 5 alfa reductasa²⁷¹ en el organismo. Estas hormonas y enzima, a su vez, modulan las concentraciones de testosterona y dihidrotestosterona. La actividad secretoria y el funcionamiento de las células de las glándulas accesorias, al ser andrógeno – dependientes²⁷², se ven influenciadas por los niveles circundantes de testosterona y dihidrotestosterona. Además, como se mencionó anteriormente, se da por hecho que el zinc y el selenio influyen sobre la replicación de las células espermáticas y, por tanto, en la concentración del eyaculado²⁷³. Esto podría coadyuvar, también, a los cambios en el aspecto seminal²⁷⁴. Este escenario, entonces, provee una explicación parcial para la variación presentada, en este estudio, en el aspecto seminal.

²⁶⁶ EGWURUGWU, J. *et al.* Effects Of Zinc On Male Sex Hormones And Semen Quality In Rats. En: Nigerian Journal Of Physiological Sciences. 2013. vol. 28, no. 1, p. 17-22.

²⁶⁷ KUMAR, N. *et al.* Effect Of Different Levels And Sources Of Zinc Supplementation On Quantitative And Qualitative Semen Attributes And Serum Testosterone Level In Crossbred Cattle (Bos Indicus x Bos Taurus) Bulls. En: Reproduction Nutrition Development. Noviembre-Diciembre, 2006. vol. 46, no. 2006, p. 662-675.

²⁶⁸ RANAWAT, Pavitra y BANSAL, Mohinder. Modulatory Effects Of Selenium On Spermatogenesis: Involvement Of Transcription Factors CREB And CREM. En: American Journal Of Biomedical Sciences. 2010. vol. 2, no. 4, p. 329-341.

²⁶⁹ KOCHMAN, K. *et al.* Increased LH And FSH Release From The Anterior pituitary Of Ovariectomized Rat, In Vivo, By Copper-, Nickel-, And Zinc-LHRH Complexes. En: Journal Of Inorganic Biochemistry. Octubre, 1992. vol. 48, no. 1, p. 41-46.

²⁷⁰ EGWURUGWU, J. *et al.* Effects Of Zinc On Male Sex Hormones And Semen Quality In Rats. En: Nigerian Journal Of Physiological Sciences. 2013. vol. 28, no. 1, p. 17-22.

²⁷¹ ROY, Biswajit *et al.* Zinc And Male Reproduction In Domestic Animals: A Review. Indian Journal Of Animal Nutrition. 2013, vol. 30, no. 4, p. 339-350.

²⁷² HAFEZ E. y CUNNINGHAM, G. Regulatory Physiology Of Male Accessory Organs. En: CUNNINGHAM, G.; SCHILL, W.; HAFEZ, E. (eds), Clinics In Andrology. 5 ed. The Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers, 1980. p. 35-38.

²⁷³ CHEN, Liang-Yu. Testosterone Regulation Of The Spermatogonial Stem Cell Niche In Mice. Tesis Doctoral. Washington: Washington State University, 2008. 172 p.

²⁷⁴ AGÜERO, Gloria. Evaluación De las Características Seminales De Sementales Bovinos Mediante el Analizador Seminal Computarizado (CASA). Postgrado En Reproducción Animal Y Tecnología De La Inseminación Artificial. Caracas: Universidad Central De Venezuela, 2012. 81 p.

6. CONCLUSIONES

-) La ingesta de niveles crecientes de suplementación dietaria de tipo micromineral, como complemento a la dieta base usada en los cerdos machos reproductores, mejoró sustancialmente el volumen, la motilidad, la morfología, la concentración y la vitalidad seminal, sin detrimento de otros parámetros relacionados con la calidad del eyaculado como, por ejemplo, pH, color y aspecto.

7. RECOMENDACIONES

-) Se recomienda el uso de suplementos minerales, especialmente aquellos que contengan zinc y selenio, durante toda la vida productiva/reproductiva de los cerdos reproductores, para mantener o mejorar algunos parámetros de calidad seminal.

-) Aunque las consecuencias de las carencias de minerales en el organismo animal son conocidas, poco se sabe sobre los aspectos bioquímicos y fisiológicos que algunos microminerales tienen sobre las funciones reproductivas del macho. Por tanto, se recomienda que se hagan estudios afines a estas áreas y, más específicamente, sobre exigencias minerales en cerdos reproductores.

BIBLIOGRAFÍA

ABED, Asad. y JARAD, Amad. Significance of Some Trace Elements in Semen Of Infertile Men. En: Iboshina Journal Of Medicine And Biomedical Sciences. Mayo, 2014. vol. 6, no. 3, p. 145-151.

AGÜERO, Gloria. Evaluación De las Características Seminales De Sementales Bovinos Mediante el Analizador Seminal Computarizado (CASA). Postgrado En Reproducción Animal Y Tecnología De La Inseminación Artificial. Caracas: Universidad Central De Venezuela, 2012. 81 p.

AHSAN, U. *et al.* Role Of Selenium In Animal Reproduction – A review. En: Animal Reproduction Science. Abril, 2014. vol. 146, no. 2014, p. 55-62.

AL-ANI, N.; AL KAWAZ, U. y SAEED, B. Protective Influence Of Zinc On Reproductive Parameters In Male Rat Treated With Cadmium. En: American Journal Of Medicine And Medical Sciences. 2015. vol. 5, no. 2, p. 73-81.

ALBA, Carmen de. Protocolo Práctico Para La Valoración De Verracos Destinados A La Producción De Dosis Seminales. En: Avances Tecnología Porcina. Mayo, 2010. vol. 7, no. 5, p. 34-39.

AMIDU, N. *et al.* The Impact Of Seminal Zinc And Fructose Concentration On Human Sperm Characteristic. En: Journal Of Medical And Biomedical Sciences. 2012. vol. 1, no.1, p. 14-20.

ARESTOVA, Inessa y ALEKSEEV, Vladislav. Morphological Analysis Of The Sperms Of Breeding Boars Maintained On Nutritional Supplements. En: Global Veterinaria. 2013. vol. 11, no. 1, p. 84-87.

AUDET, I. *et al.* Effect Of Vitamin Supplements On Some Aspects Of Performance, Vitamin Status, And Semen Quality In Boars. En: Journal Of Animal Science. 2004. vol. 82, p. 626-633.

BANSAL, Amrit y BILASPURI, Gurmail. Impacts of Oxidative Stress and Antioxidants On Semen Functions. En: Veterinary Medicine International. Septiembre, 2010. vol. 2011, p. 1-7.

BECERRIL, M. *et al.* Uso Del Análisis Gráfico En La Evaluación De La Movilidad Espermática. En: Los Porcicultores y su entorno. 2014. no. 89, p.1-5.

BEDWAL, R. y BAHUGUNA, A. Zinc, Cooper And Selenium In Reproduction. En: Experimentia. Julio, 1994. vol. 50, no. 7, p. 626-640.

BEHNE, D. *et al.* Selenium In The Testis Of The Rat: Studies On Its Regulation And Its Importance For The Organism. En: Journal Of Nutrition. Septiembre, 1982. vol. 112, no. 9, p. 1682-1687.

BEHNE, D. *et al.* Selenium, Rubidium And Zinc In Human Semen And Semen Fractions. En: International Journal Of Andrology. Octubre, 1988. vol. 11, no. 5, p. 415-423.

BJÖRNDAHL, L. y KUVIST, U. Human Sperm Chromatin Stabilization: A Proposed Model Including Zinc Bridges. En: Molecular Human Reproduction. Enero, 2010. Vol 15, no. 1, p. 23-29.

BJÖRNDAHL, L. y KVIST, U. Importance Of Zinc For Human Sperm Head-Tail Connection. En: Acta Pshysiological Scandinavian. Enero, 1982. vol. 116, no. 1, p. 51-55.

BOITANI, C. y PUGLISI, R. Selenium, A Key Element In Spermatogenesis And Male Fertility. En: C. YAN CHENG (ed), Molecular Mechanism In Spermatogenesis. USA: Ed. Springer, 2008. p. 65-73.

BONET, S.; GARCÍA, E. y SEPÚLVEDA, L. The Boar Reproductive System. En: BONET, S.; CASAS, I.; HOLT, W.; YESTE, M. (eds), Boar Reproduction: Fundamentals And New Biological Trends. Ed. Springer, 2013. p. 65-107.

BONET, Sergi *et al.* Biotecnología De La Reproducción Porcina: Estado actual y Futuro De Las Técnicas De Análisis Seminal. En: Anaporc: Revista de la Asociación de Porcinocultura Científica. 2006. vol. 6, no. 63, p. 18-23.

BRIZ, M. y FÀBREGA, A. The Boar Spermatozoon. En: BONET, S.; CASAS, I.; HOLT, W.; YESTE, M (eds), Boar Reproduction: Fundamentals And New Biological Trends. Ed. Springer, 2013. p. 3-47.

CAIZA, Darío. Manejo De Verracos Para La Obtención y Procesamiento De Semen Porcino e Inseminación Artificial. Proyecto previo para la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial. Quito: Escuela Politécnica Nacional, 2009. 133 p.

CALVIN, H.; YU, C. y BEDFORD, J. Effects Of Epididymal Maturation, Zinc (II) And Copper (II) On The Reactive Sulfhydryl Content Of Structural Elements In Rat Spermatozoa. En: Experimental Research. 1973. vol. 81, no.2, p. 333-341.

CARRIÓN, Domingo y MEDEL, Pedro. Interacción Nutrición Reproducción En Ganado Porcino. En: 17 Curso De Especialización FEDNA (España). España. FEDNA. 2001. 42 p.

CHANG, Raymond y COLLEGE, Williams. Química. 7 ed. McGraw-Hill, 2002. ISBN 9070-10-3894-0

CHEAH, Y. y YANG, W. Functions Of Essential Nutrition For High Quality Spermatogénesis. En: Advances In Bioscience And Biotechnology. Agosto, 2011. vol. 2, no. 4, p. 182-197.

CHEN, Liang-Yu. Testosterone Regulation Of The Spermatogonial Stem Cell Niche In Mice. Tesis Doctoral. Washington: Washington State University, 2008. 172 p.

CHUNG, K. *et al.* Androgen Receptors In Ventral Prostate Gland Of Zinc Deficient Rats. En: Life Sciences. Enero, 1986. vol. 27, no. 4, p. 351-356.

CHVAPIL, Milos. New Aspects In The Biological Role Of Zinc: A Stabilizer Of Macromolecules And Biological Membranes. En: Life sciences. 1973. vol. 13, no. 8, p. 1041-1049.

CISNEROS PRADO, Jadiel Leonel. Desarrollo De Un Método Para La Determinación Rápida De La Concentración Espermática En Eyaculados De Bovino, Ovino Y Cerdo. Tesis Pregrado. Veracruz: Universidad Veracruzana, 2011. 57 p.

CISNEROS, Jadiel. Desarrollo De Un Método Para La Determinación rápida De La Concentración Espermática De Eyaculados De Bovino, Ovino Y Cerdo. Trabajo recepcional en la modalidad de manual práctico como requisito para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista. Veracruz: Universidad Veracruzana, 2011. 57 p.

CLOSE, W. The Role Of The Boar In Maximizing Reproduction: Effects On Nutrition Management. En: TAYLOR-PICKARD, J.; NOLLET, L (eds), Nutritional Approaches To Arresting The Decline In Fertility Of Pigs And Poultry. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2006. p. 93-115.

CONTRI, A. *et al.* Effect Of Dietary Antioxidant supplementation On Fresh Semen Quality In Stallion. En: Theriogenology. Abril, 2011. vol. 75, no. 7, p. 1319-1326.

COSTELLO, L. y FRANKLIN, R. Effect Of Prolactin On The Prostate. En: The Prostate. 1994. vol. 24, no. 3, p. 162-166.

COSTELLO, L. y FRANKLIN, R. Novel Role Of Zinc In The Regulation Of Prostate Citrate Metabolism And Its implications In Prostate Cancer. En: The Prostate. Junio, 1998. vol. 35, no. 4, p. 285-296.

COUSINS, Robert. Integrative Aspects Of Zinc Metabolism And Function. En: ROUSSEL, A.; ANDERSON, R.; FAVRIER, A. (eds), Trace Elements In Man And Animals. 10 ed. New York: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 1-7. ISBN: 978-0-306-47466-8 (Online).

CROXFORD, T.; MCCORMICK, N. y KELLEHER, S. Moderate Zinc Deficiency Reduces Testicular Zip6 And Zip10 Abundance And Impairs Spermatogenesis In Mice. En: The Journal Of Nutrition. Marzo, 2011. vol. 141, no. 3, p. 359-365.

EGWURUGWU, J. *et al.* Effects Of Zinc On Male Sex Hormones And Semen Quality In Rats. En: Nigerian Journal Of Physiological Sciences. 2013. vol. 28, no. 1, p. 17-22.

EL-MASRY, K.; NASR, A. y KAMAL, T. Influences Of Season And Dietary Supplementation With Selenium And Vitamin E Or Zinc On Some Blood Constituents And Semen Quality Of New Zeland White rabbit Males. En: World Rabbit Science. Junio, 2010. vol. 2, no. 3, p. 79-86.

ERAZO, Estefanía. Efecto De La Criopreservación Sobre Las Características Microscópicas Del Espermatozoide Porcino. Proyecto presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo en el grado Académico de Licenciatura. Zamorano: Universidad Zamorano, 2007. 22 p.

ESTIENNE, Mark y HARPER, Allen. Maximizing Boar Productivity With Optimum Trace Mineral Supplementation. 2005.

FAVIER, A. The Role of Zinc in Reproduction: Hormonal Mechanisms. En: Biological Trace Element Research. Enero-Marzo, 1992. no. 32, p. 363-382.

FERRIAN, Selena. Influencia De Las Características Seminales Del Eyaculado De Conejo Sobre La Calidad Espermática Post-descongelación. Trabajo final de Master. Valencia: Universidad Politécnica Valencia, 2007. 75 p.

FERRUGEM, José. Examen de la Salud Reproductiva Y Alteraciones De La Fertilidad De Los Toros. En: GALINA, C.; VALENCIA J. (eds), Reproducción De Los Animales Domésticos. 3 ed. México: Limusa, 2008. p. 205-218.

FIMIA, Gian *et al.* Transcriptional cascades during spermatogenesis: pivotal role of CREM and ACT. En: Molecular And Cellular Endocrinology. Junio, 2001. Col. 179, no. 1-2, p. 17-23.

FORESTA, C. *et al.* Role Of Zinc Trafficking In Male Fertility: From Germ To Sperm. En: Human Reproduction. Junio, 2014. vol. 29, no. 6, p. 1134-1145.

FRITZIE, Celino *et al.* Tolerance Of Spermatogonia To Oxidative Stress Is Due To High Levels Of Zinc And Cu/Zn Superoxide Dismutase. En: PLoS ONE. Febrero, 2011. vol. 6, no. 2.

FRUNZ , I.; CERNESCU, H. y KORODOI, G. Physical And Chemical Parameters Of Boar Sperm. En: Lucr ri Stiinfifice Medicin Veterinar . 2008. vol. 41, p. 631-640.

GALO, Harold y UCLÉS, Dennis. Congelación Del Semen De Cerdo y Evaluación De La Calidad Biológica Pos Descongelado. Proyecto Para Optar Al Título De Ingeniero Agrónomo. Honduras: Universidad Zamorano, 2003. 29 p.

GARCÍA-CONTRERAS, A. et al. Alimentación Práctica Del Cerdo. En: Revista Complutense de Ciencias Veterinarias. 2012. vol. 6, no. 1, p. 21-50.

GARNER, D. y HAFEZ, E. Espermatozoides y Plasma Seminal. En: HAFEZ, E; HAFEZ, B (eds), Reproducción E Inseminación Artificial. 7 ed. USA: McGraw-Hill, 2002. p. 98-112.

GOBERNACIÓN DE SUCRE. Geografía [en línea].< http://www.sucres.gov.co/informacion_general.shtml>. [Citado el 10 de mayo de 2016].

GÓMEZ, Verano y MIGLIOSIRI, Lorena. Protocolo Para La Evaluación De Semen En Rumiantes. 2007.

GÓMEZ-TORRES, M. *et al.* Estudio De Las Alteraciones Morfológicas De Espermatozoides Humanos Con Microscopía Electrónica De Barrido (SEM). En: Revista Iberoamericana De Fertilidad. Enero-Febrero, 2005. vol. 22, no. 1, p. 59-66.

GUERRIERO, Giulia, *et al.* Modulators Of Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis For The Control Of Spermatogenesis And Sperm Quality In Vertebrates. En: Frontiers In Endocrinology. Agosto, 2014. vol. 5, no. 135, 4 p.

HAFEZ E. y CUNNINGHAM, G. Regulatory Physiology Of Male Accessory Organs. En: CUNNINGHAM, G.; SCHILL, W.; HAFEZ, E. (eds), Clinics In Andrology. 5 ed. The Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers, 1980. p. 35-38.

HEIDEMAN, R. The Molecular And Cellular Bases Of Physiological Regulation 1. En: KLEIN, B. (ed), Cunningham's Textbook Of Veterinary Physiology. 5 ed. St. Louis, Missouri: Elsevier-Saunders, 2013. p. 1-26.

HENAO, Guillermo *et al.* Efecto Del Clima Sobre Las Características Seminales De Porcinos En Una Zona De Bosque Húmedo Tropical. Diciembre, 2004. 14 p.

HENKEL, Ralf *et al.* Relevance Of Zinc In Human Sperm Flagella And Its Relation To Motility. En: Fertility And Sterility. Junio, 1999. vol. 71, no. 6, p. 1138-1143.

HERNÁNDEZ, Juan. Variación Anual De La Calidad Del Semen Porcino Y Su Relación Con Los Parámetros Reproductivos. Tesis como requisito para obtener el grado de maestro en ciencias de la producción animal. Marín, Nuevo León: Universidad Autónoma De Nuevo León, 1998. 92 p.

HESKETH, J. Effects Of Dietary Zinc Deficiency On Leydig Cell Ultrastructure In The Boar. En: Journal Of Comparative Pathology. Abril, 1982. Vol 92, no. 2, p. 239-247.

HOPPERT, Michael. Metalloenzymes. En: REITNER, J. y THIEL, V. (eds), Encyclopedia Of Geobiology. The Netherlands: Springer, 2011. p.558-562.

HORKÝ, P.; JAN ÍKOVÁ, P. y ZEMAN, L. The Influence Of The Organic And Inorganic Form Of Zinc On Volume Ejaculate, Sperm, Concentration And Percentage Of Pathologic Sperm. En: Research In Pigs Breeding. 2011. vol. 5, no. 1, p. 22-27.

HUNT, C. *et al.* Effects Of Dietary Zinc Depletion on Seminal Volume And Zinc Loss, Serum Testosterone Concentrations, And Sperm Morphology In Young Men. En: The American Journal Of Clinical Nutrition. Julio, 1992. vol. 56, no. 1, p. 148-157.

JACYNO, E.; KAWECKA, M. y KAMYCZEK, M. Influence Of Organic Se + Vitamin E And Organic Se + Vitamin E On Reproductive Performance Of Young Boars. En: Agricultural And Food Science In Findland. 2002. vol. 11, no. 2002, p. 175-184.

KAUR, R. y PARSHAD, V. Effects Of Dietary Selenium On Differentiation, Morphology And Functions Of Spermatozoa Of The House Rat, *Rattus rattus* L. En: Mutation Research. Agosto, 1994. vol. 309, no 1, p. 29-35.

KINDBLOM, Jon. Role Of The prolactin In The Prostate Gland. Gothenburg, Suecia: Intellecta Docusys. 2003. ISBN 91-628-5650-5.

KING'ORI, Anthony. The Breeding Boar – Maximizing Productivity. En: International Journal Of Livestock Research. Septiembre, 2012. vol. 2, no. 3, p. 7-14.

KLUG, Aaron. y SCHWABE, John. Zinc Fingers. En: The FASEB Journal. Mayo, 1995. vol. 9, no. 8, p. 597-604.

KNOX, Robert. The Anatomy And Physiology Of Sperm Production In Boars. Illinois (USA), 2001.

KOCHMAN, K. *et al.* Increased LH And FSH Release From The Anterior pituitary Of Ovariectomized Rat, In Vivo, By Copper-, Nickel-, And Zinc-LHRH Complexes. En: Journal Of Inorganic Biochemistry. Octubre, 1992. vol. 48, no. 1, p. 41-46.

KOLODZIEJ, Anita y JACYNO, Eugenia. Effect Of Dietary Selenium And Vitamin E Supplementation On Reproductive Performance Of Young Boars. En: Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Animal Husbandry. 2004. vol. 7, no. 1.

KRISHNA, S.; MAJUMDAR, I. y GRISHIN, N. 2003. Structural Classification Of Zinc Fingers Survey And Summary. En: Nucleic Acids Research. Enero, 2003. vol. 31, no. 2, 532-550.

- KUBUS. Inseminación Artificial Porcina. Las Rozas, Madrid: KUBUS, 2010. 97 p.
- KUMAR, N. *et al.* Effect Of Different Levels And Sources Of Zinc Supplementation On Quantitative And Qualitative Semen Attributes And Serum Testosterone Level In Crossbred Cattle (Bos Indicus x Bos Taurus) Bulls. En: Reproduction Nutrition Development. Noviembre-Diciembre, 2006. vol. 46, no. 2006, p. 662-675.
- KUMAR, Pankaj; YADAV, Brijesh y YADAV, Sarvajeet. Effect Of Zinc And Selenium Supplementation On Semen Quality Of Barbari Bucks. En: Indian Journal Of Animal Research. 2014. vol. 48, no. 4, p. 366-369.
- KUMAR, Sudhir *et al.* Importance Of Micro Minerals On Reproductive Livestock. En: Veterinary World. Marzo, 2011. vol. 4, no. 5, p. 230-233.
- LECHOWSKI, Jerzy. Effect Of Vitamin C On Semen Quality Of Duroc Breed Boars And Their Crossbreds With Hampshire And Pietrain. En: ANNALES. 2009 vol. 27, no. 2, p. 12-18.
- LEI, K.; ABBASI, A. y PRASAD, A. Function Of Pituitary-Gonadal Axis In Zinc Deficient Rats. En: American Journal Of Physiology. Junio, 1976. vol. 230, no. 6, p. 1730-1732.
- LEMIRE, Joseph; MAILLOUX, Ryan y APPANNA, Vasu. Zinc Toxicity Alters Mitochondrial Metabolism And Leads To Decreased ATP Production In Hepatocytes. En: Journal Of Applied Toxicology. Marzo, 2008. vol. 28, no. 2, p. 175-182.
- LISHKO, P. *et al.* Acid Extrusion From Human Spermatozoa Is Mediated by Flagellar Voltage-Gated Proton Channel. En: Cell. Febrero, 2010. vol. 40, no. 3, p. 327-337.
- LÓPEZ, Alfonso *et al.* Effect of Organic Selenium in the Diet on Sperm Quality of Boars. En: Reproduction In Domestic Animals. 2010. vol. 45, p. 297-305.
- LÓPEZ, Alfonso. Fresh Boar Semen: Quality Control And Production. Disertación presentada para optar el título de Doctor en Ciencias Veterinarias. Bélgica: Universiteit Gent. 2012. 189 p.
- LÓPEZ, María; URBANO, Aurora y CÁRDENAS, Marta. Manual De Laboratorio Para El Análisis De Semen. OmniaScience, 2012. ISBN 978-84-695-4746-8-4.
- LOVERCAMP, K. *et al.* Effect Of Dietary Selenium On Boar Sperm Quality. En: Animal Reproduction Science. Mayo, 2013. vol. 138, no. 3-4, p. 268-275.

MARÍN-GUZMÁN, J. *et al.* Effects Of Dietary Selenium And Vitamin E On Boar Performance And Tissue Responses, Semen Quality And Subsequent Fertilization Rates In Mature Gilts. En: Journal Of Animal Science. Octubre, 1997. vol. 75, no. 11 p. 2994-3003.

MARÍN-GUZMÁN, J.; MAHAN, D. y WHITMOYER, R. Effect Of Dietary Selenium And Vitamin E On The Ultrastructure And ATP Concentration Of Board Spermatozoa, And The Efficacy Of Added Sodium Selenite In Extended Semen On Sperm Motility. En: Journal Of Animal Science. Junio, 2000. vol. 78, no. 6, p. 1544-1550.

MARTIN, G. y WHITE, C. 1992. Effects Of Dietary Zinc Deficiency On Gonadotrophin Secretion And Testicular Growth In Young Male Sheep. En: Journal Reproduction And Fertility. 1994. vol. 101, p. 87-96.

MATEOS, Gonzalo; MENDEL, Pedro; CARRION, Domingo. Necesidades Nutricionales Del Verraco De Alta Selección. En: 13 Curso De Especialización FEDNA (España). España. FEDNA. 1997. 20 p.

MATUSIK, R.; KREIS, C. y DODD, J. Regulation Of Prostatic Genes: Role Of Androgens And Zinc In Gene Expression. En: Biochemistry And Cell Biology. 1985. vol. 64, no. 6, p. 601-607.

MCDOWELL, Lee. Zinc. En: Minerals In Animal And Human Nutrition. 2 ed. The Netherlands: Elsevier, 2003. p. 357-395.

MECCARIELLO, Rosaria *et al.* Modulators Of Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis For The Control Of Spermatogenesis And Sperm Quality In Vertebrates. En: Frontiers In Endocrinology. Agosto, 2014. vol. 5, p. 4-5.

MEDINA, V.; PÉREZ, V. y CRUZ, P. Efecto De La Incubación Postdescongelación Sobre La Calidad De Espermatozoides Crioconservados De Cerdo. En: Orinoquía. Diciembre, 2008. vol. 12, no. 2, p. 149-161.

MERRELS, K. *et al.* Relationship Between Abnormal Sperm Morphology Induced By Dietary Zinc Deficiency And Lipid Composition In Testes Of Growing Rats. En: British Journal Of Nutrition. Julio, 2009. vol. 102, no. 2, p. 226-232.

MESQUITA, M. y FRITSCH, M. Gametogénesis. En: GALINA, C.; VALENCIA J. (eds), Reproducción De Los Animales Domésticos. 3 ed. México: Limusa, 2008. p. 43-58.

MYCIELSKA, M. *et al.* Citrate Transport And Metabolism In Mammalian Cells. En: BioEssays. Enero, 2009. vol. 31, no. 1, p. 10-20.

MYERS, G.; SPEARS, J. Trace And Ultratrace Elements In Swine Nutrition. En: LEWIS, A.; SOUTHERN, L. (eds), Swine Nutrition. 2 ed. Boca Raton, Florida (USA): CRS Press LLC, 2001. p. 238-270.

NASRIN, J y CALOGERO, S. Seminal Plasma: An Essential Attribute To Spermatozoa. En: Journal Of Andrology. Julio-Agosto, 2012. vol. 33, no. 4, p. 536-548.

OBERLENDER, G. *et al.* Comparison Of Two Different Methods For Evaluating Boar Semen Morphology. En: Archivos Medicina Veterinaria. 2012. vol. 44, p. 201-205.

OLATUNBOSUN, S. y ADESEOLU, F. Seminal Plasma pH, Inorganic Phosphate, Total And Ionized Calcium Concentrations In The Assessment Of Human Spermatozoa Function. En: Journal Clinical And Diagnostic Research. Noviembre, 2013. vol. 7, no. 11, p. 2483-2486.

OLIVEIRA, P. y ALVES, M. Sertoli Cell Metabolism And Spermatogenesis. Switzerland: Springer, 2015. 98 p. ISBN 978-3-319-19790-6.

OMU, Alexander *et al.* Molecular Basis For The Effects Of Zinc Deficiency On Spermatogenesis: An experimental Study In The Sprague-Dawley Rat Model. En: International Journal Of Urology. Enero-Marzo, 2015. vol. 31, no. 1, p. 57-64.

OSREDKAR, Josko y SUSTAR, Natasa. Copper And Zinc, Biological Role And Significance Of Copper/Zinc Imbalance. En: Journal Of Clinical Toxicology. Diciembre, 2011. 18 p.

PATIENCE, J.; THACKER, P. y DE LANGE, C. Swine Nutrition Guide. 2 ed. Canada: Prairie Swine Center Inc., 1995. 296 p.

PERREAULT, Sally; WOLFF, Robert y ZIRKIN, Barry. The Role of Disulfide Bond Reduction During Mammalian Sperm Nuclear Decondensation in Vivo. En: Developmental Biology. Enero, 1984. vol. 101, no. 1, p. 160-167.

PERRY, David *et al.* Zinc Is A Potent Inhibitor Of The Apoptotic Protease, Caspase-3. En: The Journal Of Biological Chemistry. Julio, 1997. vol. 272, no. 30, p. 18530-18533.

PETERSEN, Christoph.; FÜZESI, Laszlo y HOYER-FENDER, Sigrid. Outer Dense Fibers Proteins From Human Sperm Tail: Molecular Cloning And Expression Analyses Of Two cDNA Transcripts Encoding Proteins Of ~70 kDa. En: Molecular Human Reproduction. Julio, 1999. vol. 5, no. 7, p. 627-635.

PETROCELLI, Hugo; BATISTA, Carlos. y GOSALVEZ, Jaime. Seasonal Variation In Sperm Characteristics In Southern Uruguay. En: Revista Brasileira De Zootecnia. Enero, 2015. vol. 44, no. 1, p. 1-7.

PROMDEE, Limthong y PONGSRITASANA, Thanida. Zinc Level In Seminal Plasma Of Infertile Men. En: Srinagaring Medical Journal. 2005. vol. 20, no.1, p. 38-42.

QUILES, A. La Nutrición Del Verraco. En: Revista De Medicina Veterinaria Cría Y Salud. Febrero, 2008. p. 24-30.

QUINTERO-MORENO, Armando *et al.* Valoración Morfométrica De La Cabeza Del Espermatozoide Del Cerdo Doméstico Según Su Edad. En: Revista científica Facultad De Ciencias Veterinarias. Universidad Zulia (FCV-LUZ). Marzo, 2009. vol. 19, no. 1, p. 153-158.

RANAWAT, Pavitra y BANSAL, Mohinder. Delineating The Molecular Mechanism Behind Regulation Of Spermatogenesis By Selenium: Involvement Of Mitogen Activated Protein Kinase; (JNK). En: American Journal Of Biomedical Sciences. 2009. vol. 1, no. 3, p. 226-241.

RANAWAT, Pavitra y BANSAL, Mohinder. Modulatory Effects Of Selenium On Spermatogenesis: Involvement Of Transcription Factors CREB And CREM. En: American Journal Of Biomedical Sciences. 2010. vol. 2, no. 4, p. 329-341.

RIOPÉREZ, Juan. Influencia Del Estrés Del Verraco En La Gestión. En: Mundo Ganadero. Febrero, 2000. No. 119, p. 30-35.

RISCHKOWSKY, B. y PILLING, D. La Situación De Los Recursos Zoogenéticos Mundiales Para La Alimentación Y La Agricultura. FAO, 2010. 555 p.

RODRÍGUEZ, Heriberto. Evaluación De La Calidad Seminal En El verraco. En: Avances En Tecnología Porcina. 2005. vol. 2, no. 7-8, p. 43-53.

ROMANO, J. y BRINSKO, S. Reproductive Physiology Of The Male. En: KLEIN, B. (ed), Cunningham's Textbook Of Veterinary Phisiology. 5 ed. St. Louis, Missouri: Elsevier-Saunders, 2013. p. 451-459.

ROOT, A. *et al.* Effects Of Zinc Deficiency Upon Pituitary Function In Sexually Mature And Inmature Male Rats. En: Journal Of Nutrition. Junio, 1979. vol. 109, no. 6, p. 958-954.

ROY, Biswajit *et al.* Zinc And Male Reproduction In Domestic Animals: A Review. Indian Journal Of Animal Nutrition. 2013, vol. 30, no. 4, p. 339-350.

ROZEBOOM, Kevin. Evaluating Boar Semen Quality. North Carolina, USA. 2000. ANS00-812S.

RUWANPURA, Saleela.; MCLACHLAN, Robert.; MEACHEM, Sarah. Hormonal regulation Of Male Germ Cell Development. En: Journal Of Endocrinology. 2010. vol. 205, p. 117-131.

SALGUEIRO, J. *et al.* Zinc As An Essential Micronutrient: A Review. En: Nutrition Reseach. Mayo, 2000. vol. 20, no. 1, p. 737-755.

SALINAS, Gustavo. Bioquímica De La Selenocisteína, el 21er Aminoácido, y Rol De Las Selenoproteínas En La Salud Humana. En: Mensaje Bioquímico. 2010. vol. 34, p. 121-133.

SASSONE-CORSI, P. Coupling Gene Expression To Camp Signaling: Role Of CREB And CREM. En: The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology. Enero, 1998. vol. 30, no. 1, p. 27-38.

SHALINI, Sonia y BANSAL, Mohinder. Dietary Selenium Deficiency As Well As Excess Supplementation Induces Multiple Defects In Epididymal Spermatozoa: Understanding The Role Of Selenium In Male Fertility. En: International Journal Of Andrology. Agosto, 2008. vol. 31, no. 4, p. 438-449.

SHALINI, Sonia y BANSAL, Mohinder. Role Of Selenium In Regulation Of Spermatogenesis: Involvement Of Activator Protein 1. En: Biofactors. 2005. vol. 23, no. 2005, p. 151-162.

SHALINI, Sonia y BANSAL, Mohinder. Role Of Selenium In Spermatogenesis: Differential Expression Of Cjun And Cfos In Tubular Cells of Mice Testis. En: Molecular And Cellular Biochemistry. Noviembre, 2006. vol. 292, no. 1-2, p. 27-38.

SHANMUGAM, M. *et al.* Dietary Organic Zinc And Selenium supplementation Improves Semen Quality And Fertility In Layer Breeders. En: Indian Journal Of Animal Sciences. Febrero, 2015. vol. 85, no. 2, p. 202-204.

SMITH, O. y AKINBAMIJO, O. Micronutrients And Reproduction In Farm Animals. En: Animal Reproduction Science. Julio, 2000. vol. 2, no. 60-61, p. 549-560.

SOLIS, Karla. Evaluación De La Calidad De Semen De Verracos Utilizados Para Inseminación Artificial Consumiendo Spermax Forte®. Proyecto especial presentado como requisito para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras: Universidad Zamorano, 2007. 22 p.

SURAI, Peter y FISININ, Vladimir. Selenium in Pig Nutrition and Reproduction: Boars and Semen Quality — A Review. En: Asian Australasian Journal Of Animal Science. Mayo, 2015. vol. 8, no. 5, p. 730-746.

SURAI, Peter. Natural Antioxidants In Poultry Nutrition: New Developments. 16th European Symposium on Poultry Nutrition. 2006. 8 p.

SWINE VET. CENTER. Semen Quality And Abnormality Scoring. Minnesota. 2006. 1 p.

TAREQ, K. *et al.* Effect Of Selenium And Vitamin E On Acrosome Reaction In Porcine Spermatozoa. En: Reproductive Medicine And Biology. Noviembre, 2010. vol. 9, no. 2, p. 73-81.

TAUSON, A. Reproduction. En: BACH, K.; JØRGEN, N.; DAMGAARD, H. BORG, BENT (eds), Nutritional Physiology Of Pigs With Emphasis On Danish Production Conditions. 2012. p. 1-36.

TECHAKUMPHU, Mongkol *et al.* Improvement Of Semen Quality By Feed Supplement And Semen Cryopreservation In Swine. En: Success in Artificial Insemination - Quality Of Semen And Diagnostics Employed. LEMMA, Alemayehu, 2013. p. 17-37.

THONGCHALAM, Khuanruan; RUKKWAMSUL, Theera y CHOMCHAI, Srisuwan. Blood And Semen Selenium Concentrations And Semen Quality In Boars Supplemented With Organic or Inorganic Selenium. En: Journal Of Animal And Veterinary Advances. 2012. vol. 11, no. 5, p. 603-608.

TORRENTES, Ramón *et al.* Manual De Inseminación Porcina. Managua, Nicaragua: Universidad Nacional Agraria, 2013. 87 p.

VALENCIA, León y ELIZABETH, Carla. Elaboración De Diluyente De Semen Porcino. Quito: Escuela Politécnica Nacional, 2006. 122 p.

VALLEE, B. y FALCHUK, K. The Biochemical Basis Of Zinc Physiology. En: Physiological Reviews. Enero, 1993. vol. 73, no. 1, p. 79-118.

VELÁSQUEZ, Carlomagno. Factores Que Influyen En La Calidad Y Principales Características Seminales Del Verraco. Huacho, Perú: Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, 2014. 13 p.

VELÁSTEGUI, Mónica y TINILLO, David. Evaluación Espermiática En Verracos Reproductores Mediante La Utilización De Suplementos: Ácidos omega 3 – 6 Con Selenio Orgánico Y Probióticos Con vitamina E; En La Finca “La Joya”, Parroquia Belisario Quevedo, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi. Previa obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista. Salache: Universidad Técnica De Cotopaxi, 2011. 147 p.

WALKER, William H. y HABENER, Joel. Role Of Transcription Factors CREB And CREM In cAMP-Regulated Transcription During Spermatogenesis. En: Trends In Endocrinology & Metabolism. 1996. vol. 7, no. 4, p. 133-138.

WALKER, William. Testosterone Signaling And The Regulation Of Spermatogenesis. En: Spermatogenesis. 2011. vol. 1, no. 2, p. 116-120.

WATANABE, Toshiaki. y ENDO, Akira. Effects Of Selenium Deficiency On Sperm Morphology And Spermatocyte Chromosomes In Mice. En: Mutation Research. Febrero, 1991. vol. 262, no. 2, p. 93-99.

WILSON, Mark; ROZEBOOM, Kevin y CRENSHAW, Thomas. Boar Nutrition For Optimun Sperm Production. En: Advances In Pork Production. Enero, 2004. vol. 15, p. 295-306.

YAMAGUCHI, Sonoko *et al.* Zinc Is An Essential Trace Element For Spermatogenesis. En: PNAS. Junio, 2009. vol. 106, no. 26, p. 10859-10854.

ZEMJANIS, R. Reproducción Animal: Diagnósticos Y Técnicas Terapéuticas. Trad. D. Pacheco. México D.F.: LIMUSA S.A, 1987. 253 p.

ZHAO, Jiang *et al.* Zinc Levels In Seminal Plasma And Their Correlation With Male Infertility: A Systematic Review And Meta-Analysis. En: Scientific Reports. Marzo, 2016. vol. 6, 10 p.

ANEXOS

ANEXO A

TABLAS ANÁLISIS DE VARIANZA (5 % DE SIGNIFICANCIA), DE LAS VARIABLES SEMINALES PARAMÉTRICAS

ANOVA volumen					
Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	48287,700	3	16095,900	22,826	,000
Error	22564,800	32	705,150		

ANOVA motilidad masal					
Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	575,000	3	191,667	8,638	,000
Error	710,000	32	22,188		

ANOVA motilidad individual					
Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	995,000	3	331,667	9,310	,000
Error	1140,000	32	35,625		

ANOVA motilidad progresiva					
Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	1806,875	3	602,292	12,122	,000
Error	1590,000	32	49,688		

ANOVA morfología - espermatozoides normales					
Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	303,075	3	101,025	6,193	,002
Error	522,000	32	16,313		

ANOVA morfología espermatozoides - defectos cabeza					
Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	17,475	3	5,825	,941	,432
Error	198,000	32	6,188		

ANOVA morfología espermatozoides - defectos cola					
Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	324,675	3	108,225	7,445	,001
Error	465,200	32	14,538		

ANOVA morfología espermatozoides defectos gota citoplasmática					
Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	,875	3	,292	1,111	,359
Error	8,400	32	,263		

ANOVA concentración					
Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	4418,275	3	1472,758	11,397	,000
Error	4135,200	32	129,225		

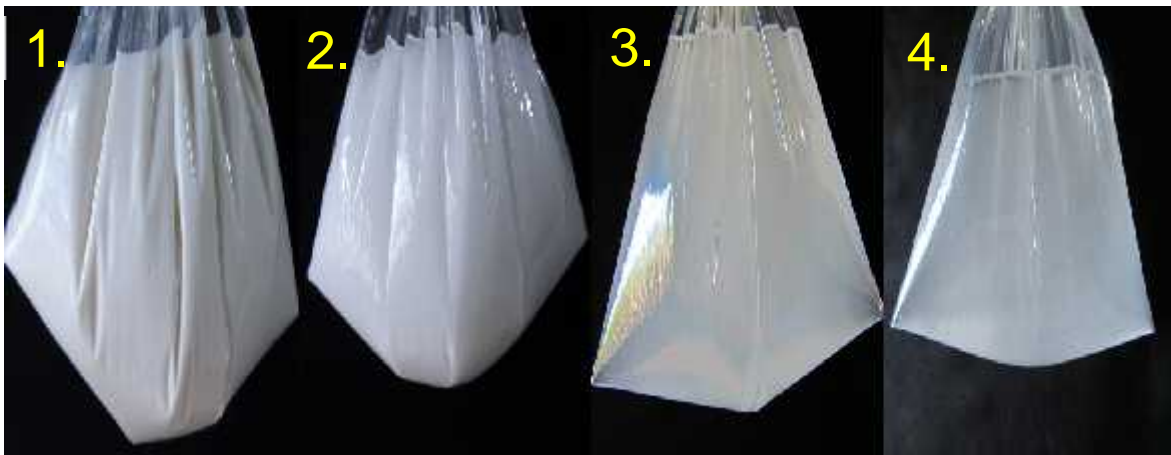
ANOVA vitalidad					
Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	303,075	3	101,025	6,193	,002
Error	522,000	32	16,313		

ANEXO B

COLORES Y ASPECTOS VALORADOS EN EL ESTUDIO



Nomenclatura Colores: 1. Blanco – grisáceo; 2. Blanco; 3. Blanco – translúcido



Nomenclatura Aspectos: 1. Lechoso – opaco; 2. Lechoso – cremoso; 3. Opalescence; 4. Acuoso



ANEXO C

CONSENTIMIENTO INFORMADO

**UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE ZOOTECNIA**

**Formato De Consentimiento Informado Para La participación En
Investigaciones**

Nombre Grupo de Investigación: _____

1. Datos proyecto de investigación:

a) Título Proyecto: _____

b) País-Ciudad: _____ Fecha (d/m/a): _____

2. Datos participantes y/o responsables del proyecto

a) Nombre: _____ Cargo: _____ Firma: _____

b) Nombre: _____ Cargo: _____ Firma: _____

c) Nombre: _____ Cargo: _____ Firma: _____

d) Nombre: _____ Cargo: _____ Firma: _____

3. Consentimiento del representante de la empresa.

Yo, _____, identificado con la C.C N°, _____ expedida en _____, una vez informado sobre todos los propósitos, objetivos, procedimientos, intervenciones, evaluaciones que se llevarán a cabo, y los posibles riesgos de esta investigación, autorizo a las personas que firmaron este consentimiento informado, para que realicen todos los lineamientos necesarios para llevar a cabo el proceso investigativo, durante el tiempo estipulado.

Adicionalmente, se me informó que:

) Mi participación en esta investigación es completamente libre y voluntaria, estoy en libertad de retirarme de ella en cualquier momento.

- J) No recibiré beneficio personal de ninguna clase por la participación en este proyecto de investigación. Sin embargo, se espera que los resultados obtenidos permitirán mejorar los procesos productivos de personas con explotaciones similares a las mías.

- J) En ningún momento, dentro del proceso experimental, los investigadores van a poner en riesgo la salud y/o el bienestar de los animales. No obstante, debido a la naturaleza particular de este proceso experimental, se me puso al tanto, que los riesgos más probables a los que se enfrentarían los animales son:
 - o Diarrea

 - o Disminución de la calidad seminal

- J) Toda la información obtenida y los resultados de la investigación serán tratados confidencialmente. Esta información será archivada en papel o medio electrónico. El archivo del estudio se guardará en la Universidad De Sucre, bajo la responsabilidad de los investigadores.

Hago constar que el presente documento ha sido leído y entendido por mí, en su integridad, de manera libre y espontánea.

Atentamente,

XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
C.C N° XXXXXXXXXXXX, de XXXXXXXX