

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIA
ESCUELA DE CIENCIAS PECUARIAS

**INCLUSION DE ANTIBIÓTICO EN LA FÓRMULA DE DILUYENTE
CONVENCIONAL: EFECTO SOBRE LOS PARÁMETROS
SEMINALES EN CERDO**

CARLOS IVAN PEREZ BRAVO
C.I.P 6-723-250

PROFESOR ASESOR:
ING. RICHARD MUDARRA

II SEMESTRE
2024

**INCLUSIÓN DE ANTIBIÓTICO EN LA FÓRMULA DE DILUYENTE
CONVENCIONAL: EFECTO SOBRE LOS PARÁMETROS
SEMINALES EN CERDO**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN SOMETIDO PARA OPTAR POR EL
TITULO DE INGIENERIO AGRÓNAMO ZOOTECNISTA**

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS PECUARIAS

**PERMISO PARA SU PUBLICACIÓN, REPRODUCCIÓN TOTAL O
PARCIAL DEBE SER OBTENIDO EN LA FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS**

APROBADO:

PROF. ING. RICHARD MUDARRA M.Sc.

ASESOR

PROF. ING. ALEX SOLÍS Ph.D

MIEMBRO

PROF. Dr. REINALDO DE ARMAS Ph.D

MIEMBRO

**DAVID, CHIRIQUÍ
REPÚBLICA DE PANAMÁ**

2024

AGRADECIMIENTO

Ante todo, darle gracias a Dios por permitirme lograr una de mis metas anheladas, por siempre iluminarme el camino, brindándome sabiduría y guiarme ante las tormentas en mi caminar. Gracias al señor de los cielos.

Gracias, madre por ser la capitana de este barco, topamos muchas tormentas en nuestra travesía, pero nunca nos rendimos con tantas adversidades, supiste sacarme hacia adelante siempre me llevaste por el buen camino sobre todo dando lo mejor como madre.

Mis dos pilares importantes abuela Mirian y abuela Fredesbinda, no tengo palabras para expresar lo muy agradecido que estoy con ustedes. Gracias a mi padre.

Agradecido con mis dos amigos de infancia Oscar Castillo y Luis Enrique Pérez, gracias por esas palabras de aliento y poder contar con ustedes en los momentos más adversos que se le presentan a uno en la vida. *“Llevo en mi pecho el cariño de aquellos que siempre estuvieron conmigo, cuando la vida contra las cuerdas me tenía vencido, pero encontré fortaleza en las manos de algunos amigos, los que me quieren si soy millonario, o si no tengo un real en el bolsillo”.*

Al Ing. Jhonny De León y Wuanis Castro, gracias por mil.

A la Mamá de mi hijo Amarilys Villarreal, sumamente agradecido por tus gestos de apoyo, paciencia, consejos y sobre todo por estar en los momentos más complicado de esta hermosa travesía.

No más ni menos importante a mi asesor de tesis el profesor Richard Mudarra, gracias por confiar en mí, sobre todo en esta etapa estudiantil lo que es la tesis.

Gracias Ingeniero José Kaa y todo su equipo de trabajo del módulo de explotación porcina FCA, por apoyarme y siempre extendiendo esas manos amigas con los estudiantes. Licenciada Alexandra Samudio mil gracias por proporcionar ese grano de ayuda en la elaboración del diluyente para mi tesis.

A todas mis amistades de la FCA muchas gracias por su ayuda brindada.

DEDICATORIA

La presente tesis se la dedico a mi madre y mis dos abuelas. Sus bendiciones a lo largo de mi vida me protegen y me llevan por el camino del bien. Si embargo, les doy mi trabajo en ofrenda por su paciencia y por su amor brindado. Dedico esta tesis con todo el amor verdadero de un padre, a mi hijo Carlos Andrés Pérez Villarreal.

Carlos I. Pérez B.

RESUMEN

La dilución y conservación del semen porcino es fundamental en la industria porcina para maximizar la capacidad reproductiva del verraco mediante el uso de diluyentes que mantienen la viabilidad de los espermatozoides. El objetivo del presente trabajo fue determinar los parámetros seminales incluyendo antibiótico en el diluyente convencional BTS. Fue utilizado un semental de la raza Duroc (14 meses de edad; 420 Lb de eso vivo). Los tratamientos fueron: BTS) Diluyente convencional; BTS-A) Diluyente convencional más la adición de Florfenicol 200 mg/L. Se realizaron cuatro extracciones de semen con 4 días de intervalo de descanso entre colecta. El 50% del semen colectado en cada día de muestreo fue diluido en cada tratamiento obteniendo 12 muestras por tratamiento. El semen fue analizado al momento de la colecta, posterior a la dilución y cada 24 horas por cinco días consecutivos. Se analizó las variables seminales como motilidad individual (MI), porcentaje de espermatozoides vivos (PEV) y potencial de hidrógeno (pH). Hubo diferencia significativa entre tratamientos para la MI, con un mayor porcentaje en el semen con diluyente BTS ($p < 0.05$), sin embargo, no se encontró diferencias significativas entre tratamientos para el PEV y el pH ($p > 0.05$) entre tratamientos. Hubo diferencia significativa entre los días de evaluación en cuanto a la MI y PEV ($p < 0.05$) en ambos tratamientos, con una MI más baja en el tratamiento con antibiótico. Adicionalmente, no hubo diferencia significativa en el pH de los dos tratamientos ($p > 0.05$). En conclusión, la inclusión de Florfenicol en el diluyente convencional BTS no mostró cambios positivos en las variables seminales analizadas.

Palabras claves: semen, diluyente, antibiótico, motilidad individual.

ABSTRACT

The dilution and preservation of boar semen is essential in the swine industry to maximize the reproductive capacity of the boar by using extenders that maintain sperm viability. The objective of this research was to determine the seminal parameters including antibiotics in the conventional extender BTS. A Duroc breed (14 months old; 420 Lb of live sperm) was used in this study. The treatments were: BTS) Conventional extender; BTS-A) Conventional extender plus the addition of Florfenicol 200 mg/L. Four semen extractions were performed with a 4-day rest interval between collection. 50% of the semen collected on each sampling day was diluted in each treatment obtaining 12 samples per treatment. The semen was analyzed at the time of collection, after dilution and every 24 hours for seven consecutive days. The seminal variables such as individual motility (IM), percentage of live sperm (PEV) and hydrogen potential (pH) were analyzed. There was a significant difference between treatments for IM, with a higher percentage in semen with BTS extender ($p < 0.05$), however no significant differences were found between treatments for PEV and pH ($p > 0.05$) between treatments. There was a significant difference between the evaluation days regarding IM and PEV ($p < 0.05$) in both treatments, with a lower IM in the treatment with antibiotic. Additionally, there was no significant difference in the pH of the two treatments ($p > 0.05$). In conclusion, the inclusion of Florfenicol in the conventional extender BTS did not show positive changes in the seminal variables analyzed.

Keywords: semen, extender, antibiotic, individual motility.

ÍNDICE GENERAL	
AGRADECIMIENTO	iv
DEDICATORIA	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
INTRODUCCIÓN	1
I. MARCO TEORICO	2
1.1. Importancia de la inseminación artificial	2
1.2. Ventajas de la inseminación artificial	2
1.3. Desventaja de la inseminación artificial	2
1.4. Manejo reproductivo del verraco	2
1.4.1. Eyaculado y sus fracciones	2
1.4.2. Fracción pre espermática	2
1.4.3. Fracción espermática o rica en espermatozoides	3
1.4.4. Fracción post espermática o pobre en espermatozoides	3
1.5. Evaluación seminal	3
1.5.1. Color	3
1.5.2. Volumen	3
1.5.3. pH	3
1.5.4. Motilidad individual	4
1.5.5. Concentración espermática	4
1.5.6. Aglutinación espermática	4
1.5.7. Posibles causas de la aglutinación	4
1.5.8. Métodos para reducir la aglutinación	5
1.6. Determinación de la vitalidad espermática	5
1.7. Tinción vital	5
1.8. Factores que influyen sobre la calidad seminal	6
1.9. Contaminación bacteriana en el eyaculado	6
1.10. Diluyentes	6
1.11. Características y composición de los diluyentes	7
1.12. Requisitos de un diluyente	8

1.13. Tipos de diluyentes.....	8
1.14. Diluyentes de corto plazo	8
1.15. Diluyentes de largo plazo.....	9
1.16. Componentes químicos de un diluyente	10
1.16.1 Amortiguadores.....	10
1.16.2. Electrolitos.....	10
1.16.3. Fuentes de energía	10
1.16.4. Estabilizadores de membrana	10
1.17. Antibióticos.....	11
1.18. Conservación del semen.....	12
1.19. Consecuencias de la contaminación bacteriana en el semen porcino	12
<u>II.</u> MARCO METDOLÓGICO	14
<u>III.</u> RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
<u>IV.</u> CONCLUSIONES	22
<u>V.</u> RECOMENDACIONES.....	23
<u>VI.</u> BIBLIOGRAFÍA	24
<u>VII.</u> ANEXOS	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de la motilidad espermática.....	4
Tabla 2. Diluyentes agrupados de acuerdo con el tiempo de conservación del semen porcino.....	9
Tabla 3. Tipo de componente, función y sustancias empleadas en la formulación de diluyentes para semen porcino.....	11
Tabla 4. Composición del diluyente convencional BTS.....	15
Tabla 5. Media \pm Error Estándar de los eyaculados.....	17
Tabla 6. Efecto del diluyente sobre las variables seminales (Media \pm Error estándar).	17
Tabla 7. Efectos del diluyente sobre las variables seminales en los diferentes días de evaluación (Media \pm Error Estandar).....	19

ÍNDICE DE ANEXOS

Figura 1. Diagrama del efecto bacteriano sobre la vida útil del semen refrigerado.	13
Figura 2. Verraco de la raza Duroc	32
Figura 3. Antibiótico usado en la fase experimental	32
Figura 4. Recolección y pesado del semen.....	32
Figura 5. Cámara de Bürker	33
Figura 6. Dosis preparadas	33
Figura 7. Tinción de eosina y nigrosina	34

INTRODUCCIÓN

La dilución y conservación del semen porcino es una práctica que brinda a la industria porcina la posibilidad de aprovechar al máximo la capacidad reproductiva del verraco, a través de la utilización de los diluyentes. Los mismos, proporcionan los nutrientes necesarios para el mantenimiento metabólico de la célula espermática (Cuenca y Avellaneda, 2017).

El uso de protocolos de dilución de semen permite ofrecer dosis seminales viables para su posterior uso en la inseminación artificial (IA) (Rugeles *et al.*, 2013). La elección del diluyente debe realizarse con el objetivo de optimizar los resultados de fertilidad y prolificidad en las condiciones particulares de cada explotación porcina, ya que tiene repercusión sobre el rendimiento económico de la explotación (Gadea, 2003). Existen varios tipos de diluyentes comerciales, los cuales han evidenciado proteger y mantener la célula espermática funcional. Sin embargo, su costo es el principal inconveniente en su utilización (Farías y Intriago, 2017).

La contaminación bacteriana del semen ocurre habitualmente durante la colecta del semen, durante la preparación del diluyente, y a lo largo del proceso de dilución del semen (Bennemann *et al.*, 2018). En la práctica, la contaminación bacteriana del semen se asocia con una reducción de la capacidad fecundante del espermatozoide, por pérdida de motilidad, así como reducción en la fecundidad y muerte de embriones (Conza, 2002). La proliferación de estos agentes contaminantes se debe a que los diluyentes además de permitir la supervivencia de los espermatozoides permiten la multiplicación de patógenos ya que portan las condiciones óptimas para ello (Polo, 2020).

Con base a lo mencionado anteriormente, se justifica la realización de un estudio donde se evalúa una fórmula de diluyente convencionalmente económicamente accesibles a productores, teniendo como objetivo principal la evaluar la inclusión de un antibiótico y determinar su efecto sobre la vitalidad espermática del semen.

I. MARCO TEORICO

1.1. Importancia de la inseminación artificial

El uso de la inseminación artificial (IA) se ha incrementado en los últimos años debido a que produce resultados de fertilidad y prolificidad similares e incluso superiores a la monta natural. También, permite un mayor control sanitario, una rápida difusión del proceso genético, una optimización del manejo reproductivo y una disminución de los costos económicos de la explotación (Herrera, 2022).

1.2. Ventajas de la inseminación artificial

Las ventajas zootécnicas son determinadas por la disminución de animales e instalaciones, la difusión rápida del progreso genético, y la utilización de sementales de mayor valor genético (Espíndola, 2020).

Según Cedeño y Pinargote (2021), las normas de bioseguridad y control de enfermedades tienen un impacto en la producción porcina, la cual busca minimizar las enfermedades de transmisión sexual por monta natural.

1.3. Desventaja de la inseminación artificial

Es indispensable una adecuada detección del celo para establecer el momento óptimo de la inseminación. Adicionalmente, los costos para el montaje de laboratorio son relativamente costosos (Franco, 2010).

1.4. Manejo reproductivo del verraco

1.4.1. Eyaculado y sus fracciones

Salazar (2014) indica que la eyaculación en todas las especies constituye la expulsión forzada de semen, el cual está dado por un reflejo por el que se contraen y vacían el epidídimo, la uretra y las glándulas sexuales accesorias del macho.

1.4.2. Fracción pre espermática

Lo componen secreciones provenientes de la próstata, vesículas seminales y glándulas de Cowper. El volumen resultante de estas combinaciones es de 10 ml aproximadamente y no hay presencia de espermatozoides, se encuentran constituido principalmente por grumos gelatinosos provenientes de las glándulas de Cowper (Rugel, 2021).

1.4.3. Fracción espermática o rica en espermatozoides

También se le conoce como fracción rica en espermatozoides, el cual es de color blanco lechoso. La misma está constituida de espermatozoides y secreciones de la vesícula seminal y próstata, con un volumen promedio de 100 ml o más (Castro y Giler, 2016).

1.4.4. Fracción post espermática o pobre en espermatozoides

Está constituida por secreciones de las glándulas accesorias del aparato reproductor del verraco y con escasos espermatozoides, es de color blanquecino transparente, con grumos gelatinosos a lo largo de su emisión, con un volumen aproximado de 200ml (Coronel, 2012).

1.5. Evaluación seminal

La evaluación del semen tiene gran importancia para diagnosticar si los espermatozoides, cualitativa y cuantitativamente, están con total capacidad fecundante o por el contrario no se lo debe utilizar (Conza, 2019).

1.5.1. Color

El color normal del semen porcino es blanco lechoso, aunque puede presentar otras tonalidades como son resultados de la incidencia de alguna patología (Rodríguez, 2005).

1.5.2. Volumen

La medición de este parámetro permite registrar la producción de semen del verraco. Su valor se utiliza para calcular la concentración espermática en el eyaculado y para determinar el número de dosis a preparar para I.A. El volumen del eyaculado se expresa en mililitros (ml), y su lectura se hace por medio de un tubo recolector graduado. Normalmente dicho valor, para el eyaculado de cerdos, es de aproximadamente 50 – 500 ml (García, 2020).

1.5.3. pH

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 $7,69 \pm 0,33$ (Frunza, 2008).

1.5.4. Motilidad individual

La evaluación de este parámetro determina la proporción de espermatozoides móviles y de movimiento progresivo. La movilidad individual es una de las características más indicadoras de la capacidad fecundante se relaciona con la fertilidad en porcinos (Alcivar, 2023). La motilidad deseada es de 70 a 80 % siempre se estima que en cualquier eyaculado un 20% de espermatozoides estén muertos o anormales, por lo que la motilidad máxima debe de ser del 80% (Sánchez, 2020).

Tabla 1. Clasificación de la motilidad espermática.

Motilidad	Excelente	Buena	Regular	Mala
Masal	+++	++	+	-
Individual	≥ 70%	50-70%	30-50%	≤ 30%

Fuente: (García, 2020).

1.5.5. Concentración espermática

La concentración espermática expresa el número de espermatozoides por centímetro cúbico. El eyaculado del verraco se caracteriza por tener bajo concentración que excepcionalmente no pasa de los 500, 000 espermatozoides / mm³ de semen. Esta característica es indicadora de una buena capacidad productora de gametos en los túbulos seminíferos y aunque no está relacionado con la fertilidad, esto afecta la tasa de dilución seminal y el número de dosis procesables de un eyaculado (Alcivar; 2023).

1.5.6. Aglutinación espermática

Aglutinación espermática es cuando un espermatozoide amarra a otro cabeza con cabeza o cola con cola. Se sabe que los cationes bivalentes y trivalentes en el plasma seminal induce a la aglutinación espermática (Bustios, 2012).

1.5.7. Posibles causas de la aglutinación

Mala calidad espermática (espermatozoides muertos o con baja vitalidad), contaminación bacteriana del eyaculado, presencia de gran cantidad de células epiteliales o descamaciones y cambios en el pH del plasma seminal, generalmente

asociados a procesos inflamatorios o disfunciones que afectan a las glándulas accesorias del verraco (Córdova *et al.* 2015).

1.5.8. Métodos para reducir la aglutinación

- Temperatura: Mantenimiento de la temperatura del eyaculado. Recogida con termo atemperado a 37-38°C. Realizar la dilución completa lo antes posible. Evitar cambios de temperatura durante el procesado de semen y durante la conservación de las dosis.
- Aumentar el filtrado del eyaculado durante la recogida utilizando doble gasa estéril.
- Es fundamental el uso de diluyente de alta calidad. Evita cambios en el pH gracias a la presencia de buffers específicos en su composición, manteniendo la osmolaridad constante a lo largo de la conservación del semen.
- Cuidar al máximo el estado general de los verracos: condiciones ambientales, sanitarias y de manejo adecuadas.
- Tratamientos con vitamina C, previene la aglutinación espermática mediante la activación de la antiaglutinina.
- Evitar la contaminación bacteriana del semen durante la recogida del eyaculado y a lo largo de todo el procesamiento del semen (Bustios, 2012).

1.6. Determinación de la vitalidad espermática

Esta característica mide el número de espermatozoides vivos y se expresa como el porcentaje de células muertas. Para medir la vitalidad de una muestra de semen, se utilizan diversas tinciones vitales, tales como el colorante eosina-nigrosina (García, 2020).

1.7. Tinción vital

Tinción Eosina-Nigrosina también conocida como un examen de vitalidad o de Williams Pollack es una tinción supra vital, muy utilizada en el laboratorio clínico dentro del espermatograma para determinar espermatozoides vivos y muertos, debido que en los espermatozoides muertos poseen gran permeabilidad de la membrana, permitiendo teñir su estructura de un color Rojo / Rosado distinguiéndose cabeza y cola del espermatozoide (Mallma, 2019).

1.8. Factores que influyen sobre la calidad seminal

El estrés térmico es la primera causa de variación de la calidad del semen, en particular en zonas con clima continental, donde las variaciones térmicas pueden ser importantes. Una amplitud de 10°C junto a una temperatura ambiental máxima por encima de los 27°C tendrá repercusiones sobre la calidad del semen. También deben tenerse en cuenta en la raza y la edad. No todas las razas ostentan similares manifestaciones de libido ni análogos niveles cuali-cuantitativos de producción seminal. A veces, algún problema físico inherente a la raza es capaz de afectar la recolección de semen, como en los verracos de raza Pietran, cuya conformación muscular puede limitar el salto sobre el potro, sobre todo al envejecer. Otros factores que inciden negativamente son los ritmos de recolección, demasiado frecuente, el tipo de alimentación, la aparición de patologías y otros factores sobre los cuales aún no se conocen debidamente sus efectos, como el fotoperiodo (ritmo nictameral), aconsejándose lapsos de 12-14 horas de luz natural, de ser necesario completados con luz artificial (Córdova et al., 2015)

1.9. Contaminación bacteriana en el eyaculado

Según Groehs (2017) el proceso de recolección de semen porcino no es un procedimiento estéril. Recientemente, se ha demostrado que asegurar la falta de contacto entre el semen y el líquido prepucial que fluye a través del guante es el procedimiento más importante para obtener eyaculados con baja contaminación bacteriana.

Moreira et al. (2013) afirman que la recolección de semen es un proceso que presenta frecuentemente contaminación bacteriana, principalmente por bacterias Gram negativas de la familia Enterobacteriace.

1.10. Diluyentes

El semen de verraco se ha recolectado y diluido en forma líquida (fresco) para la IA comercial durante más de 40 años. Los primeros extensores eran simples y servían para extender el volumen, mantener el pH, proporcionar equilibrio osmótico y servir como estabilizador de membrana. Hasta 1990, los diluyentes pudieron mantener la fertilidad in vitro durante 3 días antes de que se observaran disminuciones significativas. La extensión de la vida fértil más allá de los 3 días fue

un obstáculo importante hasta que se informó la adición de albúmina sérica bovina (BSA) al diluyente (Knox, 2016).

El diluyente es la solución acuosa que permite aumentar el volumen del eyaculado hasta conseguir la dosis necesaria, preservar las características funcionales de las células espermáticas y mantener el nivel de fertilidad adecuado del semen. El semen se diluye con el objeto de aprovechar al máximo los espermatozoides contenidos en un eyaculado (Julca, 2014).

Para poder conservar los espermatozoides durante periodos prolongados es necesario que se reduzca la actividad metabólica de las células espermáticas mediante la dilución en un medio adecuado y reducción de la temperatura (Cuenca y Avellaneda, 2017).

Hidalgo (2013) postula que el diluyente es uno de los factores que influye en la tolerancia del espermatozoide a la conservación a bajas temperaturas. El alto contenido de glucosa presente en la mayoría de los diluyentes de cerdo provoca una disminución del pH intracelular por debajo de 6,0. Esta acidosis permite la supervivencia de los espermatozoides durante varios días a temperatura ambiente.

Algunos factores a tener en cuenta a la hora de elegir un diluyente son la relación entre su precio y calidad, la época del año, el momento de los envíos de semen y el tiempo transcurrido entre la producción y la inseminación (Rueda *et al.*, 2009).

El diluyente no es capaz de prevenir totalmente los cambios que acontecen en el espermatozoide y que afectan a su funcionalidad. Así, el semen diluido refrigerado y conservado varios días muestra cambios morfofuncionales similares a los del proceso de envejecimiento natural y la intensidad de este proceso puede estar influenciada por las condiciones y el periodo de conservación (Bermúdez, 2023).

1.11. Características y composición de los diluyentes

Los diluyentes para crio preservar el semen porcino contienen citrato de sodio, bicarbonato de sodio, tris-hidroximetil aminometano (TRIS); ácido 2-N-morfolino etanosulfónico (MOPSn) y el ácido N-2hidroxietilpiperazina-N-2-etanosulfónico (HEPES) las cuales son sustancias amortiguadoras o búfer que

permiten controlar el pH y mantenerlo entre 6.4 a 6.8. Estos compuestos pueden combinarse y titularse en rangos más amplios de pH y osmolaridad y son relativamente inocuos para los espermatozoides (Guachún, 2017).

1.12. Requisitos de un diluyente

Algunos de los beneficios que los diluyentes ofrecen son: ofrece nutriente como fuente de energía, protege a las células espermáticas del shock térmico, proporciona un amortiguador para prevenir los cambios dañinos en el pH, mantiene la presión osmótica adecuada y el equilibrio electrolítico, inhibe el crecimiento bacteriano, aumenta el volumen del semen para múltiples inseminaciones, y protege las células espermáticas durante la conservación y proporcionar la capacidad tampón contra productos metabólicos (Montenegro y Chimarro 2013).

1.13. Tipos de diluyentes

A nivel práctico, de acuerdo con las condiciones de producción, los diluyentes se clasifican en dos grandes grupos, los que tienen como objetivo la conservación del semen a corto plazo (1-3 días) o aquellos que tienen como objetivo la conservación del semen por más de 4 días considerados como diluyentes a largo plazo. A nivel de mercado los diluyentes se clasifican por su composición, pudiendo ser de corto, mediano o largo plazo de conservación. Las fuentes de energía y los electrolitos que se añaden a ellos son muy generales, por ello lo que marca la diferencia al momento de obtener un diluyente, son los sistemas tampón y los compuestos que se añaden para estabilizar las membranas de células espermáticas (Caiza, 2022).

1.14. Diluyentes de corto plazo

Salazar (2014) indica que se utilizan principalmente en donde la distribución de las dosis seminales es corta distancia, este tipo de diluyente dura de 1-3 días. Una de las principales ventajas: una de las principales ventajas es bajo costo en su preparación y se obtienen resultados reproductivos similares, se utiliza una concentración espermática baja con relación a la monta natural, permitiendo con esto realizar más inseminaciones con una sola recolección. Una de las desventajas es la corta duración de la viabilidad espermática.

1.15. Diluyentes de largo plazo

Gadea (2003) menciona que se utilizan donde el sitio de producción de semen está a una gran distancia del sitio de inseminación. Dentro de las ventajas se tiene la capacidad de poderse transportar a larga distancia, realizar pruebas de diagnóstico en el semen antes de su uso, evaluar la presencia de varios virus o un análisis completo de la calidad del semen. Estas ventajas dan cabida a la implementación de mejoras a la organización de tareas en los centros de recogida de semen y en gran medida este tipo de diluyente ayuda a distribuir las muestras de semen a las granjas de reproducción.

La elección del diluyente se realiza dependiendo del tiempo de conservación de las muestras seminales. Así para menos de 3 días, de acuerdo con lo dicho anteriormente, no se observan diferencia en la calidad seminal ni en la fertilidad resultante entre diluyentes de corta y larga duración, por lo que se puede optar por un diluyente de corta duración (tipo BTS o Kiev) con unos costes menores y unos resultados, como hemos mencionado con anterioridad, equivalente a los de los diluyentes de larga duración. Para más de 4 días se deben utilizar diluyentes de larga duración, si bien conviene aumentar la concentración de espermatozoide en la dosis seminal para compensar las pérdidas por envejecimiento de los espermatozoides (Hidalgo, 2013).

Tabla 2. Diluyentes agrupados de acuerdo con el tiempo de conservación del semen porcino.

Corta duración (1-3 días)	Larga duración (más de 4 días)
Beltsville Lliquid (BL-1)	Acromax ®
Beltsville Thawing Solution (BTS)	Androhep ®
Illinois Variable Temperature (IVT)	Modena MULBERRY III ®
Kiev	Reading
	X-Cell ®

	Zorlesco
	ZORPVA

Fuente: Cuenca y Avellaneada (2017).

1.16. Componentes químicos de un diluyente

1.16.1 Amortiguadores

Con bases en citrato de sodio y bicarbonato de sodio. Estos compuestos permiten combinarse con los otros elementos neutralizando el pH de estos siendo inocuos para los espermatozoides (Sanchez, 2020).

1.16.2. Electrolitos

Se utilizan para regular la presión osmótica, el espermatozoide porcino presenta una presión osmótica de 290-300 mOsm y es capaz de tolerar presiones de 240-380 mOsm. Varios estudios han concluido que ni la motilidad ni la viabilidad espermática se ven afectadas por la presión osmótica en rangos comprendidos entre 250 y 290 mOms, mientras que cuando se reduce por debajo de 200 mOsm se detecta una reducción significativa de la motilidad. Los diluyentes isotónicos (300 mOsm) o ligeramente hipertónicos son los que mejores resultados han dado, utilizándose principalmente sales de iones inorgánicos como el cloruro de sodio y el cloruro de potasio (González, 2006).

1.16.3. Fuentes de energía

Glucosa, para proporcionar energía, y por su valor energético es la más utilizada, aunque también se puede emplear galactosa, fructosa, ribosa o trehalosa sin que los resultados hayan superado a la glucosa (Cuenca y Avellaneda, 2017).

1.16.4. Estabilizadores de membrana

Se adicionan con el fin de provenir o retardar alteraciones no deseadas en la estructura y la función de las membranas de los espermatozoides. Las principales sustancias utilizadas son seroalbúmina bovina (BSA), hidroxitolueno butilado (BTH), etilén disódico diamino tetraacetico (EDTA), polivinil pirrolidona (PVP-40) y alcohol polivinico (González, 2006).

Tabla 3. Tipo de componente, función y sustancias empleadas en la formulación de diluyentes para semen porcino.

Componente	Función	Sustancias empleadas
Nutrientes	Fuente de energía	Glucosa, galactosa, ribosa
Agentes taponadores	Control de pH	Bicarbonato, citrato sódico TES, TRIS, MOPS
Sales	Control de presión osmótica	Cloruro sódico, cloruro potásico
Quelantes de calcio	Capturan calcio	EDTA

Fuente: Montenegro y Chamarro (2013).

1.17. Antibióticos

El eyaculado se contamina durante la recolección de semen por la microbiota del tracto reproductivo y del medio ambiente. Dado que el semen generalmente se almacena durante varios días antes de la IA en un medio rico en nutrientes para mantener la supervivencia de los espermatozoides, las bacterias pueden multiplicarse incluso a la temperatura de almacenamiento normal del semen de cerdo (15-17°C). Se agregan antibióticos para prevenir el deterioro inducido por bacterias en la calidad de los espermatozoides (porque compiten con los espermatozoides por nutrientes y producen subproductos metabólicos tóxicos) y la posibilidad de causar enfermedades en las hembras inseminadas (Sorarrain, 2020).

Rodríguez (2020) indica que es para impedir un crecimiento exacerbado de microorganismos en el semen refrigerado, el diluyente debe contener uno o varios antibióticos, ya que por mucho cuidado que se tenga, durante el proceso de recolección del semen siempre ocurre la contaminación de las dosis seminales con microorganismos de todo tipo, sumado a temperaturas de 16 a 17 °C crean un ambiente propicio para el crecimiento de los mismos, en su mayoría bacterias gram negativas (E. coli, Salmonella sp. y/o Pseudomonas sp.)

1.18. Conservación del semen

La conservación del semen refrigerado depende principalmente del diluyente, ya que contribuye a preservar las características funcionales de las células espermáticas manteniendo el nivel de fertilidad del eyaculado. El semen refrigerado se puede conservar entre 15°C y 18°C. Estas temperaturas son las más utilizadas tanto en los centros de inseminación artificial como en las explotaciones porcinas. Además, el uso de BTS permite mantener viable el material espermático a 17°C durante unos 5 días, con un porcentaje de preñez en muchos casos superior al 80% (Cuenca y Avellaneda, 2017).

1.19. Consecuencias de la contaminación bacteriana en el semen porcino

Según Goldberg *et al.* (2017) el grado de contaminación bacteriana en los eyaculados influye directamente en los parámetros de calidad del esperma durante la conservación en frío (Figura 1).

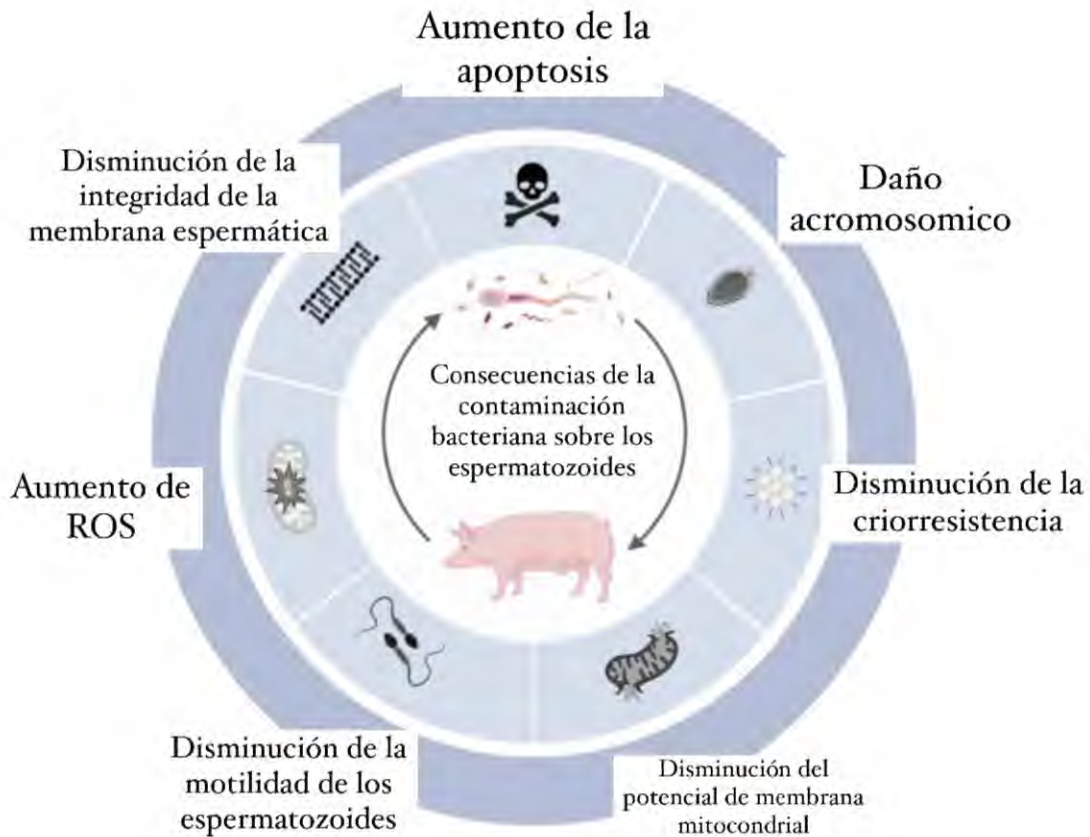


Figura 1. Diagrama del efecto bacteriano sobre la vida útil del semen refrigerado.

La presencia de bacterias en el semen del verraco tiene consecuencias significativas sobre los parámetros de calidad y funcionalidad de los espermatozoides: daño al acrosoma, disminución del potencial de membrana mitocondrial, criorresistencia, motilidad de los espermatozoides e integridad de la membrana de los espermatozoides, y aumento de ROS y apoptosis. ROS: Especies reactivas de oxígeno (Goldberg et al. 2017).

II. MARCO METDOLÓGICO

La fase experimental se llevó a cabo en una instalación convencional abierta, ubicada en el Centro de Investigación Agropecuaria de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, en el corregimiento de Chiriquí, Panamá; localizado a 8°23'15.12" latitud norte y 82°19'47.48" longitud oeste, y con una elevación de 26msnm. Se utilizó un cerdo adulto de la raza Duroc con una edad de 1 año y 3 meses un peso promedio de 420 Lbs. Se realizaron 4 colectas de semen con un intervalo de 4 días de descanso entre cada colecta. La extracción de semen se realizó en horas de la mañana (8:00-9:00 a.m.). Los tratamientos fueron. BTS) Diluyente convencional; BTS-A) Diluyente convencional más la adición de Florfenicol 200 mg/L.

La porción espermática y post espermática del eyaculado fue colectado en una bolsa con filtro, y el mismo fue colocado en un baño maría con temperatura de 38°C para su posterior análisis. Adicionalmente, los diluyentes fueron preparados y colocados en un baño maría a 38°C, buscando obtener la misma temperatura del semen como para el diluyente.

La motilidad individual fue evaluada subjetivamente donde se colocó 10 µl de semen sobre un portaobjeto atemperado a 37°C y se evaluaron los movimientos individuales a un aumento de 40x, según la metodología de Ávalos et al. (2018). La concentración espermática fue determinada mediante la cámara de burker (Silva, 2017). El porcentaje de vivos y muertos fue evaluado mediante la metodología de Kondracki et al. (2017) haciendo uso de una tinción basada en eosina y nigrosina. Se realizó una dilución 1:100 de semen y formaldehido para determinar el porcentaje de patologías espermáticas. Se colocó 10 µl de semen sobre un portaobjeto y se enfocó en un microscopio con un aumento de 40x. Se realizó un conteo de 200 células y se clasificarán en células espermáticas con estructura morfológica correcta y células con anomalías morfológicas según lo establecido por Veloz (2017).

Luego de la evaluación seminal inicial, el semen fue diluido a 3 billones de espermatozoides/ml como dosis final, manteniendo así la misma concentración espermática en todos los tratamientos. Se obtuvieron doce dosis seminales de 100

ml por cada tratamiento. El semen diluido se mantuvo a temperatura ambiente por 2 horas para posteriormente colocarlos en una nevera refrigerada a una temperatura ajustada a 16°C.

Evaluaciones de motilidad individual, y el porcentaje de vivos fueron evaluados luego de la dilución, dos horas post dilución, y cada 24 horas post refrigeración durante 5 días. Adicionalmente, se determinó el pH del semen mediante el uso de medidor de pH digital.

Los datos se ingresaron en una hoja de cálculo de Microsoft Excel® 2021 para su procesamiento. Los datos fueron sometidos a evaluación de los supuestos utilizando la prueba de Shapiro-Wilk's, para valorar normalidad. Se utilizó un diseño completamente al azar donde, estadísticamente, valores de P <0.05 fueron considerados como diferencias, mientras que valores de P <0.10 como una tendencia a diferir.

Tabla 4. Composición del diluyente convencional BTS

Reactivos	(g L⁻¹)
C₆H₁₂O₆	37
Na₃C₆H₅O₇	6.0
EDTA	1.25
NaHCO₃	1.25
KCl	0.75

C₆H₁₂O₆: Glucosa; Na₃C₆H₅O₇: Citrato de sodio; EDTA: Ácido Etilendiaminotetraacético; NaHCO₃: Bicarbonato de Sodio; KCl: Cloruro de potasio.

El diluyente convencional BTS se realizó pesando los diferentes reactivos en un vaso químico sobre una balanza según el orden presentado en la (Tabla 1). Posterior a su pesaje se empieza a mezclar con la ayuda de un agitador magnético, agregándole agua destilada. Al estar lo suficientemente diluida la solución, se pasa a un matraz aforado de 2 litros, así sucesivamente hasta que el soluto se haya diluido perfectamente con el solvente. Después de depositada la solución en el matraz aforado, se mezcla agitándolo manualmente hasta ver que se haya homogenizado en su totalidad. Posterior a su dilución, se almacena en un envase o

recipiente lo más hermético posible, para luego ser almacenado y refrigerado en frío (16°C).

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla No. 5 muestra los datos descriptivos promedios de las variables seminales evaluadas en el semental utilizado. Podemos observar que los valores de volumen de eyaculado, concentración espermática, pH, porcentaje de espermatozoides vivos y porcentaje de patologías en el semen recién colectado están dentro de los rangos establecidos como ideal para su respectiva dilución y posterior utilización para inseminación artificial (Oliva, 2004; Córdoba, 2015; del Valle, 2017;).

Tabla 5. Media \pm Error Estándar de los eyaculados.

Vol (mL) eyaculado	Conc, x10⁶/mL	pH	PEA	PEV
219.13 \pm 34.92	465 \pm 40.52	7.49 \pm 0.10	17.58 \pm 1.40	86.05 \pm 3.19

Vol: Volumen; Conc: Concentración; PEA: Porcentaje de espermatozoides anormales; PEV: Porcentaje de espermatozoides vivos.

Hubo diferencia significativa entre tratamientos para la motilidad individual espermática, con un mayor porcentaje en el semen en el diluyente BTS ($p < 0.05$). Contrariamente, no se encontró diferencias significativas entre tratamientos para el porcentaje de espermatozoides vivos y el pH ($p > 0.05$; tabla 6).

Tabla 6. Efecto del diluyente sobre las variables seminales (Media \pm Error estándar).

VARIABLES	Tratamientos		
	BTS	BTS-A	p-Trt
MI	77.13 \pm 1.56	72.73 \pm 1.97	<.0001
PEV	71.21 \pm 1.75	73.33 \pm 1.27	0.19
pH	7.64 \pm 0.04	7.65 \pm 0.04	0.85

BTS: Tratamiento de control; BTS-A: Tratamiento con antibiótico; MI: Motilidad individual; PEV: Porcentaje de espermatozoides vivos.

Los antibióticos son de gran importancia en los diluyentes de semen para asegurar una larga vida útil de los espermatozoides y para reducir la transmisión de patógenos en el tracto reproductivo de la hembra. Sin embargo, los antimicrobianos pueden tener un efecto perjudicial sobre la supervivencia de los espermatozoides, limitando así la elección de agentes que pueden añadirse a los diluyentes del semen (Polo, 2020). Desafortunadamente, aunque las combinaciones de antibióticos pueden reducir la toxicidad del esperma, en realidad pueden contribuir más a la resistencia a los antibióticos que los agentes únicos (Morrell, 2016). Los agentes antimicrobianos son imprescindibles en el control del crecimiento bacteriano de los eyaculados porcinos. Actualmente el problema principal se establece por las resistencias que los antibióticos convencionales están generando, ya que las bacterias desarrollan mecanismos diferentes para los que dichos antibióticos no están preparados (Gómez, 2018).

Según Althouse y Lu (2005) cargas bacterianas altas en los eyaculados generan daños en el acrosoma y reducción de la vida útil de las células seminales. Adicionalmente, el estudio realizado por Moreta (2023) afirma en su investigación que el semen diluido con antibiótico o sin antibiótico no controló en su totalidad los microorganismos y bacterias; sin embargo, la presencia de bacterias en el semen diluido ocasionó efectos negativos en los espermatozoides. Nuestros resultados coinciden con lo reportado por Moreta (2023) donde la inclusión de antibiótico en la dosis seminal redujo el porcentaje de motilidad individual, por lo cual Jasko *et al.* (1993) indica que se desconocen los mecanismos como los antibióticos pueden tener efectos adversos a la motilidad individual, por otra parte, el uso de antibióticos de origen sintéticos se ven involucrados con los efectos tóxicos relacionados con las dosis a utilizar.

Adicionalmente, Hubo diferencia significativa entre los días de evaluación en cuanto a la motilidad individual y porcentaje de espermatozoides vivos ($p < 0.05$) en ambos tratamientos, con una motilidad individual más baja en el tratamiento con antibiótico. Adicionalmente, no hubo diferencia significativa en el pH de los dos tratamientos ($p > 0.05$).

Tabla 7. Efectos del diluyente sobre las variables seminales en los diferentes días de evaluación (Media±Error Estandar).

Variables	Días					P. value	
	1	2	3	4	5		
BTS	MI	88.13 ± 0.91 a	85 ± 1.89 a	77.5 ± 1.89 b	71.25 ± 0.82 b	63.75 ± 1.57 c	<.0001
	PEV	81.46 ± 2.35 a	75.24 ± 0.72 b	74.56 ± 1.33 b	65.45 ± 2.55 c	59.36 ± 5.18 d	<.0001
	pH	7.66 ± 0.05	7.62 ± 0.08	7.63 ± 0.08	7.57 ± 0.14	7.7 ± 0.09	0.89
BTS-A	MI	87.5 ± 0.94 a	82.5 ± 2.11 b	72.5 ± 2.31 c	65 ± 0 d	56.13 ± 2.16 e	<.0001
	PEV	81.28 ± 2.32 a	78.26 ± 1.42 b	71.93 ± 2.47 c	67.79 ± 2.42 d	67.38 ± 1.74 d	<.0001
	pH	7.65 ± 0.05	7.65 ± 0.08	7.64 ± 0.09	7.55 ± 0.14	7.74 ± 0.09	0.74

BTS: Tratamiento de control; BTS-A: Tratamiento con antibiótico; MI: Motilidad individual; PEV: Porcentaje de espermatozoides vivos.

En el tratamiento de control y en el tratamiento con antibiótico se observa un descenso del porcentaje de la motilidad individual al pasar los días. Estos datos coinciden con el autor Hernández (2009) donde postula que la pérdida de motilidad se debe a diferentes factores, principalmente a la duración del periodo de conservación. Aunque es importante aclarar que todo eyaculado en porcinos así se garantice la temperatura de conservación a 16 °C, va causando una disminución fisiológico gradual que se pudo observar en los parámetros de la motilidad individual y vitalidad, a medida que pasaron las horas de evaluación desde la hora 2 hasta las 72 (Zeng *et al.*, 2014).

Los espermatozoides son muy susceptibles al estrés oxidativo y particularmente en la peroxidación lipídica (LOP) debido a su alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) en la membrana plasmática (Venéreo, 2002). En definitiva, dentro de los mecanismos de acción del estrés oxidativo en el espermatozoide podrían mencionarse el desacoplamiento del transporte de electrones y la disminución de la eficiencia de la fosforilación oxidativa, con la consecuente reducción del número de espermatozoide con potencial mitocondrial suficientemente alto para la producción del ATP necesario para la motilidad espermática (Hidalgo, 2013).

La peroxidación lipídica asociada a especies reactivas de oxígeno (ROS) provoca una disminución de la movilidad y viabilidad espermática, de la integridad acrosomal y del potencial de membrana mitocondrial (Baumber *et al.*, 2000)

Marckwordt (2012) en su evaluación utilizando agua de coco como extensor y gentamicina muestra que sus resultados a las 24 horas el porcentaje de motilidad fue de 72.22 %. Comparado a nuestro resultado donde utilizamos Florfenicol, se obtuvieron resultados superiores a las 24 horas con un 87.5 % de motilidad individual. Muestra que sus resultados a las 24 horas el porcentaje de espermatozoides vivos fue de 78.55 %. Comparándolo con nuestro resultado donde a las 24 se obtuvo un 81.28% de los espermatozoides vivos. Adicionalmente, el porcentaje de espermatozoides vivos y la motilidad individual al día tres en el tratamiento con antibióticos se mantuvo dentro del rango del estudio según lo

reportado previamente por Bryla y Trzcińska (2015) dónde indica que la motilidad espermática al día tres posts dilución con el uso de Florfenicol encontró un 75.7% de espermatozoides vivos. Interesantemente, la motilidad individual y el porcentaje de espermatozoides vivos en el diluyente con antibiótico no mostró diferencias marcadas en cuanto a la tendencia encontrada en el tratamiento sin antibiótico a lo largo de los días de evaluación.

IV. CONCLUSIONES

La inclusión de 200 mg/L en el diluyente convencional BTS para semen porcino no mostró mejoras en las variables seminales.

V. RECOMENDACIONES

Se recomienda la evaluación de diferentes dosis de Florfenicol en el diluyente y sus posibles efectos en las variables seminales.

Se recomienda la evaluación de diferentes antibióticos en el diluyente convencional para semen porcino y determinar sus efectos en las variables seminales.

Se recomienda el uso de crecimiento de colonias.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Alcivar, O. (2023). *Evaluación andrológica en cerdos reproductores destinados a la producción de semen en la granja López Suarez Parroquia Guare* [Tesis de grado, Universidad Técnica De Babahoyo]. Archivo Digital.
- Althouse, G. C., y Lu, K. G. (2005). Bacteriosperma in extended porcine semen. *Theriogenology*, 63(2 SPEC. ISS), 573-584.
- Ávalos, A., González, J., Vargas, A., y Herrera, J. (2018). *Recolección y manipulación seminal in vitro*.
- Baumber, J., Ball, BA., Gravance, CG., Medina, V., y Davies-Morel, MC. (2000) The effect of reactive oxygen species on equine sperm motility, viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential and membrane lipid peroxidation. *J. Androl.* 21:895-902.
- Bennemann, P., Machado, S., Girardini, L., Sonálio, K., y Tonin, A. (2018). Contaminantes bacterianos y perfil de susceptibilidad del semen porcino en centros de recogida em Brasil. *Revista MVZ Córdoba*, 23(2). <https://doi.org/10.21897/rmvz.1338>
- Bermúdez, G. (2023). *Evaluación de la viabilidad del semen porcino con la adición de conservantes para mejorar su calidad* [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana]. Archivo Digital.
- Bryla, M., y Trzcińska, M. (2015). Quality and fertilizing capacity of boar spermatozoa during liquid storage in extender supplemented with different antibiotics. *Animal Reproduction Science*, 163, 157-163. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.11.005>
- Bustios, C. (2012). *Efecto del Dilutor, Raza y Tiempo de Conservación sobre la Calidad Seminal y Funcional del Semen Porcino Conservado* [Tesis de grado, Universidad Católica de Santa María]. Archivo Digital.

- Caiza, C. (2022). *Optimización de diluyentes para el manejo y conservación del semen porcino* [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica De Chimborazo]. Archivo Digital.
- Castro, Y., y Giler, R. (2016). *Evaluación del uso de leche descremada fluida UHT como extensor de semen refrigerado de porcino en la ESPAM MFL* [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria De Manabí]. Archivo Digital.
- Cedeño, C., y Pinargote, K. (2021). *Evaluación de dos técnicas de inseminación artificial (intrauterina y cervical) en cerdas reproductoras del hato porcino* [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria De Manabí]. Archivo Digital.
- Conza, L. (2002). *Evaluación bacteriológica de semen de verracos aparentemente sanos según el sistema de crianza semitecnificada y tecnificada* [Tesis de grado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Archivo Digital.
- Conza, L. (2019). Evaluación de semen en verracos. *Revista de Investigaciones Veterinarias*, 15(2), 1609-9117.
- Córdoba, A., Pérez, J., Méndez, W., Villa, A., y Huerta, R. (2015). Obtención, evaluación y manipulación del semen de verraco en una unidad de producción mexicana. *Revista veterinaria*, 1(26)
- Córdova, A., Pérez, J., Méndez, W., Villa, A., Huerta, R. (2015). Obtención, evaluación y manipulación del semen de verraco en una unidad de producción mexicana. *Revista Zootecnia Tropical*, 26 (1), 69-74.
- Coronel, M. (2012). *Evaluación de los índices reproductivos de marranas híbridas de 2do, 3ro, 4to y 5to parto, fertilizadas con inseminación artificial y monta natural en la granja "Pork" Tiquipaya – Cochabamba* [Tesis de grado, Universidad Mayor De San Andres]. Archivo Digital.
- Cuenca, M., y Avellaneda, J. (2017). Diluyentes utilizados en inseminación artificial porcina. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(9), 1-11.

- Espíndola, D. (2020). *Colecta, dilución e inseminación artificial porcina* [Tesis de grado, Universidad Autónoma Del Estado De México]. Archivo Digital.
- Farías, L., y Intriago, S. (2017). *Agua de coco como diluyente de semen porcino a diferentes temperaturas sobre la respuesta reproductiva con inseminación artificial en cerdas* [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria De Manabí]. Archivo Digital.
- Franco, J. (2010). Inseminación Artificial. Disponible en: <http://agronica.udea.edu.co/talleres/Produccion%20porcina/Jorge%20Franco/INSEMINACION%20ARTIFICIAL%20EN%20PORCINOS.pdf>.
- Frunză, I., Cernescu, H., y Korodoi, G. (2008). Physical And Chemical Parameters Of Boar Sperm. *Lucrări Stiintifice Medicină Veterinară*, 41, 631-640. <https://repositorio.unisucre.edu.co/server/api/core/bitstreams/d29501b2-d25c-440f-9084-224c714c6019/content>
- Gadea, J. (2003). Diluyentes de semen utilizados en la inseminación artificial de cerdo. *Revista Española de Investigación Agraria*, 1(2), 17-27.
- García, R. (2020). *Complejo Ciclodextrina-Colesterol y su efecto sobre la calidad de espermatozoides porcinos conservados a 5°C*. [Tesis de grado. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo, Michoacán]. Archivo Digital. http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/jspui/bitstream/DGB_UMICH/1918/1/IIAF-M-2020-0396.pdf
- Goldberg, AMG., Cardoso, M., Bernardi, ML., Wentz, I., Bortolozzo, FP. (2017). El impacto de la contaminación bacteriana del eyaculado y el diluyente en la calidad de las dosis de semen porcino. *Semin. Ciencia. Agrar*, 38 , 3095–3103.
- Gómez, T. (2018). Estudios de nuevos métodos de conservación seminal en el verraco [Tesis de grado, Universidad de Extremadura]. Archivo Digital.

- González, E. (2006). *Uso de leche descremada en polvo a diferentes concentraciones como extensor de semen porcino* [Tesis de grado, Universidad de San Carlos de Guatemala]. Archivo Digital
- Groehs, A., Cardoso, M., Bernardi, M., Wentz, I. y Bortolozzo, F. (2017). El impacto de la contaminación bacteriana del eyaculado y del diluyente en la calidad de las dosis de semen porcino. *Ciencias Agrárias*, 38(5), 3095-3103
- Guachún, M. (2017). *Efecto del extracto del Aloe vera (Aloe barbadensis miller) en la congelabilidad del semen porcino* [Tesis de grado, Universidad de Cuenca]. Archivo Digital.
- Hernández, J. (2009). Evaluación de un nuevo diluyente para semen porcino. *Revista electrónica de Veterinaria*, 10(4), 1-11.
- Herrera, C. (2022). *Métodos de inseminación artificial en la especie porcina* [Tesis de grado, Universidad Técnica De Babahoyo]. Archivo Digital.
- Hidalgo, D. (2013). *Fisiología celular y calidad seminal durante la conservación del semen porcino refrigerado* [Tesis doctoral, Universidad De Extremadura]. Archivo Digital.
- Imre, K., Herman, V., y Morar, A. (2020). Logros científicos en el estudio de la aparición y el perfil de susceptibilidad a los antimicrobianos de las principales bacterias patógenas transmitidas por los alimentos en los alimentos y en los entornos de procesamiento de alimentos en Rumania: revisión de la última década. *Hindawi BioMed. Res.*
- Jasko DJ., Bedford SJ., Cook NL., Mumford EL., Squires EL., y Pickett BW. (1993). Effect of antibiotics on motion characteristics of cooled stallion spermatozoa. *Theriogenology*. 40(5):885-93. doi: 10.1016/0093-691x(93)90356-a.
- Julca, A. (2014). *Conservación de semen porcino en refrigeración, usando el dilutor con agua de coco (Cocus nucifera L.), en Tingo María* [Tesis de grado, Universidad Nacional Agraria de La Selva]. Archivo Digital.

- Knox, R. (2016). Artificial insemination in pigs today. *Theriogenology*, (85)1, 83-93.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.07.009>
- Kondracki, S., Wysokinska, A., Kania, M., y Górski, K. (2017). Application of two staining methods for sperm morphometric evaluation in domestic pigs. *Journal of Veterinary Research*, 61(3) 345-349.
<https://doi.org/10.1515/jvetres-2017-0045>
- Lucca, M., Ulguim, R., Bortolozzo, F., Wentz, I., Rocha, J., Souza, M., Escobar, R., Calderam, K., Quadros, P., y Marcos, R. (2020). Rendimiento reproductivo de cerdas inseminadas con dosis de semen almacenadas hasta siete días en diluyente de larga duración en condiciones de campo. *Revista Reproducción animal*, 17(1). doi: 10.21451/1984-3143-AR2019-0121
- Mallma Marca, P. (2019). *Colorantes Diff-Quik y Eosina-Nigrosina en la evaluación morfológica de espermatozoides antes y después de la criopreservación del semen del toro Holstein* [Tesis de grado, Universidad Nacional Micaela Bastidas De Apurímac]. Archivo Digital.
- Marckwordt, S. (2012). Utilización de agua de coco (cocos nucifera) como extensor de semen fresco de verracos [Tesis de grado, Universidad de San Carlos de Guatemala]. Archivo Digital.
- Montenegro, V., y Chimarro, M. (2013). *Evaluación del efecto de dos tipos de diluyentes comerciales en semen porcino para inseminación artificial en reproductoras de tercer y cuarto parto en el Cantón Ibarra* [Tesis de grado, Universidad Técnica del Norte]. Archivo Digital.
- Moreira, F., Dahl, C., Rodriguez, G., Goncalvez, E., Leivas, F., y Lucías, T. (2013). Identificación de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en prepucio, semen y secreciones vulvares de cerdos. *Ciencias agrarias*, 34(1), 341-346.
- Morell, J. (2016). Antimicrobianos en diluyentes de semen porcino: un análisis de riesgo/beneficio. *J. Antimicrobios*, 2(1), 107–109.

- Moreta, B. (2023). *Diversidad de microorganismos seminales y su relación con el potencial reproductivo del semen porcino* [Tesis de grado, Universidad Técnica de Cotopaxi]. Archivo Digital.
- Polo, E. (2020). *Alternativas al uso de antibióticos en conservación seminal (con especial mención en porcino)* [Tesis de grado, Universidad Zaragoza]. Archivo Digital.
- Rodríguez, E. (2020). *Evaluación de dos diluyentes alternativos para la preservación de semen porcino refrigerado en el trópico bajo colombiano* [Tesis de grado, Universidad Francisco De Paula Santander]. Archivo Digital.
- Rodríguez, H. (2005). Evaluación De La Calidad Seminal En El verraco. *Avances Tecnología Porcina*.8(2). 43-53.
- Rueda, M., Perdigón, R., Arias, T., Mendoza, D., Benítez, J., Lemus, C., y Tosar, M. (2009). Impacto técnico y productivo del diluyente de semen porcino DICIP-M en condiciones cubanas de producción comercial de cerdos. *Revista Computadorizada de Producción Porcina*, 16(1).
- Rugeles, C., Caicedo, R., Almentero, C., Linares, J., y Vergara, O. (2013). Viabilidad de semen porcino refrigerado con diluyente MRA®. *Revista Científica*, 23(3), 206-210.
- Salazar, L. (2014). *Evaluación del dipol como diluyente de recolección seminal y su efecto sobre la conservación y fertilidad de semen refrigerado de verraco* [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica De Chimborazo]. Archivo Digital.
- Sánchez, R. (2020). *Evaluación de la Miel de Abeja como Diluyente en la Conservación del Semen Porcino* [Tesis de grado, Instituto Tecnológico de Huejutla]. Archivo Digital.
- Silva, R. (2017). *Manual de Práctica de Reproducción del Cerdo* [Tesis de grado, Universidad Nacional Autónoma de México]. Archivo Digital.

- Sorarrain, N. (2020). *Efectos de un tratamiento antibacteriano sin antibióticos sobre la calidad de las dosis seminales de cerdo* [Tesis de grado, Universidad de León]. Archivo Digital.
- Tsuchida, S., Umemura, H., y Nakayama, T. (2020). Estado actual de la espectrometría de masas de tiempo de vuelo de desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI-TOF MS) en microbiología de diagnóstico clínico. *Moléculas*, 25(20), 4775.
- Veloz, D. (2017). *Evaluación de la calidad espermática de reproductores bovinos mediante el uso de sistemas de evaluación seminal convencional y sistema CASA (análisis seminal asistido por computadora) y su respuesta con la fertilidad por inseminación artificial* [Tesis de grado, Universidad de Cuenca]. Archivo Digital.
- Venéreo, G. (2002). Daño Oxidativo, Radicales Libres y Antioxidantes. *Med Milit*, 31, 126 – 133.
- Yeste, M. (2018). State-of-the-art of boar sperm preservation in liquid and frozen state. *Animal Reproduction*, 14(1), 69-81. <https://www.animal-reproduction.org/article/10.21451/1984-3143-AR895/pdf/animreprod-14-1-69.pdf>
- Zeng, C., Peng, W., Ding, L., He, L., Zhang, Y., y Fang, D. (2014). A preliminary study on epigenetic changes during boar spermatozoa cryopreservation. *Cryobiology*, 69(1), 119-127. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0011224014001242?via%3Dihub>

VII. ANEXOS

Figura 2. Verraco de la raza Duroc



Figura 3. Antibiótico usado en la fase experimental



Figura 4. Recolección y pesado del semen



Figura 5. Cámara de Bürker



Figura 6. Dosis preparadas



Figura 7. Tinción de eosina y nigrosina

