



## *Evaluación de tres diluyentes incorporados en el semen de porcinos*

### *Evaluation of three extenders incorporated into pig semen*

### *Avaliação de três diluentes incorporados ao sêmen suíno*

Angela Magali Carrasco-Cando <sup>I</sup>

[acarrascoregion3@gmail.com](mailto:acarrascoregion3@gmail.com)

<https://orcid.org/0000-0001-8977-7497>

Oscar Gabriel Toapanta-Cunalata <sup>II</sup>

[otoapanta@itsbenjaminaraujo.edu.ec](mailto:otoapanta@itsbenjaminaraujo.edu.ec)

<https://orcid.org/0000-0002-5816-1785>

Elba Nereida Miranda-Carrera <sup>III</sup>

[elbita.chocolatito@gmail.com](mailto:elbita.chocolatito@gmail.com)

<https://orcid.org/0000-0003-4509-906X>

Pablo Roberto Silva-Jaramillo <sup>IV</sup>

[pablo8522@hotmail.com](mailto:pablo8522@hotmail.com)

<https://orcid.org/0000-0002-5311-3274>

**Correspondencia:** [acarrascoregion3@gmail.com](mailto:acarrascoregion3@gmail.com)

Ciencias Técnicas y Aplicadas  
Artículo de Investigación

\* **Recibido:** 01 de septiembre de 2023 \* **Aceptado:** 25 de octubre de 2023 \* **Publicado:** 09 de noviembre de 2023

- I. Máster universitario en producción y sanidad animal, Ingeniera Zootecnista, Profesora de producción animal del Instituto Superior Tecnológico Pelileo, Tungurahua Ecuador.
- II. Magíster en Mecánica con Mención en Diseño, Doctorando en Ciencias e Ingeniería Estadística de la UNI, Ingeniero Mecánico, Docente de Metodología de la Investigación, Diseño Experimental, Matemáticas, Proyecto de Titulación en el Instituto Superior Tecnológico Pelileo, Tungurahua, Ecuador.
- III. Magíster en Contabilidad y Auditoría mención riesgos operativos y financieros, Ingeniera en Contabilidad y Auditoría, Profesora en materias administrativas del Instituto Superior Tecnológico Pelileo, Tungurahua, Ecuador.
- IV. Magíster en Telecomunicaciones, Ingeniero de sistemas y computación, Profesor de TICS del Instituto Superior Tecnológico Pelileo, Tungurahua, Ecuador.

## Resumen

El estudio tuvo como objetivo evaluar la calidad seminal y el análisis microbiológico del semen de porcino en la conservación con tres diluyentes, naturales: leche descremada, agua de coco y un diluyente comercial (Androstar Plus). Se realizó un experimento factorial (factores: diluyentes, horas de evaluación) en el Laboratorio de Biotecnología de Reproducción Animal del Campus Benjamín Araujo perteneciente al Instituto Superior Tecnológico Pelileo, ubicada en el cantón Patate de la Provincia de Tungurahua, Ecuador. Se colectaron seis eyaculados de un macho reproductor de raza Landrace y cada eyaculado se dividió a su vez, para tres diluyentes y por diluyente en tres tiempos. Utilizando análisis cualitativo y tinción eosina nigrosina, se evaluaron las variables respuesta: concentración espermática, viabilidad espermática, morfología y motilidad. Los datos fueron procesados usando análisis de varianza luego de aplicar prueba de normalidad y las diferencias estadísticas fueron determinadas a través del análisis factorial y prueba de Kruskal Wallis. Los diluyentes probados no presentaron diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) entre ellos y el tiempo en lo que respecta a la calidad seminal y en los análisis microbiológicos se determinó que, al utilizar diluyentes naturales las UFC incrementaban a medida que transcurría el tiempo. Las bacterias encontradas fueron E. Coli y Pseudomona aeruginosa, con el diluyente comercial no existió presencia de microorganismos.

**Palabras Clave:** Calidad seminal; Análisis microbiológico; Diluyentes; UFC; Análisis factorial; Análisis de varianza.

## Abstract

The objective of the study was to evaluate the seminal quality and the microbiological analysis of pig semen in conservation with three natural extenders: skim milk, coconut water and a commercial extender (Androstar Plus). A factorial experiment was carried out (factors: diluents, evaluation hours) in the Animal Reproduction Biotechnology Laboratory of the Benjamín Araujo Campus belonging to the Pelileo Higher Technological Institute, located in the Patate canton of the Province of Tungurahua, Ecuador. Six ejaculates were collected from a Landrace breeding male and each ejaculate was divided in turn, for three diluents and per diluent in three times. Using qualitative analysis and eosin nigrosin staining, the response variables were evaluated: sperm concentration, sperm viability, morphology and motility. The data were processed using analysis of variance after applying a normality test and statistical differences were determined through factor analysis and

Kruskal Wallis test. The diluents tested did not present significant differences ( $P \geq 0.05$ ) between them and time with regard to seminal quality and in the microbiological analyzes it was determined that, when using natural extenders, the CFU increased as time passed. The bacteria found were *E. Coli* and *Pseudomona aeruginosa*, with the commercial diluent there was no presence of microorganisms.

**Keywords:** Semen quality; Microbiological analysis; Diluents; UFC; Factorial analysis; Variance analysis.

### Resumo

O objetivo do estudo foi avaliar a qualidade seminal e a análise microbiológica do sêmen suíno em conservação com três diluentes naturais: leite desnatado, água de coco e um diluente comercial (Androstar Plus). Foi realizado um experimento fatorial (fatores: diluentes, horas de avaliação) no Laboratório de Biotecnologia de Reprodução Animal do Campus Benjamín Araujo pertencente ao Instituto Superior Tecnológico Pelileo, localizado no cantão Patate da Província de Tungurahua, Equador. Foram coletados seis ejaculados de um macho reprodutor Landrace e cada ejaculado foi dividido sucessivamente, por três diluentes e por diluente em três tempos. Utilizando análise qualitativa e coloração com eosina nigrosina, foram avaliadas as variáveis respostas: concentração espermática, viabilidade espermática, morfologia e motilidade. Os dados foram processados por meio de análise de variância após aplicação de teste de normalidade e as diferenças estatísticas foram determinadas por meio de análise fatorial e teste de Kruskal Wallis. Os diluentes testados não apresentaram diferenças significativas ( $P \geq 0,05$ ) entre si e o tempo no que diz respeito à qualidade seminal e nas análises microbiológicas constatou-se que, ao utilizar diluentes naturais, as UFC aumentaram com o passar do tempo. As bactérias encontradas foram *E. Coli* e *Pseudomona aeruginosa*, com o diluente comercial não houve presença de microrganismos.

**Palavras-chave:** Qualidade do sêmen; Análise microbiológica; Diluentes; UFC; Análise fatorial; Análise de variação.

### Introducción

La viabilidad de las dosis seminales puede verse comprometida por el efecto del macho y otros puntos críticos, la elaboración, manipulación, transporte, conservación y aplicación, lo que afecta a los resultados reproductivos de las cerdas. Comúnmente, las dosis de semen se utilizan para la

inseminación en las primeras 72 horas después de su producción y preferentemente después de 24 horas.

En la actualidad se utilizan diferentes diluyentes, que sirven para la preservación y viabilidad espermática del semen porcino, así también para incrementar el volumen de eyaculado y conseguir las dosis necesarias. La característica principal de los diluyentes es conservar la capacidad fecundante de los espermatozoides por más tiempo; deben aportar también con nutrientes necesarios para los procesos metabólicos de los espermatozoides, proteger a las células frente al shock térmico, mantener la presión osmótica, regular el pH y por ende inhibir el desarrollo microbiano (Fernández. H. 2014).

Los diluyentes a utilizar en la presente investigación son: leche semidescremada, agua de coco y diluyente comercial. En la década de los ochenta se empezó a utilizar leche fresca semidescremada para la preservación del semen equino y bovino, sin embargo, este tipo de leche debía calentarse durante diez minutos a temperatura de 92 a 95 grados centígrados, para inactivar la lactenina que es una sustancia tóxica para los espermatozoides. La leche ha tenido una evolución, ahora encontramos leche semidescremada, descremada, pasteurizada, ultra pasteurizada; ésta última tiene la ventaja de que a través de ese proceso se inactiva la lactenina.

El semen porcino se puede diluir con diluyentes comerciales o naturales, la solución depende de la concentración de espermatozoides móviles con la que queremos inseminar, ya que esto se correlaciona con la fertilidad. La mayoría de diluyentes comerciales son de muy buena calidad y estandarización en su composición, pero existen inconvenientes como la disponibilidad y precio, es por ello que se presenta la necesidad de comparar con diluyentes naturales como el agua de coco, la leche semidescremada y un diluyente comercial.

Calidad seminal: El volumen de eyaculado, sometido a filtración se determina inmediatamente después de esta operación, en un recipiente graduado de dilución y se expresa en ml. El volumen de eyaculado de un verraco en términos medios puede llegar a 200 ml, pero fluctúa entre 50 y 500 ml todo esto dependerá de la edad del animal y la técnica de extracción del esperma.

Motilidad: indica la capacidad de movimiento de los espermatozoides, se valora de manera individual, la evaluación puede ser cuantitativa o cualitativa, ya que se valora el porcentaje de espermatozoides en movimiento (de 0 a 100%) y la calidad se determina en una escala de 0 a 5 según el tipo de movimiento.

El movimiento individual de los espermatozoides se clasifica en un rango de 0 a 5 considerando 0 como inmóviles o muertos, 1 movimiento pobre, 2 los espermatozoides se desplazan en círculos, 3 movimientos progresivos lentos, 4 movimiento progresivos cortos y rápidos y 5 como movimientos progresivos rectilíneos muy rápidos.

La aglutinación de los espermatozoides puede ser observado al momento del examen microscópico, tanto en el eyaculado fresco como en el semen diluido y se puede realizar al mismo tiempo de la evaluación de la motilidad. Las aglutinaciones suelen medirse en grados de 0 a 3, donde el grado 3, significa más de un 30 a 40% de espermatozoides aglutinados.

Porcentajes de vivos y muertos: para observar estos porcentajes se hace un frotis de semen con eosina y nigrosina, se observan bajo el microscopio con 40X de aumento. Contando un total de 200 células, de ellas se saca el número de células vivas y el número de células muertas y se calcula el porcentaje, se considera un buen eyaculado aquel que presenta al menos 80% de espermatozoides vivos.

Anormalidades: la evaluación morfológica de los espermatozoides a través del microscopio se considera como una excelente contribución a la predicción a la fertilidad de los verracos. Un eyaculado normal no debe contener más de un 10% de espermatozoides con alguna anomalía.

Concentración espermática:

También conocida como la densidad del esperma, es un dato necesario para fijar el grado de dilución y aprovechamiento del eyaculado. La concentración de espermatozoides oscila entre 0.1 a 1.0 millones de espermatozoides por ml., lo más frecuente es encontrar cifras de 0.25 a 0.35 millones de espermatozoides.

Agua de coco:

El agua de coco (*Cocos nucifera* L.), presenta en su contenido de agua soluciones ácidas y estériles como aminoácidos, azúcares, sales, proteínas, vitaminas y minerales, el momento indicado para el uso de agua de coco debe estar aproximadamente entre los 6 y 7 meses posterior a su formación total, la baja cantidad de fosfolipasa “A” que presenta el agua de coco, la hace una excelente opción para el congelamiento de semen, además, el agua de coco inhibe el ácido láctico del esperma, por ende disminuye el metabolismo celular en términos de respiración, además en la misma se identifica factores estabilizadores de calor llamados “giberelin like”, entre ellos se encuentran sustancias termo hábiles, auxinas y niveles elevados de citocinas (Palacios et al; 2005).

El diluyente comercial utilizado es Androstar Plus, que es un medio de conservación sintético de alta calidad soporta a las células espermáticas a través de un período largo y las protege contra influencias de transporte y de condiciones de almacenamiento subóptimas.

Dentro de las características encontramos que es un sistema de tamponización potente, y de una combinación efectiva de antioxidantes, Androstar® Plus contiene un estabilizador de membranas muy eficiente y altamente comprobado. Las células espermáticas se hacen menos susceptibles a factores dañinos debido a temperaturas de almacenamiento subóptimas y cambiantes. El rango de temperatura tolerado por los espermios se extiende a +10°C a +25°C. Sus beneficios se detallan a continuación: Androstar® Plus contiene únicamente componentes sintéticos especialmente seleccionados por su habilidad de proteger a la funcionalidad de las membranas espermáticas, incluso en condiciones de almacenamiento y de transporte subóptimas.

Los factores estabilizadores de las membranas y de la viabilidad son propiedad de Minitube y por ende componentes únicos de la fórmula bien balanceada de este diluyente Androstar® Plus está disponible con uno o con una combinación de antibióticos. Los antibióticos ofrecidos permiten un control eficiente de un amplio espectro de bacterias. Todos los antibióticos se comprueban de ser inocuos para los espermios. Fabricación de muy alta confiabilidad bajo condiciones de GMP certificadas.

### **Materiales y Métodos**

Los materiales utilizados para la investigación fueron en el proceso de extracción un guante de nitrilo, fundas colecta de semen, vasos de precipitación, probetas, baño María regulado a 37° centígrados, un termo regulado a 37° centígrados, plancha agitadora para mezclar el diluyente, agua bidestilada, eosina y nigrosina para tinción de espermatozoides, portaobjetos, cubreobjetos, microscopio, Phchímetro.

Se formaron tres tratamientos: dos con diluyentes caseros como es el agua de coco, la leche semidescremada y uno con diluyente comercial Androstar® Plus, llevados a tres tiempos 12, 24 y 48 horas con tres repeticiones, obteniendo 54 datos.

El método utilizado en los procesos realizados es la observación, el método de Karras para la concentración y la tinción para morfología.

## **Procedimiento**

El estudio se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de Reproducción Animal del Campus Benjamín Araujo perteneciente al Instituto Superior Tecnológico Pelileo. Se extrajeron seis muestras de un cerdo de raza Landrace de dos años de edad, mediante la técnica de mano enguantada, por cada extracción se realizaron pruebas macroscópicas como volumen, color, olor, pH y temperatura; las pruebas microscópicas de motilidad, concentración, morfología y viabilidad y las pruebas bacteriológicas. Una vez evaluado el semen se prepararon tres dosis, una por cada diluyente con una concentración de cinco mil millones de espermatozoides en un volumen de 100 ml de diluyente para volver a realizar las pruebas microscópicas y bacteriológicas con un tiempo de 12, 24 y 48 horas.

## **Análisis de datos**

Las variables evaluadas fueron concentración espermática, porcentaje de viabilidad, porcentaje de morfología y porcentaje de motilidad; las cuales tuvieron un análisis estadístico de igualdad de varianzas con la estadística de Levene, para normalidad se utilizó la estadística del Kolmogorov debido a que los datos son mayores a 50, para el Anova se utilizó un diseño factorial, que deben ser comprobadas sus condiciones.

Si existe diferencia significativa en el Anova, se procederá con la Metodología de diferencia de medias, aplicando la estadística de Tukey.

## **Resultados**

Evaluación de la calidad espermática con la aplicación de los tres diluyentes.

### **Estadística básica de la investigación**

En nuestra investigación se analizó un verraco de alta genética, edad de dos años, plan sanitario adecuado, lo cual se evidencia por el porcentaje de espermatozoides vivos, con una motilidad espermática media de 39%, obtenidos en los eyaculados frescos.

Los datos obtenidos de las evaluaciones descritas fueron introducidos en sistema de análisis Minitab 18 y se analizaron mediante pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas (Levene). Los diluyentes fueron evaluados como variables discretas independientes y los parámetros de calidad seminal como variables cuantitativas (concentración espermática, viabilidad

espermática, morfología y motilidad), los resultados se expresan en la media de los valores. Se utilizó el modelo estadístico factorial y no existieron interacciones entre tratamientos.

La concentración espermática presenta una media de 207.83 millones de espermatozoides, con una desviación estándar de 79.39. En cuanto a la viabilidad espermática la media corresponde a 41% y la desviación estándar es de 31 %. La morfología y la motilidad se encuentran en un 38 y 39%, con una desviación estándar de 27 y 29% respectivamente. Los valores mencionados de cada una de las variables se encuentran dentro de su respectivo intervalo de confianza como se observa en la Tabla N°1.

El valor de la simetría se encuentra entre -1 y 1, por lo tanto, la distribución de los datos de cada una de las variables es normal.

Según (Barrera 2020) la leche como diluyente en semen fresco no altera las propiedades físicas y químicas de los espermatozoides frente al diluyente a base de agua de coco. En cuanto a la motilidad se encontró que para el agua de coco fue inferior a la leche, en nuestra investigación se coincide con esta apreciación.

De acuerdo a la investigación realizada por Gutiérrez et al., (2006); citados por Trejo et al., (2013). El uso de agua de coco como diluyente natural en la preservación o conservación de semen porcino tiene resultados muy favorables debido a los nutrientes que este tiene, en cuanto a los beneficios está la movilidad y viabilidad de los espermatozoides en concordancia con otros diluyentes naturales.

La mortalidad espermática que se observó, no presentó diferencia significativa ( $p > 0.05$ ), notándose que el tratamiento con diluyente BTS a 37°C, la mortalidad promedio fue de 18,75% ( $\pm 0,63$ ) y a 17°C fue de 20% ( $\pm 0,72$ ), en cuanto al diluyente natural a 37°C se observó una mortalidad media de 16,25% ( $\pm 1,20$ ) y a 17°C de conservación se encontró un promedio de 17,5% ( $\pm 1,02$ ) de mortalidad espermática.

La temperatura adecuada para la conservación seminal en porcinos es de 16 grados centígrados (°C), cómo lo reporta Torres et al. (2014), ya que temperaturas inferiores a ellas ( $< 14^\circ\text{C}$  y  $> 20^\circ\text{C}$ ), presentan alteraciones tanto en la membrana del espermatozoide, como una disminución de la vitalidad espermática (Cuenca & Avellaneda. 2017). 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 (González et al., 2014).

Se debe tener presente que la conservación espermática es una técnica que consiste en mantener a las células reproductoras a una baja temperatura sin perder su integridad y calidad seminal, y que tiene como objetivo inhibir la actividad metabólica de la célula garantizando su vitalidad y funcionalidad a través del tiempo, para permitir su motilidad por el tracto uterino y lograr su reacción acrosómica antes de su encuentro con el ovocito.

La motilidad espermática es un parámetro de actividad metabólica e integridad de las membranas (Lossada, 2013). En el presente estudio los valores de movilidad de las células espermáticas estudiadas en los diluyentes es muy similar a los datos demostrados en diferentes estudios de los medios comerciales (Pinto et al., 2013), sin embargo difieren mucho de los datos obtenidos con el medio MRA®, especulando problemas con el lote del medio, el plasma seminal de los machos evaluados, la temperatura ambiente, el agua para la preparación del medio, que pudieron afectar la eficiencia del diluyente.

Por otro lado, la presencia de glucosa como la única fuente de energía y el bajo contenido de oxígeno en el recipiente donde es disuelto y refrigerado el semen, estimula el metabolismo glucolítico (la ruta metabólica encargada de oxidar la glucosa con la finalidad de obtener energía para la célula), consecuentemente el pH intracelular del espermatozoide aumenta reduciendo su motilidad, es por ello que se observa la reducción en el parámetro de vitalidad, progresividad y linealidad espermática (Quintero et al., 2009).

De la misma forma, los diluyentes comerciales poseen otros componentes no registrados diferentes a los que se reportan bibliográficamente, es por ello que estos componentes no reportados colaboran a darle mejor resistencia a la membrana plasmática del espermatozoide y a soportar condiciones adversas, caso contrario los diluyentes alternativos (agua de coco y leche semidescremada) que tienen los requerimientos mínimos de conservación (Ochoa & Ortega, 2008), teniendo en cuenta que en la investigación para los parámetros ambientales y fisiológicos de los reproductores no mostraron diferencias muy marcadas con los índices evaluados con respecto a los medios comerciales.

El efecto de la refrigeración en semen de verraco ha sido ampliamente debatido por Ochoa y Ortega, (2008), Lossada, (2013), Pinto et al. (2013), Torres et al. (2014), Bielas et al. (2017), ya que existen diferencias en las composiciones bioquímicas de la membrana plasmática de los

espermatozoides provenientes incluso del mismo verraco en diferente eyaculado, están involucradas en la sensibilidad de los espermatozoides a los procesos de refrigeración (Karunakaran et al., 2017). Algunos estudios han demostrado que los cambios fisiológicos en los espermatozoides son producto de la capacitación acrosomal principal razón de daño de las células seminales cuando son sometidas a un shock térmico por frío, así que depende mucho de las características bioquímicas de los diluyentes ya que cumplen un papel importante en la vitalidad del semen expuesto a temperaturas durante periodos de tiempo prolongados (Schulze et al., 59 2019), considerando estudios anteriores es que se tomó la decisión de trabajar con semen fresco. Es importante traer a contexto el análisis económico, que es uno de los pilares técnicos que se deben tener en cuenta en el proceso de reproducción porcina, cabe destacar que en el conocimiento de la fisiología espermática los componentes para la formulación de dichos diluyentes naturales deben ser evaluados desde el costo – beneficio y así contrarrestar uno de los principales problemas que agobian a los pequeños productores, lo cual es el acceso debido al alto valor económico que representan los medios comerciales en la región, por ese motivo se logró hacer una comparación entre los diluyentes naturales y los comerciales.

**Tabla N°1:** Estadística básica empleada en el análisis

<b>Elementos</b>	<b>Concentración</b>	<b>Viabilidad</b>	<b>Morfología</b>	<b>Motilidad</b>
<b>Descriptivos</b>	<b>espermática</b>	<b>espermática</b>	<b>%</b>	<b>%</b>
	<b>millones</b>	<b>%</b>		
<b>Media</b>	207.83	41	38	39
<b>Desviación</b>	79.39	31	27	29
<b>estándar</b>				
<b>Simetría</b>	0.23	0.22	0.054	0.1
<b>Intervalo de</b>	186.16- 229.50	32-49	31- 46	31- 47
<b>confianza</b>				

Para las variables de análisis, únicamente cumple con normalidad la concentración espermática, ya que el valor de P es  $\geq$  a 0.05. En cuanto a la igualdad de varianza se cumple con tres variables de análisis a excepción de morfología que muestra un 0.04. El diseño experimental para las variables de concentración espermática se aplicó el diseño factorial, ya que cumple con las condiciones

paramétricas mientras que, para viabilidad espermática, morfología y motilidad se aplicó el diseño Kruscal Wallis porque no cumplen normalidad. En el diseño experimental hubo significancia, pero en la diferencia de medias no hay una supremacía entre los niveles de cada una.

Asimismo, Según (Rodríguez 2020) en cuanto a la motilidad espermática se encontraron diferencias significativas sólo en algunos descriptores de motilidad ( $P \leq 0,05$ ), obteniendo el mejor resultado a la hora cero (H0) de las muestras diluidas en el medio comercial F8® con un 88.37%, seguido del también comercial MR-A® con un 84.9%, siendo para esta función el dato menor correspondiente al diluyente alternativo A con un 74.37% de motilidad; para la evaluación en la hora 24 y hora 48, el resultado superior lo obtuvo el medio comercial Vitasem®, con el 72.3% y 61.2% respectivamente; el resultado obtenido en la última evaluación H72, como dato inferior lo muestra el medio MR-A® con un mínimo de 39.7%; los diluyentes A y B se mantienen en un resultado promedio.

**Tabla N°2:** Análisis de diseño experimental

<b>Pruebas estadísticas</b>	<b>Concentración espermática millones</b>	<b>Viabilidad espermática %</b>	<b>Morfología %</b>	<b>Motilidad %</b>
<b>Normalidad (p)</b>	Cumple > 0,15	No cumple <0,010	No cumple <0,010	No cumple <0,010
<b>Igualdad de varianza (p)</b>	Cumple > 0,165 (Diluyente) > 0,427 (tiempo)	Cumple > 0,113 (Diluyente) > 0,507 (tiempo)	No Cumple < 0,04 (Diluyente) > 0,813 (tiempo)	Cumple > 0,096 (Diluyente) > 0,83 (tiempo)
<b>Anova Factorial o Diseño Factorial (p)</b>	Factorial	Kruscal Wallis	Kruscal Wallis	Kruscal Wallis
<b>Diferencias de Medias</b>	no hay diferencias	no hay diferencias	no hay diferencias	no hay diferencias

De acuerdo con la Tabla N°3 la carga bacteriana se incrementa a medida que transcurre el tiempo, los microorganismos que observamos son Echericha Coli y Pseudomona aeruginosa con los diferentes diluyentes, excepto con el diluyente comercial, en donde se obtiene 0 UFCs/ml.

Según (García et al.,1998) menciona que existen muchos factores que pueden influir directamente sobre la calidad del semen porcino, entre éstos se encuentra la contaminación por microorganismos, lo cual coincide con (Arauz et al., 2000) al mencionar que esta contaminación es bacteriana y ocurre habitualmente durante la colecta.

(Conza et al., 2004) coincide con nuestra investigación al mencionar que en la evaluación bacteriológica del semen de berracos, usados como reproductores, la mayor cantidad de colonias encontradas fue de la bacteria Pseudomona aeruginosa y la bacteria aislada en el mayor número de animales en ambos sistemas de crianza fue Escherichia coli.

Estas bacterias han sido asociadas con alteraciones en la calidad del semen. Trabajos realizados por otros autores han demostrado el efecto espermicida de la E. coli y que además podría ser la causa de la aglutinación espermática en el eyaculado. Así mismo, la presencia de Pseudomonas está relacionada con la pérdida de motilidad espermática, reducción de la fecundación y muerte de embriones (Althouse y cols., 2000).

**Tabla N°3:** Análisis microbiológico

<b>DILUYENTES</b>	<b>12 HORAS</b>	<b>24 HORAS</b>	<b>48 HORAS</b>	<b>MICROORGANISMO</b>
<b>AGUA DE COCO</b>	46 UFC/ml	50.2 UFC/ml	114 UFC/ml	E. COLI
<b>LECHE SEMIDESCREMAD A</b>	46 UFC/ml	104 UFC/ml	108 UFC/ml	E. COLI
<b>DILUYENTE COMERCIAL</b>	0	0	0	
<b>SEMEN FRESCO</b>	36.2 UFC/ml	51 UFC/ml	9500 UFC/ml	Pseudomona aeruginosa

## Conclusiones

El estudio permitió comprobar que no existen diferencias estadísticas entre los diluyentes y el tiempo de conservación, con respecto a la calidad espermática; por lo que, podemos sugerir la utilización de leche descremada o agua de coco teniendo en cuenta los costos.

Por último no se debe olvidar que la elección del diluyente se realiza para optimizar los resultados de fertilidad y prolificidad de las explotaciones porcinas, ya que una buena elección del mismo, repercute en el rendimiento económico de las granjas, para el futuro se cree que existirá un incremento tanto en el uso como en la investigación de nuevos diluyentes por parte de los centros y personal inmerso en la realización de Inseminación Artificial debido a las grandes ventajas que estos ofrecen.

## Referencias

- Althouse, G. C., Kuster, C. E., Clark, S. G., & Weisiger, R. M. (2000). Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. *Theriogenology*, 53, 1167-1176.
- Arauz, S., Stomelli, A., & Williams, S. (2000). Estudio bacteriológico del semen porcino. En Congreso Mercosur de Producción Porcina. Buenos Aires, Argentina: Evaluación bacteriológica de semen de verracos usados como reproductores.
- Barrera, C. (2020). Evaluación de dos diluyentes para la crioconservación de semen bovino : leche entera y agua de coco. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/7955>
- Bielas, W., Nizański, W., Partyka, A., Rzas, A., & Koziorowska-Gilun, M. (2017). Effect of long-term storage in Safe Cell+ extender on boar sperm DNA integrity and other key sperm parameters. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 59(1), 58.
- Cuenca Condoy, M., & Avellaneda Cevallos, J. (2017). Diluyentes utilizados en inseminación artificial porcina. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(9).
- Fernandes, J. L., Bortolozzo, A. C., Oliveira, M. B., Dell'Aqua, C. A. V., & Pereira, R. A. G. (2014). Carga bacteriana en semen porcino conservado en tres diluyentes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 38(4), 216-221.
- García, J. S. Lapuente, D. Corcuera, A. Sagüé, & M. Rillo. (1998). Memorias del V Simposium Internacional de Reproducción e Inseminación Artificial en Porcinos. León, México.

- González-Castro, A. M., Rueda-Merchán, M. J., & Zeng, W. (2014). Evaluación del uso de agua de coco (*Cocos nucifera* L.) como diluyente natural en inseminación artificial en cerdas. *Revista Científica de Producción Animal*, 26(1), 9-15.
- Gutiérrez, A., Palacios, M., Jiménez, C., & Ramírez, G. (2006). Agua de coco, *Opuntia* sp, leche y sus combinaciones para criopreservar semen ovino. *Archivos de Zootecnia*, 55(209), 97-100.
- Karunakaran, M., Chakurkar, E., Ratnakaran, U., Naik, P., Mondal, M., & Mondal, A. (2017). Characteristics of boar semen preserved at liquid state. *Journal of Applied Animal Research*, 45(1), 217-220.
- Lossada, M. (2013). Evaluación de dos diluyentes alternativos para la preservación de semen porcino bajo condiciones de refrigeración. (Tesis Maestral). Universidad del Zulia, Venezuela.
- Martínez, E.; Vázquez, M.; Matas, C.; Roca, J.; Coy, P. & Gadea, J. (1993) Evaluation of boar spermatozoa penetrating capacity using pig oocytes at the germinal vesicle stage. *Theriogenol*, 40(8), 547-557.
- Ochoa, G., Acosta, M., Rueda, M., & Ortega, R. (2008). Evaluación de semen porcino conservado en diluyentes de larga duración. Pruebas in vitro/Conservation of pig semen. *Revista Computadorizada de Producción Porcina*, 15, 298. Disponible en: [http://www.iip.co.cu/RCPP/153/153\\_10artGOchoaB.pdf](http://www.iip.co.cu/RCPP/153/153_10artGOchoaB.pdf)
- Palacios Martínez, M. 2005. Evaluación del agua de coco (*Cocos nucifera*), *Opuntia* spp, Leche y sus Combinaciones para la Crióconservacion.
- Pinto, F., Caicedo, C., Almentero, J., Linares, V., & Vergara, L. (2013). Viabilidad de semen porcino refrigerado con diluyente MRA®. - Viability of Porcine Semen Preserved With MRA® Diluent. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 13(3), 206-210.
- Quintero-Moreno, A., González, D., Garde, J. J., Estes, M., Fernández, M. R., Carvalho, J. L., Mejía, W., & León, G. (2009). Valoración morfométrica de la cabeza del espermatozoide de cerdo doméstico según su edad. *Revista Científica, FCV-LUZ*, XIX(2), 153-158.
- Rodríguez Rolón, E. G. (2020). Evaluación de dos diluyentes alternativos para la preservación de semen porcino refrigerado en el trópico bajo colombiano. (Tesis de grado). Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente, Universidad Francisco de Paula Santander, San José de Cúcuta, Colombia.

Schulze, M., Nitsche-Melkus, E., Jakop, U., Jung, M., & Waberski, D. (2019). New trends in production management in European pig AI centers. *Theriogenology*, 137, 88-92.

Torres, P., Fischman, M., Acerbo, M., Garcia, C., Miguez, M., Dominguez, J., et al. (s.f.). Análisis de diluyentes comerciales de semen porcino refrigerado durante 4 días.

Trejo-Trejo C.A., Meza V.V.M., Antonio E.C., Cotera R.J., Antonio-Cisneros C.M.(2013). Agua de coco (cocus nucifera) como diluyente para semen fresco de conejo en la inseminación artificial. Artículo científico. Universidad de Papaloapan, Loma Bonita, Oxaca, México."

© 2023 por los autores. Este artículo es de acceso abierto y distribuido según los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).