Contribución genética de una producción seminal eficiente: el impacto de la inseminación artificial a baja concentración sobre la fertilidad

Broekhuijse MLWJ [1]*, Gaustad AH[2,3], A. Bolarin Guillén[4], E.F. Knol[1]
[1]Topigs Norsvin Research Center, Beuningen, Holanda; [2]Topigs Norsvin, Hamar, Noruega; [3]University College of Hedmark, Hamar, Noruega; [4]Topigs Norsvin España, AIM Ibérica, Madrid, España.

INTRODUCCIÓN

El negocio principal de las compañías de inseminación artificial (CIAs) en todo el mundo es la dilución de semen de verracos fértiles para que logren inseminar tantas cerdas como sea posible. El conocimiento de los resultados de fertilidad de estas dosis es la razón por la cual los CIAs pueden disminuir de forma sensata la concentración de la dosis. El uso eficiente de verracos de inseminación artificial (IA) de alto valor genético mediante la disminución del número de espermatozoides por dosis es importante para maximizar la diseminación del progreso genético, sobre todo en los núcleos de selección. Sin embargo, el descenso potencial en la fertilidad de campo respecto del valor añadido de la mejora genética no es aceptable en la producción comercial. La siguiente revisión tratará aspectos que pueden influir sobre la fertilidad de una dosis de IA: 1) la importancia de monitorizar la fertilidad de campo, 2) la necesidad de una medición de calidad seminal exacta y precisa, 3) los parámetros que para ello se tienen en cuenta, 4) la aplicación de la información de la selección genética y genómica y 5) la optimización a través del uso de diferentes técnicas de IA.

PALABRAS CLAVE:

Verraco, fertilidad de campo, evaluación de calidad espermática, producción seminal eficiente, diseminación genética.

MONITORIZAR LA FERTILIDAD DE CAMPO, UNA IDEA DEL EFECTO DE UNA DOSIS DE IA

El conocimiento lo más exacto posible de la relación entre las características seminales y su fertilidad es tan importante como difícil de conseguir. Desde un punto de vista comercial, un CIA debe monitorizar los resultados de sus clientes de una u otra manera. Conocer el desempeño del semen comercializado permite un análisis preciso de las causas de malos resultados puntuales en algunas granjas. Determinar el número adecuado de espermatozoides totales y motiles en una dosis de IA, el nivel máximo de formas anormales permitido, y el valor óptimo de motilidad hasta la fecha de caducidad permiten al CIA trabajar lo más eficientemente posible al menor coste con la máxima fertilidad. Por ejemplo, disminuir la cantidad de espermatozoides en la dosis no es posible sin conocer el riesgo potencial de afectar la fertilidad. Aun teniendo en cuenta que trabajamos con un producto vivo y sensible, los valores de corte se garantizan y los riesgos se minimizan si logramos un análisis estadístico continuo sobre estos parámetros.

A lo largo de los años el número total de espermatozoides en la dosis de IA ha ido disminuyendo desde los 4.0 x 10^9 en 100 ml, hasta 1.5 x 10^9 en 80 ml (*Feitsma, 2009*). El alto número de espermatozoides en la dosis de comercial probablemente enmascare problemas de fertilidad reducida paralelos (*Foxcroft et al., 2008*). Así, los experimentos han ido demostrando que en muchos casos (dependiendo del mercado) era posible disminuir el número de espermatozoides sin notar efecto alguno en los resultados de fertilidad. Recientemente realizamos un análisis (2015, no publicados) sobre el efecto del número de espermatozoides sobre la fertilidad en cubriciones realizadas entre 2007 y 2013, con 584.787 registros de fertilidad de 6,241 verracos. Los registros de inseminación fueron corregidos por los parámetros conocidos relevantes relacionados 1) con la cerda, como la edad de parto, el intervalo destete-estro, el

trinomio establo-año-estación, raza pura/híbrida, número de IAs, y la edad del semen; y 2) con el macho, como la línea genética, edad, el trinomio centro de inseminación-año-estación, el verraco individual y la variación del eyaculado (dentro del mismo verraco), y nos enfocamos en la dosis de IA. Los registros se realizaron sobre dosis entre 1.2 y 2.5 x $10e^9$ de espermatozoides motiles por dosis. La conclusión fue que no hay efecto de la concentración sobre la tasa de partos (FR; p=0.2366), ni sobre los nacidos totales (TNB; p=0.1314) cuando el parámetro se analizó individualmente. En algunas granjas, sin embargo, podría haber mayor sensibilidad a la concentración espermática que en otras. Así pues, se estimó la interacción entre granja y concentración, resultando no significativa para FR (p=0.4381) ni para TNB (p=0.4517).

Disminuir la concentración de la dosis de IA tiene como consecuencia directa el mayor uso de verracos genéticamente mejorantes, con un impacto directo económico en la granja. Decidir entre 3.0, 2.5 o 1.5 x 10^9 de espermatozoides en la dosis tiene un claro efecto sobre el número de verracos que se necesitan para cubrir un efectivo. El Índice de Selección de Topigs Norsvin (TSI) es un índice que combina valores genéticos de caracteres individuales con sus respectivos pesos económicos. El TSI de un animal da una estimación de su valor genético y económico; los verracos con mayor valor de TSI son los reproductores más interesantes y rentables. Si usamos menos verracos, podemos descartar los de más bajo ranking, incrementando el valor de TSI con consecuencias económicas directas.

Por otro lado, las pérdidas económicas debidas a un fallo reproductivo pueden ser también sustanciales (*Roberts, 1986; Lunenfeld & Insler, 1993*). La producción de lechones depende de muchos factores, entre ellos la calidad seminal. Lo más deseable sería contar con un test de calidad seminal que predijera la capacidad fertilizante del semen. Para poder unir las características seminales con el potencial fertilizante de las dosis resultantes es crítico contar con datos homogéneos, específicos, precisos (repetibles) y exactos en el CIA y en la granja. Estos datos son muy difíciles de obtener, y muchas veces 1) los verracos o las cerdas no son representativas de la población, y/o son demasiado pocos, 2) se inseminan pocas cerdas con cada muestra de semen, 3) hay pocas muestras de semen valoradas por verraco, 4) hay un número inapropiado de células usadas en cada inseminación (alta variabilidad), o 5) los resultados de fertilidad no se reportan adecuadamente (*Broekhuijse et al., 2011a*). Topigs Norsvin recoge datos de forma estandarizada tanto en verracos (IA) como en cerdas (a nivel de granja comercial) en todo el mundo. En esta base de datos, sólo se incluye el semen usado en monospermia y las cerdas inseminadas y re-inseminadas con el mismo verraco. El resultante es una base de datos con más de 26 millones de animales, con más de 9 millones de camadas, e información seminal de unos 1,4 millones de eyaculados, en la que es posible analizar efectos de calidad espermática sobre la fertilidad de campo, y sobre la que se basan las siguientes reflexiones.

La variabilidad de la fertilidad en las cerdas es grande, y el efecto de la calidad de un eyaculado sobre ella es relativamente pequeño, e imposible de detectar en colecciones de datos pequeñas. Bases de datos grandes permiten corregir estadísticamente sobre parámetros relacionados con el verraco y con la cerda. La variación en fertilidad residual puede ser enfrentada luego con los parámetros de calidad seminal uno a uno, pudiéndose detectar variaciones en el tamaño de camada de hasta 0,1 lechones (que de otro modo no podrían ser detectadas).

Tras analizar datos desde 2006 hasta 2009 (45,532 eyaculados), se vio que los parámetros relacionados con el semen del verraco explicaban el 5,3% de la variación de la FR y el 5,9% del TNB (*Broekhuijse et al., 2012b*). Esta variación

puede achacarse, entre otros, a la línea genética del verraco, al verraco individual, y a características seminales de calidad tales como formas anormales, motilidad seminal y número de espermatozoides por dosis. Con esta información, los CIAs pueden decidir sus políticas de procesamiento y producción de dosis de IA.

LA VALORACIÓN EXACTA Y PRECISA DEL SEMEN ES ESENCIAL PARA LA PRODUCCIÓN EFICIENTE

Para los clientes de los CIAs es muy importante conseguir la máxima eficiencia reproductiva de la dosis adquirida. Esta eficiencia tiene una base genética, aunque es muy influida por factores externos, como la calidad seminal. Disminuir la variación de fertilidad originada por alteraciones en la calidad seminal mejorará el progreso genético, que se basará en resultados más íntimamente ligados a la genética. Rechazar o aceptar un eyaculado se basa en los chequeos de su calidad. Desde los inicios de la IA hasta hoy, la motilidad (%) es el parámetro de calidad más usado (*Salisbury et al., 1978; Broekhuijse et al., 2012a*), a través de microscopios de campo claro, microscopios de contraste de fases, sistemas de análisis seminal computerizados (CASA), tinciones múltiples y citometría de flujo.

Actualmente, el sistema CASA es el más popular para medir concentración y calidad espermática (*Verstegen et al., 2002; Gil et al., 2009*). Un gran número de laboratorios de Topigs Norsvin usan CASA o láser (un desarrollo propio altamente exacto y preciso) para una medición de concentración más confiable. Además, el sistema CASA permite la determinación de más características del eyaculado de forma más repetible y detallada (*Tejerina et al., 2008; Contri et al., 2010*). Cuando nos acercamos a los límites inferiores de concentración espermática a partir de los cuales sabemos que se afectan los parámetros de fertilidad (esto es, 1.2 x 10^9 espermatozoides motiles), es necesario implementar estos sistemas CASA, que resultan en un menor grado de variación en la calidad del eyaculado comparado con la subjetividad del técnico que evalúa la calidad a ojo. También se reduce la variación entre centros de inseminación (*Mortimer et al., 1986; Broekhuijse et al. 2011b*). Se han descrito algunas correlaciones entre motilidad y fertilidad para muchas especies (*Budworth et al., 1988; Samper et al., 1991; Hirano et al., 2001; Lavara et al., 2005*) y también en cerdos (*Holt et al., 1997; Vyt et al., 2008*), aunque otros estudios no han logrado asociar motilidad y fertilidad (*Liu et al., 1991; Didion, 2008*). En nuestra investigación, bajo parámetros productivos holandeses descritos por *Broekhuijse et al., 2012b*, encontramos relación entre motilidad, motilidad progresiva, algunos parámetros de motilidad básicos del CASA, y la fertilidad. No obstante, la mayor objeción para la implementación del sistema CASA en un centro de inseminación es la alta inversión inicial, la extrema necesidad de estandarización y validación (que debe ser implementada antes de comenzar su uso), y la alta concentración demandada por muchos mercados (al contrario que en Holanda).

Ya vimos que la FR y el TNB son independientes del número total de espermatozoides presentes en la dosis (en un rango entre 1.2 y 2.5 x $10e^9$ espermatozoides), siempre y cuando el número y la calidad espermática se mantengan por encima del mínimo. Sin embargo, esto no es siempre cierto para todos los centros de inseminación. Hay otros factores, tales como higiene, diluyente, condiciones de transporte o sanidad, que pueden afectar al umbral de espermatozoides por dosis (*Waberski et al., 1994; Althouse et al., 2000; Thibier & Guerin, 2000; Vyt et al., 2004*). Cuando la granja usa una dosis de IA, espera la mayor calidad seminal, que no limite el tamaño de camada y la tasa de partos. Sin embargo, el valor predictivo de los parámetros de calidad clásicos (como concentración y formas anormales) es bastante bajo, y sólo explican una pequeña parte del total de la variación de fertilidad (*Broekhuijse et al., 2012a, 2012b*). Hay otras características seminales que también son importantes a la hora de explicar esa variación. Sin embargo, los resultados de diversos estudios suelen ser controvertidos (*Sutkeviciene et al., 2005*).

El daño en el ADN nuclear espermático debe conducir a un reducido desarrollo embrionario (*Larson-Cook et al., 2003; Fatehi et al., 2006*). Espermatozoides con la cromatina más desorganizada tienen una menor capacidad de adhesión al epitelio oviductal (*Ardon et al., 2008*) mientras que los espermatozoides que se unen a dicho epitelio tienen una mayor integridad del ADN nuclear. Además, los ovocitos fecundados con espermatozoides con ADN nuclear dañado no se desarrollan (*Larson-Cook et al., 2003; Fatehi et al., 2006*). Así pues, el daño en el ADN nuclear espermático afecta al TNB y en menor medida a la FR (*Broekhuijse et al., 2012c*). Determinar el índice de fragmentación del ADN nuclear espermático (DFI) es valioso para los CIAs.

En general, el valor de DFI es bajo tanto en semen fresco (*Evenson et al., 1994; Rybar et al., 2004*) como conservado (*Waberski et al., 2002; Boe-Hansen et al., 2005; De Ambrogi et al., 2006; Waberski et al., 2011*), situándose normalmente por debajo del 10% en verracos fértiles (*Broekhuijse et al., 2012c; Evenson, 1999; Waberski et al., 2011*). La literatura propone niveles de corte para el DFI de entre el 2% y el 18% (*Rybar et al., 2004; Boe-Hansen et al., 2008; Didion et al., 2009; Waberski et al., 2011*).

El potencial mitocondrial, la integridad de membrana, y el estado del acrosoma no parecen tener relación con la fertilidad en condiciones comerciales (*Broekhuijse et al., 2012c*). Probablemente la concentración y la calidad de las dosis de IA pueden compensar en estos casos el daño potencial que estos parámetros puedan hacer a la fertilidad. La población normal de espermatozoides debe contener subpoblaciones con ADN dañado y con los otros hándicaps. Si son defectos no compensables, un espermatozoide dañado puede fertilizar al ovocito, y tener un impacto negativo en el desarrollo fetal o embrionario. Para implementar tests específicos en producción, debemos tener presente la variabilidad entre líneas genéticas, en el mismo verraco, y también el coste del test.

ASPECTOS A TENER EN CUENTA AL PRODUCIR Y DISTRIBUIR SEMEN DE IA A BAJA CONCENTRACIÓN

En el trabajo de reproducción porcina hay algunos parámetros que vienen dados de forma inamovible (simplemente porque son así, como por ejemplo la línea genética del verraco, o el efecto de la edad de la cerda), y hay otros parámetros que pueden controlarse para influir en la fertilidad. La motilidad espermática básica sólo explica una pequeña parte de la variación, lo cual sugiere que hay otros factores envueltos en el proceso de fertilización (*Foote, 2003*) que podrían ser más relevantes.

La línea genética del verraco explica una buena parte de la variación en FR y TNB por parte del verraco (*Broekhuijse et al., 2012a, b*), tal y como también describieron (*Kommisrud et al., 2002; Kondracki, 2003; Gadea et al., 2004; Janett et al., 2005; Sondermann and Luebe, 2008*). Además, no parece haber ninguna raza que presente excelentes características seminales específicamente (*Kennedy and Wilkins, 1984; Oh et al., 2003*). En general la elección de la línea genética evidentemente no está basada en sus resultados de fertilidad, sino en la demanda del mercado. Los CIAs necesitan incluir las diferencias de raza en sus conceptos de calidad para asegurarse el mejor uso de verraco.

Por supuesto, hay muchos otros factores que afectan a la fertilidad, como por ejemplo el verraco individual. Tenemos que detectar a los verracos sub-fértiles cuanto antes, preferiblemente antes de que las dosis seminales sean vendidas, pero también como consecuencia de estudios retrospectivos, pues el impacto en la fertilidad puede ser grande. En Dinamarca se realizó un estudio seleccionando verracos basándose en el tamaño reducido de camada estimado del verraco según su historial, comparado con la población promedio en el momento de la selección. El tamaño de camada promedio para los verracos seleccionados fue más de 2.5 lechones menos que el tamaño de camada de los verracos control (*Hansen et al., 2015; datos no publicados*). En Topigs Norsvin se realiza un ranking semanal similar, basado en la FR y el TNB corregido por parámetros relacionados con el verraco y con la hembra (el llamado Efecto Directo del Verraco, o DBE). El DBE representa la diferencia corregida respecto a 0 (promedio) de la población de verracos de Topigs Norsvin con registros controlados. La dispersión de la población mundial es entre -5.98% y +4.05% para FR, y -0.86 y +0.97 para TNB (n=1193 verracos, 116,749 IA). En España, este efecto es similar (entre -5.68% y +3.96% FR, y entre -1.01 y +0.68 TNB (n=98 verracos, 13,825 IA. *Figura 1*).

INFORMACIÓN DE SELECCIÓN GENÉTICA Y GENÓMICA QUE CONTRIBUYEN A LA IA

Cada verraco insemina miles de cerdas, así que su impacto económico es obvio. La base de la producción en una granja es la cubrición de unos pocos animales en pureza para que nazcan animales adaptados al ambiente local (al clima, al sistema de alojamiento, a la salud, y la disponibilidad de nutrientes (*Bowman et al., 2010; Camerlink et al., 2014; Mathur et al., 2014*). Como consecuencia, la granja de producción presenta una distancia genética con los núcleos mesurable genética y genómicamente. Una producción eficiente de dosis de IA vendría a reducir no sólo la distancia sino también la variabilidad genética entre granjas de producción.

Los programas de reproducción tradicionales se basan en caracteres de producción, sin tener en cuenta los caracteres del verraco según su potencial fértil individual. Si seleccionamos a los verracos sólo por características productivas tales como crecimiento, eficiencia alimentaria o cantidad de carne, muy probablemente el resultado colateral será una disminución en los parámetros de producción y calidad seminales (*Oh et al., 2006*). Como dijimos anteriormente, la motilidad espermática es uno de los parámetros más usados para definir la calidad espermática, pero sólo puede medirse tras la pubertad, lo cual prolonga el intervalo generacional. Así, el uso de información genómica podría ser una alternativa para evaluar y mejorar la selección de verracos en un estadío temprano de su vida.

Los estudios de cartografía genómica conocidos como Genome-Wide Association Studies (GWAS) permiten emplear tecnologías de genotipado para estudiar polimorfismos de nucleótidos simples (SNPs) en el ADN de porcino,

y relacionarlo con caracteres de interés (*Pearson & Manolio, 2008*). Ya se han llevado a cabo estudios GWAS sobre algunos caracteres de porcino, tales como el olor a macho de la carne (*Duijvesteijn et al., 2010*), parámetros reproductivos de la hembra (*Onteru et al., 2012*), comportamiento alimentario (*Do et al., 2013*) y composición corporal (*Fan et al., 2011*): Sin embargo, aún no se había realizado un estudio GWAS sobre la motilidad espermática. Diniz et al. (2014) identificó seis SNPs asociados con la motilidad espermática en la población de Large White de Topigs Norsvin. Esta es la primera vez que se ha encontrado un locus de carácter cuantitativo (QTL) asociado a la motilidad espermática. El gen candidato más complejo en la región QTL identificada es la Methionil-tRNA-formyltransferasa (MTFMT). Según Tucker et al. (2011), el gen de la MTFMT es crítico para la actividad mitocontrial. Gur y Breitbart (2006) demostraron que su inhibición reducía la motilidad espermática, la capacitación y la tasa de fertilización *in vitro*. Esto significa que hay genes en el núcleo espermático que se traducen en proteínas durante la estancia en el aparato reproductor de la hembra. Esta información podría usarse como potencial marcador que asista a la selección genómica temprana de reproductores en las poblaciones de verracos.

OPTIMIZANDO LA PRODUCCIÓN SEMINAL MEDIANTE EL USO DE DIFERENTES TÉCNICAS DE IA

La eficiencia de la IA viene dada por el número de espermatozoides por dosis requeridos por celo (*Watson & Behan, 2002; Dimitrov & Zmudzki, 2008*). Actualmente las técnicas de deposición de estos espermatozoides en la hembra son: inseminación cervical (tradicional), poscervical (PCAI), intrauterina (IUI), intrauterina profunda (DUI) e inseminación laparoscópica (Vazquez et al., 2008). Todas ellas presentan ventajas e inconvenientes. En la IA tradicional, encontramos gran reflujo y fagocitosis espermática en útero, que causa la pérdida de hasta el 90% de los espermatozoides inseminados (*Rath, 2002: Sumransap et al., 2007*). En las PCAI y la IUI, el semen se tiende a depositar más cerca del lugar de fertilización mediante sondas, permitiendo disminuir el número de espermatozoides y su volumen (*Hernandez-Caravaca et al., 2012; Vazquez et al., 2008; Watson & Behan, 2002; Roberts & Bilkei, 2005*), probablemente por la disminución de la fagocitosis y el reflujo. La PCAI concretamente en España ha provocado una disminución del censo de verracos muy significativa, y ha permitido una rápida mejora genética a través de la selección de los mejores verracos, contribuyendo al aumento de la productividad de los últimos años.

CONCLUSIÓN: CONOCE EL IMPACTO DE LA DOSIS DE BAJA CONCENTRACIÓN EN LA FERTILIDAD

La IA se ha convertido en un factor clave en el desarrollo genético de la producción porcina en todo el mundo, y su objetivo es sacar el mayor rendimiento de los mejores verracos manteniendo la bioseguridad y sin afectar los parámetros reproductivos. La fertilización es un proceso complejo que implica muchos eventos distintos. Por eso la investigación no debe centrarse sólo en métodos *in vitro*, sino que también debe basarse en resultados *in vivo* en grandes cantidades y fiables. La industria porcina necesita incrementar continuamente la producción de lechones para mantenerse competitiva frente a otras fuentes proteicas de origen animal. En este sentido, el conocimiento y control de la concentración espermática y su impacto sobre la fertilidad puede ser muy beneficioso para las empresas de IA (mejorando la eficiencia en la producción de dosis), para las empresas de genética (incrementando el valor genético de las poblaciones de forma directa) y para los ganaderos (mejorando los parámetros productivos y reproductivos a través de la mejora en los índices genéticos de los reproductores).

Sin embargo, la afectación de los parámetros reproductivos como consecuencia de la disminución de la concentración espermática en la dosis no es una opción válida en la producción. La recogida de datos de granjas y CIAs, su fusión y su posterior análisis permite describir sólidamente los límites e identificar verracos y/o eyaculados sub-fértiles. La estandarización de la valoración espermática ayuda en este aspecto. Los estudios llevados a cabo en continuo sobre el momento de inseminación, estacionalidad, temperatura del semen, efecto de morfoanomalías, translocación

Tabla 1. *Datos del Efecto Directo del Verraco* de Holanda, España y otros 20 países más, mostrando la variabilidad en la tasa de partos (FR) y los lechones nacidos totales (TNB) entre los verracos alojados en centros de inseminación artificial. Datos cedidos por Topigs Norsvin.*
**Existe una base de datos (PigBase) en el Centro de Investigación Porcina de Topigs Norsvin (Beuningen, Holanda) en la que están disponibles los registros de fertilidad de cubriciones en pureza o híbridas de granjas adscritas al programa. Estos datos de fertilidad han sido corregidos por factores asociados a la granja y a la hembra (por ejemplo edad al parto, línea genética, granja, estación, primera cubrición o no, raza pura/hibrido, numero de inseminaciones, edad del semen, etc) y la variación residual constituye el Efecto Directo del Verraco (DBE) sobre la fertilidad.*

País	Parámetros de fertilidad	Variación (min<-->máx)	Mejores verracos (10%)	Peores verracos (10%)	Diferencia mejores y peores 10%
Holanda (616 verracos y 43,141 inseminaciones)	FR, %	-5.31<-->+3.60	≥+1.06	≤-0.98	2.04
	TNB, nº	-0.68<-->+0.83	≥+0.32	≤-0.25	0.57
España (98 verracos y 13,825 inseminaciones)	FR, %	-5.68<-->+3.96	≥+1.06	≤-1.87	2.93
	TNB, nº	-1.01<-->+0.68	≥+0.25	≤-0.24	0.49
Restantes 20 países (479 verracos y 59,783 inseminaciones	FR, %	-5.98<-->+4.05	≥+0.91	≤-1.70	2.61
	TNB, nº	-0.86<-->+0.97	≥+0.35	≤-0.27	0.62

**Existe una base de datos (PigBase) en el Centro deå Investigación Porcina de Topigs Norsvin (Beuningen, Holanda) en la que están disponibles los registros de fertilidad de cubriciones en pureza o híbridas de granjas adscritas al programa. Estos datos de fertilidad han sido corregidos por factores asociados a la granja y a la hembra (por ejemplo edad al parto, línea genética, granja, estación, primera cubrición o no, raza pura/hibrido, numero de inseminaciones, edad del semen, etc) y la variación residual constituye el Efecto Directo del Verraco (DBE) sobre la fertilidad*

recíproca, fragmentación del ADN nuclear espermático, el tiempo de almacenamiento de la dosis, o la motilidad espermática (por poner algunos ejemplos) en relación con la fertilidad y la prolificidad nos permiten establecer criterios sólidos respecto de la aprobación de un eyaculado para su consumo. En el futuro, aún necesitamos más. La selección genética y genómica de la cantidad, calidad y potencial fértil de los eyaculados de un verraco ayudará a definirlo productivamente, y a usar más eficientemente los mejores animales, consiguiendo que la industria se beneficie del progreso genético ofrecido por las casas de genética de forma mucho más rápida y generalizada.

Bibliografía

- Althouse GC, Kuster CE, Clark SG, Weisiger RM, 2000: Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. *Theriogenology* 53, 1167–1176.
- Boe-Hansen GB, Christensen P, Ersboll AK, 2005: Increasing storage time of extended boar semen reduces sperm DNA integrity. *Theriogenology* 63, 2006–2019.
- Boe-Hansen GB, Christensen P, Vibjerg D, Nielsen MBF, Hedeboe AM, 2008: Sperm chromatin structure integrity in liquid stored boar semen and its relationships with field fertility. *Theriogenology* 69, 728-736.
- Bouwman AC, Bergsma R, Duijvesteijn N, Bijma P, 2010: Maternal and social genetic effects on average daily gain of piglets from birth until weaning. *J Anim Sci* 88, 2883-2892.
- Broekhuijse MLWJ, Feitsma H, Gadella BM, 2011a: Field data analysis of boar semen quality. *Reprod Dom Anim* 46(2), 59–63.
- Broekhuijse MLWJ, Soštarić E, Feitsma H, Gadella BM, 2011b: Additional value of computer assisted semen analysis (CASA) compared to conventional motility assessments in pig artificial insemination. *Theriogenology* 76, 1473-1486.
- Broekhuijse MLWJ, Soštarić E, Feitsma H, Gadella BM, 2012a: The value of microscopic semen motility assessment at collection for a commercial artificial insemination centre, a retrospective study on factors explaining variation in pig fertility. *Theriogenology* 77, 1466-1479.
- Broekhuijse MLWJ, Soštarić E, Feitsma H, Gadella BM, 2012b: Application of computer assisted semen analysis to explain variations in pig fertility. *J Anim Sci* 90(3), 779-789.
- Broekhuijse Soštarić E, Feitsma H, Gadella BM, 2012c: Relation of flow cytometry sperm integrity assessments with boar fertility performance under optimised field conditions. *J Anim Sci* 90(12), 4327-36.
- Budworth PR., Amann RP, Chapman PL, 1988: Relationships between computerized measurements of motion of frozen-thawed bull spermatozoa and fertility. *J. Androl.* 9, 41–54.
- Camerlink I, Bolhuis JE, Duijvesteijn N, Van Arendonk JAM, Bijma P, 2014: Growth performance and carcass traits in pigs selected for indirect genetic effects on growth rate in two environments. *J Anim Sci* 92, 2612-2619.
- Contri A, Valorz C, Faustini M, Wegher L, Carluccio , 2010: Effect of semen preparation on casa motility results in cryopreserved bull spermatozoa. *Theriogenology* 74, 424 –35.
- De Ambrogi M, Ballester J, Saravia F, Caballero I, Johannison A, Wallgren M, Andersson M, Rodriguez-Martinez H, 2006: Effect of storage in short- and long-term commercial semen extenders on the motility, plasma membrane and chromatin integrity of boar spermatozoa. *Int J Androl* 29, 543–552.
- Didion BA, 2008: Computer-assisted semen analysis and its utility for profiling boar semen samples. *Theriogenology* 70, 1374–1376.
- Didion BA, Kasperson KM, Wixon RL, Evenson DP, 2009: Boar fertility and sperm chromatin structure status: a retrospective report. *J Androl* 30, 655–660.
- Diniz DB, Lopes MS, Broekhuijse MLWJ, Lopes PS, Harlizius B, Guimarãesa SEF, Duijvesteijn N, Knol EF, Silva FF, 2014: A genome-wide association study reveals a novel candidate gene for sperm motility in pigs. *Anim Reprod Sci* 151, 201–207.
- Evenson DP, 1999: Loss of livestock breeding efficiency due to uncompensable sperm nuclear defects. *Reprod Fert Develop* 11, 1–15.

Bibliografía

- Evenson DP, Thompson L, Jost L, 1994: Flow cytometric evaluation of boar semen by the sperm chromatin structure assay as related to cryopreservation and fertility. *Theriogenology* 41, 637–651.
- Feitsma H, 2009: Artificial insemination in pigs, research and developments in The Netherlands, a review. *Acta Sci Vet* 37(1), 61-71.
- Gadea J, Selles E, Marco MA, 2004: The predictive value of porcine seminal parameters on fertility outcome under commercial conditions. *Reprod Domest Anim* 39, 1-6.
- Gil MC, Garcia-Herreros M, Baron FJ, Aparicio IM, Santos AJ, Garcia-Marin LJ, 2009: Morphometry of porcine spermatozoa and its functional significance in relation with the motility parameters in fresh semen. *Theriogenology* 71, 254–263.
- Gur Y, Breitbart H, 2006: Mammalian sperm translate nuclear-encoded proteins by mitochondrial-type ribosomes. *Genes Dev* 20, 411–416.
- Hernández-Caravaca I, Izquierdo-Rico MJ, Matás C, Carvajal JA, Vieira J, Abril D, Soriano-Úbeda C, García–Vázquez FA, 2012: Reproductive performance and backflow study in cervical and post-cervical artificial insemination in sows. *Anim Reprod Sci* 136, 14-22.
- Hirano Y, Shibahara H, Obara H, Suzuki T, Takamizawa S, Yamaguchi C, Tsunoda H, Sato I, 2001: Relationships between sperm motility characteristics assessed by the computeraided sperm analysis (CASA) and fertilization rates in vitro. *J. Assist. Reprod. Genet.* 18, 213–218.
- Holt C, Holt WV, Moore HDM, Reed HCB, Curnock RM, 1997: Objectively Measured Boar Sperm Motility Parameters Correlate With the Outcomes of On-Farm Inseminations: Results of Two Fertility Trials. *J Androl* 18, 312-323.
- Janett F, Fuschini E, Keo S, Hassig M, Thun R, 2005: Seasonal changes of semen quality in the boar. *Reprod Domest Anim* 40, 356.
- Kennedy BW, Wilkins JN, 1984: Boar, breed and environmental factors influencing semen characteristics of boars used in artificial insemination. *Can J Anim Sci* 64, 833-843.
- Kommisrud E, Paulenz H, Sehested E, Grevle IS, 2002: Influence of boar and semen parameters on motility and acrosome integrity in liquid boar semen stored for five days. *Acta Vet Scand* 43, 49-55.
- Kondracki S, 2003: Breed differences in semen characteristics of boars used in artificial insemination in Poland. *Pig News Inf* 24, 119-122.
- Lavara R, Moce E, Lavara F, Viudes de Castro MP, Salvador Vicente J, 2005: Do parameters of seminal quality correlate with the results of on-farm inseminations in rabbits? *Theriogenology* 64, 1130–1141.
- Liu DY, Clarke CN, Gordon Baker HW, 1991: Relationship between sperm motility assessed with the Hamilton-Thorn motility analyzer and fertilization rates in vitro. *J. Androl.* 12, 231–239.
- Lunenfeld B, Insler V, 1993: Infertility: the dimension of the problem. In: Insler V, Lunenfeld B, eds. Infertility: Male and Female. Edinburgh: Churchill Livingstone, 3–7.
- Mathur PK, Herrero-Medrano JM, Alexandri P, Knol EF, ten Napel J, Rashidi H, Mulder HA, 2014: Estimating challenge load due to disease outbreaks and other challenges using reproduction records of sows. *J Anim Sci* 92, 5374-5381.
- Mortimer D, Shu MA, Tan R, 1986: Standardization and quality control of sperm concentration and sperm motility counts in semen analysis. Human Reprod 1:5, 299-303.
- Oh SH, See MT, Long TE, Galvin JM, 2003: Genetic correlations between boar semen traits. *J Anim Sci* 81, 317.
- Rath D, 2002: Low dose insemination in the sow–A review. *Reprod Dom Anim* 37(4), 201-205.
- Roberts PK, Bilkei G, 2005: Field Experiences on Post-cervical Artificial Insemination in the Sow. *Reprod Dom Anim* 40(5), 489-491.
- Roberts SJ, 1986: Infertility in male animals (andrology). In: Roberts SJ, ed. Veterinary Obstetrics and Genital Diseases: *Theriogenology*, 3rd edn. Edwards Brothers, North Pomfre, Vermont, pp. 752-896.
- Rybar R, Faldikova L, Faldyna M, Machatkova M, Rubes J, 2004: Bull and boar sperm DNA integrity evaluated by sperm chromatin structure assay in the Czech Republic. *Vet Med* 49, 1–8.
- Salisbury GW, VanDemark NL, Lodge JR, 1978: Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle. 2nd ed. W. H. Freeman Co., San Francisco.
- Samper, J. C., J. C. Hellander, and B. G. Crabo. 1991. Relationship between the fertility of fresh and frozen stallion semen and semen quality. *J. Reprod. Fertil. Suppl*. 44:107–114.
- Sondermann JP, Luebbe JJ, 2008: Semen production and fertility issues related to differences in genetic lines of boars. *Theriogenology* 70, 1380-1383.
- Sumransap P, Tummaruk P, Kunavongkrit A, 2007: Sperm distribution in the reproductive tract of sows after intrauterine insemination. *Reprod Dom Anim* 42(2), 113-117.
- Sutkeviciene N, Andersson MA, Zilinskas H, Andersson M, 2005: Assessment of boar semen quality in relation to fertility with special reference to methanol stress. *Theriogenology* 63, 739-747.
- Tejerina F, Buranaamnuay K, Saravia F, Wallgren M, Rogriguez-Martinez H, 2008: Assessment of motility of ejaculated, liquid stored boar spermatozoa using computerized instruments. *Theriogenology* 69, 1129 –1138.
- Thibier M, Guerin B, 2000: Hygienic aspects of storage and use of semen for artificial insemination. *Anim Reprod Sci* 62, 233–251
- Tucker EJ, Hershman SG, Köhrer C, Belcher-Timme CA, Patel J, Gold-berger OA, Christodoulou J, Silberstein JM, McKenzie M, Ryan MT, Compton AG, Jaffe JD, Carr SA, Calvo SE, RajBhandary UL, Thorburn DR, Mootha VK, 2011: Mutations in MTFMT underlie a human disorder of formylation causing impaired mitochondrial translation. *Cell Metab* 14(3), 428–34.
- Vazquez JM, Roca J, Gil MA, Cuello C, Parrilla I, Vazquez JL, Martínez EA, 2008: New developments in low-dose insemination technology. *Theriogenology* 70(8), 1216-1224.
- Verstegen J, Iguer-ouada M, Onclin K, 2002: Computer assisted semen analyzers in andrology and veterinary practice. *Theriogenology* 57, 149 –79.
- Vyt P, Maes D, Quinten C, Rijsselaere T, Deley W, Aerts M, de Kruif A, van Soom A, 2008: Detailed motility examination of porcine semen and its predictive value towards reproductive performance in sows. *Vlaams Diergeneeskd*. Tijdschr.77, 291–298.
- Vyt P, Maes D, Dejonckheere E, Castryck F, Van Soom, A, 2004: Comparative study on five different commercial extenders for boar semen. *Reprod Dom Anim* 39, 8-12.
- Waberski D, Meding, S, Dirksen G, Weitze KF, Leiding C, Han R, 1994: Fertility of long-term-stored boar semen: Influence of extender (Androhep and Kiev), storage time and plasma droplets in the semen. *Anim Reprod Sci* 36, 145–151.
- Waberski D, Helms D, Bayerbach M, Weitze KF, Bollwein H, Bluemig P, Wileke H, Acevedo N, 2002: Sperm chromatin structure in boars used in artificial insemination. *Reprod Domest Anim* 37(4), 257 (abstr).
- Waberski D, Schapmann E, Henning H, Riesenbeck A, Brandt H, 2011: Sperm chromatin structural integrity in normospermic boars is not related to semen storage and fertility after routine AI. *Theriogenology* 75, 337–345.
- Watson PF, Behan JR, 2002: Intrauterine insemination of sows with reduced sperm numbers: results of a commercially based field trial. *Theriogenology* 57(6), 1683-1693.