

## Efecto de la época del año en algunas características del eyaculado de diferentes genotipos porcinos (Effect of the time of the year in some characteristics of the one ejaculated of different boars genotypes)

**Hernández J. L. D; Alemán. R**

*Centro de Investigaciones para el Mejoramiento Animal de la Ganadería Tropical (CIMAGT)  
Carretera Central Km 21½. Loma de Tierra Ciudad Habana.  
CUBA*

Nombre de asociado: **pitoopbe** Email : [jluis@cima-minag.cu](mailto:jluis@cima-minag.cu)

**REDVET: 2008, Vol. IX, Nº 11**

Recibido 11.06.08 - Ref. prov. N009 - Revisado 21.09.08 - Ref. def. 111109\_REDvet - Aceptado 24.10.08 -  
Publicado 01.11.08

Este artículo de investigación está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111108.html>  
concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111108/111109.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®.  
Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con REDVET®  
- <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

### Resumen:

Con el objetivo de analizar algunos parámetros espermáticos entre genotipos porcinos en diferentes épocas del año y para una misma época, entre Enero 2004 Diciembre 2004, se procesaron 2053 eyaculados procedente de 35 sementales con una edad entre 18 y 24 meses, de los genotipos Large White, CC21, Landrace , L35 y YorkShire. Al realizar el análisis de los diferentes parámetros espermáticos, se pudo observar diferencias significativas para ( $p < 0.001$ ) entre las épocas en estudio, observándose un mejor comportamiento en la época de seca, por otra parte al referirnos al comportamiento entre genotipos para la motilidad, concentración, morfopatologías y CEV (Concentración espermática viable) encontramos diferencias significativas para ( $p < 0.001$ ) siendo los de mejor comportamiento en orden descendiente (Landrace, Large White, CC<sub>21</sub>, L<sub>35</sub> y YorkShire), cabe considerar que este comportamiento por genotipo fue observado tanto al compararse las dos épocas como dentro de una misma época. Para el procesamiento estadístico de los datos se utilizó el paquete estadístico (SAS).

**Palabras claves:** parámetros espermáticos, genotipos porcinos, época del año.

## Summary

With the objective of analyzing some spermatic parameters among boars genotypes in different times of the year and oneself stops time, among January 2004 December 2004, 2053 were processed ejaculated coming from 35 boars with an age between 18 and 24 months, of the Large White, CC21, Landrace, L35 and YorkShire genotypes. When carrying out the analysis of the different spermatic parameters, one could observe significant differences for ( $p < 0.001$ ) among the times in study, being observed a better behavior in the time of dry season, on the other hand when referring to the behavior among for the motility, concentration, morphopathology and CEV (viable spermatic Concentration) genotypes we found significant differences for ( $p < 0.001$ ) being those of better behavior in descending order (Landrace, Large White, CC21, L 35 and YorkShire), it fits to consider that this behavior for genotype was observed so much when being compared the two times like inside oneself time. For the statistical analysis of the data the statistical package was used (SAS).

**Key words:** spermatic parameters, boars genotypes, time of the year

---

## Introducción

Según Den Daas (1992), Gadea (1997) y Shena (2007), los parámetros espermáticos importantes de tomar en cuenta cuando se trabaja con semen -ya sea fresco, tratado o congelado-, son la concentración de espermatozoides/ml, la motilidad, la integridad membranal, la integridad del acrosoma y capacidad de unión al ovocito. Sin dudas la motilidad y la evaluación de la morfología son ampliamente usadas como indicadores de la viabilidad de los espermatozoides porcinos, esto se debe a que el acrosoma es de vital importancia funcional en el mecanismo de la fecundación (Paulenz, *et al* 2000). Desde la perspectivas de Nallella *et al* (2006) concluyen que la motilidad y concentración espermática son los parámetros que mejor predicen el poder fertilizante de un eyaculado, encontrando estos autores un pobre poder predictivo a través de la morfología,

Resulta claro según (Jorgensen *et al* 2001; Swan *et al* 2003) que las diferencias en la calidad del semen esta en dependencia de la zona geográfica, donde se incluyen los factores medioambientales y las diferencias genéticas. Por otra parte Chen *et al* (2003) señala que la concentración espermática y el número de espermatozoides con morfología normal es significativamente más alto en invierno que en el verano.

En la última década, se han desarrollado sofisticados métodos de exámenes como son, la evaluación de la cinética espermática a través del analisis de la motilidad asistido por computadora, las pruebas de resistencia osmótica, evaluación de la integridad de la membrana plasmática con tintes fluorescentes para la impermeabilidad de la membrana, evaluación del estado del acrosoma, investigaciones de la integridad del ADN usando la

prueba de la estructura de la cromatina espermática o valoración del estado estructural de la membrana (Agarwal *et al* 2004, Lewis *et al* 2005, Guillan *et al* 2005, Silva *et al* 2006, Petrunkina *et al* 2007). Estas técnicas están empezando a encontrar su lugar en los modernos laboratorios de espermatología, donde algunas son aplicadas de forma rutinaria en la evolución de la producción de semen de porcino (Christensen *et al* 2004, 2005a), ayudando a explicar algunas fuentes de variación entre individuos para la fertilidad (Christensen *et al* 2004, 2005b; Quintero-Moreno *et al* 2004, Gil *et al* 2005, Hallap *et al* 2006).

El objetivo del presente trabajo consistió en analizar algunos parámetros espermáticos entre genotipos porcinos en diferentes épocas del año y para una misma época.

## **Materiales y Métodos**

Este experimento se realizó en el laboratorio de tecnología del CIMAGT entre Enero 2004 a Diciembre 2004; se procesaron 2053 eyaculados procedente de 35 sementales porcinos con una edad entre 18 y 24 meses de los genotipos Large White, CC<sub>21</sub>, Landrace, L<sub>35</sub> y YorkShire los cuales se encontraban situados en boxers individuales con una alimentación controlada y estable a base de concentrados a razón de 2½ Kg./animal/día.

La colecta del semen se llevó a cabo dos veces por semana mediante el método de mano enguantada, siempre en presencia de un maniquí, recogiendo el eyaculado sobre un vaso de precipitado que se encontraba localizado en el interior de un termo debidamente atemperado a 37°C y cubierto con una gasa estéril para filtrar las partículas contaminantes y las secreciones de la glándula de Cowper. Tras la recogida se transportó el semen obtenido al laboratorio para realizar una primera valoración determinándose el color, el volumen (ml) mediante una probeta graduada, la motilidad (%) por valoración al microscopio con platina calentable (37°C) en un aumento de 100 x, la concentración espermática ( $\times 10^6$ /ml) mediante conteo en cámara de Neubauer, la morfología por la técnica de contraste de fase y la concentración espermática viable (CEV) mediante la fórmula según (Moya, 1998)

CEV= (volumen)(motilidad)(concentración)(% de no patológicos)

Análisis estadístico:

Para determinar las diferencias entre genotipos para diferentes épocas del año y dentro de una misma época se realizó un análisis de varianza. Los datos fueron procesados según paquete estadístico (SAS, 1995).

## Resultados y Discusión

En la tabla 1 se puede observar el comportamiento de todos los genotipos para los parámetros estudiados según la época del año. Al realizar el análisis de los diferentes indicadores espermáticos, se pudo observar diferencias significativas para ( $p < 0.001$ ) entre las épocas en estudio, observándose un mejor comportamiento en la época de seca, este período coincide con los meses más frescos del año con una temperatura promedio de 20,5 °C brindándole un mejor confort a los animales, esto concuerda con lo señalado por Thompson (2000) donde plantea que se debe buscar controlar la temperatura ambiente de los animales, debido a que las altas temperaturas pueden disminuir la cantidad y calidad de la producción espermática producto de que el plexo pampiniforme ayuda al escroto a mantener la temperatura deseada, pero este mecanismo es mucho menos eficaz en los puercos que en otros animales domésticos que poseen un escroto totalmente suspendido. Otros autores Colenbrander (1993) y Le Dividich (1996) señalan que para el buen desarrollo de la espermatogenesis en el verraco se requiere temperaturas inferiores a la corporal, donde temperaturas ambientales elevadas afectan la producción seminal, señalando como límite máximo recomendado 29 a 30 °C, inclusive varios días seguidos con estas temperaturas máximas desencadenan el síndrome de sufrimiento testicular, lo que trae consigo disminución del número de espermatozoides en el eyaculado, disminuye la motilidad, además ocurre un aumento del porcentaje de anomalías. Podríamos resumir al analizar la tabla 1, que los valores en la época de seca se encuentran dentro de los considerados como normales por diferentes autores (tabla 3: Valores normales de volumen, concentración, motilidades y acrosomas), a diferencia de los valores encontrados para la época de lluvia, los cuales se encuentran por debajo de los reportados en el mundo.

**Tabla 1:** Resultado del análisis de varianza para cada una de las características estudiadas

Época	Volumen	Motilidad	Concentración	Morfología	CEV	Temp
Época Seca	197 a	69 a	242 a	14 a	38007 a	20,5
Época Lluvia	177 b	57 b	199 b	20 b	29042 b	28,1
X	187	63	220	17	33525	23,7
DE	14,14	8,48	30,40	4,24	6339	

Letras diferentes difieren significativamente para ( $p < 0.001$ )

CEV: Concentración espermática viable

X: Media aritmética

DE: Desviación Estándar

Por otra parte en la tabla 2 se refleja cual fue el comportamiento entre genotipos en estudio, al referirnos a la motilidad, concentración, morfopatologías y CEV entre las épocas en estudio (filas) podemos ver que existieron diferencias significativas (mejor la época de seca para todos los parámetros en estudio) para todos los genotipos, siendo los de mejor

comportamiento en orden descendiente (Landrace, Large White, CC<sub>21</sub>, L<sub>35</sub> y YorkShire) al guiarnos por la CEV, lo que acentúa una vez más el efecto negativo de las altas temperaturas y altas humedades relativas sobre la calidad espermática coincidiendo con Hernández *et al* (2005), Jorgensen *et al* (2001) y Swan *et al* (2003) quienes señalan que es posible que la disminución de la motilidad, concentración, CEV y el aumento en las morfolopatologías en el eyaculado de los diferentes genotipos en las condiciones del trópico, al compararlo con lo reportado en la literatura mundial (diferentes zonas geográficas), se deba a la influencia negativa del clima, de este modo autores como (De Serrano *et al* 1989, Sánchez, 2000) plantean que el medio ambiente nocivo produce un aumento de las formas anormales de la cabeza, acrosoma, cuello y pieza intermedia, gota citoplasmática proximal y cola enrollada en espiral, señalándose un mayor porcentaje de anomalías en verano y otoño, asimismo, uno menor en invierno y primavera, de allí pues que este aumento de las anomalías por encima de los rangos normales establecidos para la especie, pueden interferir sobre la fertilidad de los verracos, reflejándose en una disminución de la eficiencia reproductiva de las hembras, de donde Gunalp *et al* (2001), Guzick *et al* (2001) y Menkveld *et al* (2001) señalan que la morfología es un buen parámetros predictor de la fertilidad. Ahora bien respecto al volumen podemos decir que los genotipos de mayor producción fueron (Large White, Landrace, CC<sub>21</sub>, L<sub>35</sub> y YorkShire) para ambas épocas, esto puede tener una influencia de la raza, teniendo en cuenta lo expresado por Artiga *et al* (2001) donde expresa que un aumento en la temperatura puede originar una reducción de la producción y de la calidad seminal, pero que el volumen del eyaculado usualmente no se ve afectado por el estrés térmico.

**Tabla 2:** Comparación entre meses para los diferentes parámetros estudiados

Genotipo	Volumen		Motilidad		Concentración		Morfología		CEV	
	Seca	Lluvia	Seca	Lluvia	Seca	Lluvia	Seca	Lluvia	Seca	Lluvia
LW	261 <sup>aa</sup>	258 <sup>aa</sup>	69 <sup>ab</sup>	53 <sup>bc</sup>	271 <sup>ac</sup>	222 <sup>bd</sup>	11,7 <sup>aa</sup>	19,3 <sup>bb</sup>	42947 <sup>aa</sup>	28605 <sup>ba</sup>
L <sub>35</sub>	163 <sup>ad</sup>	161 <sup>ac</sup>	69 <sup>ab</sup>	58 <sup>ba</sup>	325 <sup>aa</sup>	255 <sup>ba</sup>	12,8 <sup>ab</sup>	21,6 <sup>bc</sup>	31800 <sup>ab</sup>	18668 <sup>bc</sup>
YS	147 <sup>ac</sup>	143 <sup>ad</sup>	66 <sup>ac</sup>	59 <sup>ba</sup>	300 <sup>ab</sup>	243 <sup>bb</sup>	16,5 <sup>ad</sup>	23,9 <sup>bd</sup>	24303 <sup>ac</sup>	13996 <sup>bd</sup>
CC <sub>21</sub>	198 <sup>ac</sup>	177 <sup>bb</sup>	68 <sup>ab</sup>	55 <sup>bb</sup>	281 <sup>ac</sup>	233 <sup>bc</sup>	13,9 <sup>ac</sup>	17,6 <sup>ba</sup>	32537 <sup>ab</sup>	18599 <sup>bc</sup>
LD	217 <sup>ab</sup>	181 <sup>bb</sup>	74 <sup>aa</sup>	59 <sup>ba</sup>	318 <sup>aa</sup>	256 <sup>bba</sup>	13,1 <sup>ab</sup>	18,7 <sup>aab</sup>	44426 <sup>aa</sup>	25492 <sup>bb</sup>
X	197	184	69,2	57	299	241	13,6	20,22	35202	21072
DE	45,14	44	2,94	2,68	23,16	14,54	1,80	2,52	8404	5878

Letras diferentes difieren (**filas**) significativamente para ( $p < 0.001$ )

Letras diferentes difieren (**columnas**) significativamente para ( $p < 0.001$ )

CEV: Concentración espermática viable

X: Media aritmética

DE: Desviación Estándar

Al analizar el comportamiento entre genotipos para los diferentes parámetros espermáticos en estudio dentro de una misma época (**columna**), se puede observar un mejor comportamiento para los genotipos (Landrace, Large White,) al compararlos con el resto (L<sub>35</sub>, CC<sub>21</sub> y YorkShire), tomando la CEV como el parámetro de más abarcador en estas pruebas de

laboratorios, evidentemente porque este indicador al tener en cuenta los demás parámetros (un análisis más completo), nos dice cual de los genotipo en estudio es el que posee mayor población de espermatozoides con capacidad fertilizante (Zinaman et al 2000, Agabwal et al 2003, Haugen et al 2006), estos resultados coinciden con García *et al* (2001) quienes plantean que la producción y calidad espermática puede deberse a características propias de cada raza, debido a que no todas tienen el mismo potencial reproductor, debido a factores genéticos, como es el tamaño de los testículos y en el desarrollo del tejido testicular, además estos mismos autores señalan que las estimaciones de heredabilidad respecto al peso testicular de los 150 a los 154 días de edad varía entre 0,35 y 0,55, mientras que estas estimaciones respecto al esperma total y a la cantidad de esperma por gramo de tejido testicular varían de 0,30 a 0,40, de allí que estos dos aspectos presenten una alta heredabilidad entre individuos de una misma raza.

**Tabla 3.** Valores normales de volumen, concentración, motilidades y acrosomas descritas en la especie porcina

<b>Eyaculado</b>	<b>Volumen (ml)</b>	<b>Concentración(10<sup>6</sup> espz/ml)</b>	<b>Fuente</b>
Completo	218'8	540'37	Graham y cols., 1967
Completo	250(150-500)	100 (25-300)	Mann y Lutwak-Mann, 1981
Completo	348'5	476'25	Hammit y cols., 1989
Completo	223'42	224'74	Galli y cols., 1991
Completo	180	400-600	Xu y cols., 1996
	<b>Motilidad (%)</b>	<b>NAR (%)</b>	<b>Fuente</b>
	87-91	86-91	Pursel y cols., 1984
	74±4'9	90'1± 8'3	Strzezek y Skaweta, 1984
	81'4-82'5		Martínez y cols., 1986
Completo	78'5		Galli y cols., 1991
	70-90	95-98	Martínez y cols., 1992a
	83'68±0'91	94'24±0'37	Ivanova y Mollova, 1993
	66-81*	85-94	Martínez y cols., 1993
	80	96'2	Grant y cols., 1994
	76'06 ±0'95		Saiz y cols., 1994
	73-92'6	76-93'3	Waberski y cols., 1994a

Completo	85		Xu y cols., 1996
		$87'7 \pm 1'14$	Galli y Bosisio, 1988
		$87'1-91'2$	Bamba, 1988
	$73'26 \pm 0'87$	$91'15 \pm 0'68$	Gadea, 1997**

NAR: acrosomas normales

\* Motilidad progresiva

\*\* Fertilidad más de un 80%

## Bibliografía:

- Agabwal, A.; Rakesh, K.; Sharma, K.; Nelson, D. R. 2003: New semen quality scores developed by principal component analysis of semen characteristics. *Journal of Andrology* Vol **24** N 3
- Agabwal, A., Said, T. M. 2004: Sperm chromatin assessment. In. Textbook of Art, 2 edn, ch 7, pp 93-106. Eds DK Gardner, A Weissman, CM Howles & A Shoham. PLC, London, UK: Taylor and Francis Group.
- Artiga, C. G.; Casanova, B. Ll.; García, T. P. 2001: Manejo de verracos para su utilización en inseminación artificial *Porci Aula Veterinaria* **62** 45-54
- Chen, Z.; Coth, T.; Godfrey-Bayley, Linda.; Mercedat, N.; Schiff, I.; Hauser, R. 2003: Seasonal variation and age-related changes in human semen parameters. *Journal of Andrology* Vol 24 No 2
- Christensen, P.; Knudsen, D. B.; Wachmann, H.; Madsen, M. T. 2004: Quality control in boar semen production by use of the FACSCount AF system. *Theriogenology* **62** 1218-1228.
- Christensen, P.; Hansen, C.; Liboriussen, T.; Lehn-Jensen, H. 2005a: Implementation of flor cytometry for quality control in four Danish bull studs. *Animal Reproduction Science*. **85** 201- 208.
- Christensen, P.; Boelling, D.; Pedersen, K. M.; Korsgaard, I. R.; Jensen, J. 2005b: Relationship between sperm viability as determinet by flow cytometry and nonreturn rate of dairy bulls. *Journal of Andrology*. **26** 98-106.
- Colenbrander, B. 1993: Optimizing semen production for artificial insemination in swine. *Journal of Reproduction and Fertility. Supp* **48** 207-215.
- De Serrano, Gloria. L.; Fuentes, A.; Valle, A.; Regueiro, Carmen. 1989: Estudio de las anormalidades esperáticas de los verracos en relación con raza y época. *ZOOTECNIA TROPICAL*. Vol. **7**(1 y 2):93-117
- Den Daas, N. 1992: Laboratory assessment of semen characteristics. *Anim. Reprod. Sci.*, **28** 87-94.
- Gadea, J. M. 1997: Predicción de la fertilidad "in vivo" de los eyaculados de verraco mediante parámetros rutinarios de contrastación seminal, pruebas bioquímicas y el test homólogo de penetración "in vitro". Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Servicio de Publicaciones

- García, C. A; Lleó B. C; Pérez, T. G. (2001): Manejo de verracos para su utilización en inseminación artificial. *Porci aula veterinaria* N **62** pág. 45-54
- Gil, M. A.; Roca, J.; Cremades, T.; Hernández, M.; Vazquez, J. M.; Rodriguez-Martinez, H.; Martinez, E. A. 2005: Does multivariate analysis of post-thaw sperm characteristics accurately estimate *in vitro* fertility of boar individual ejaculates? *Theriogenology*. **64** 305-316.
- Guillan, L.; Evans, G.; Maxwell, W. M. 2005: Flow cytometric evaluation of sperm parameters in relation to fertility potential. *Theriogenology* **63** 445-457.
- Gunalp S, Onculoglu C, Gurgan T, Kruger TF, Lombard CJ. 2001: A study of semen parameters with emphasis on sperm morphology in a fertile population: an attempt to develop clinical thresholds. *Hum Reprod* **16**: 110 -114
- Guzick DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Brazil CK, Nakajima ST, Coutifaris C, Carson SA, Cisneros P, Steinkampf MP, Hill JA, Xu D, Vogel DL, National Cooperative Reproductive Medicine Network. 2001: Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *N Engl J Med* **345** 1388 -1393
- Hallap, T.; Jaakma, U.; Rodríguez-Martinez, H. 2006: Changes in semen quality in estonian holstein AI bulls at 3, 5 and 7 years of age. *Reproduction in Domestic Animals* **41** 214-218
- Haugen, T. B.; Egeland, T.; Øystein, M. 2006: *Semen Parameters in Norwegian Fertile Men*. *Journal of Andrology Vol. 27, No. 1*.
- Hernández, J. L.; Cruz, R; Martínez, Josefa; Díaz Namibia y Dianelys, González. 2005: Influencia de la motilidad del semen porcino puro sobre el semen conservado hasta las 72 horas en estado fresco refrigerado. *Revista Avípecuaria para Latinoamérica* . Agosto (Mexico) <http://www.cerdos-swine.com/agosto%>.
- Jorgensen, N.; Andersen, A. G.; Eustache, F.; Irvine, D. S.; Suominen, J.; Petersen, J. H.; Andersen, A. N.; Auger, J.; Cawood, E. H.; Horte, A.; Jensen, T. K.; Jouanner, P.; Keiding, N.; Vierula, M.; Toppari, J.; Skakkebaek, N. E. 2001: Regional differences in semen quality in Europe. *Hum Reprod* **16** 1012-1019.
- Le Dividich, J. 1996: Incidencia de las condiciones de alojamiento sobre las características de reproducción en porcino. *Anapoc* N. 154
- Lewis, S. E. M.; Aitken, R. J. 2005: DNA damage to spermatozoa has impacts on fertilization and pregnancy. *Cell and Tissue Research* **322** 33-41
- Menkveld R, Wong WY, Lombard CJ, Wetzels AM, Thomas CM, Merkus HM, Steegers-Theunissen RP. 2001: Semen parameters, including WHO and strict criteria morphology, in a fertile and subfertile population: an effort towards standardization of in-vivo thresholds. *Hum Reprod* **16** 1165 -1171
- Moya, A. 1998: En: Reproducción e inseminación artificial porcina. Capítulo 5. extracción del semen, evaluación y clasificación espermática de los reproductores pp 22-27. Publicación CIMA, MINAGRI. CUBA.



- Nallella, K. P.; Sharma, R. K.; Aziz, N.; Agarwal, A. 2006: Significance of sperm characteristics in the evaluation of male infertility. *Fertility and Sterility* **85** 629-634.
- Paulenz, H; Kommisrud, E and Hofmo, P.O. 2000: Effect of Long- Term Storage at Different Temperatures on the quality of Liquid Boar Semen. *Reprod Dom Anim*, **35** 83-87.
- Petrunkina, M. A.; Waberski, D.; Günzel-Apel, R. A.; Töpfer-Petersen, E. 2007: Determinants of sperm quality and fertility in domestic species. Review. *Reproduction* **134** 3-17
- Quintero-Moreno, A.; Rigau, T.; Rodriguez-Gil, J. E. 2004: Regression analyses and motile sperm subpopulation structure study as improving tools in boar semen quality analysis. *Theriogenology*. **61** 673-690.
- Sánchez, R. S. 2000: Métodos de aplicación de la dosis seminal en inseminación artificial de porcino. *Revista Albeitar* n°**40**. pág. 18-20
- SAS. 1995. SAS user's guide for Window environment 6.08 ed. Cary, SAS. Institute Inc.
- Sheena, L. E. M. 2007: Is sperm evaluation useful in predicting human fertility? *Reproduction* **134** 31-40
- Silva, P. F.; Gadella, B. M. 2006: Detection of damage in mammalian sperm cells. *Theriogenology* **65** 958-978.
- Swan, S. H.; Brazil, C.; Drobnis, E. Z.; Liu, F.; Kruse, R. I.; Hatch, M.; Redmon, J. B.; Wang, C.; Overstreet, J. W. 2003: Study for future families research group geographic differences in semen quality of fertile U. S. males. *Environ Health Perspect* **111** 414-420.
- Thompson, L. H. 2000: Managing swine reproduction. [http://www.ag.uiuc.edu/~vista/html\\_pubs/pigs/pigs.htm](http://www.ag.uiuc.edu/~vista/html_pubs/pigs/pigs.htm)
- Zinaman MJ, Brown CC, Selevan SG, Clegg ED. 2000: Semen quality and human fertility: a prospective study with healthy couples. *J Androl* **21** 145 -153