



**Evaluación de la calidad seminal en equinos de raza criollo colombiano con tres diluyentes
comerciales**

Luis Felipe Serrano Chagüeza

Universidad Antonio Nariño

Programa de Medicina Veterinaria

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Popayán

2024

**Evaluación de la calidad seminal en equinos de raza criollo colombiano con tres diluyentes
comerciales**

Luis Felipe Serrano Chagüeza

Trabajo presentado como requisito para optar al título de:

Médico Veterinario

Director (a):

Juan Pablo Andrade Valencia

MV, Esp

Línea de investigación:

Producción animal

Universidad Antonio Nariño

Programa de Medicina Veterinaria

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Popayán

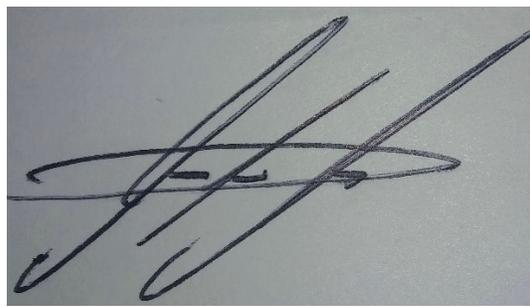
2024

Página de Aceptación

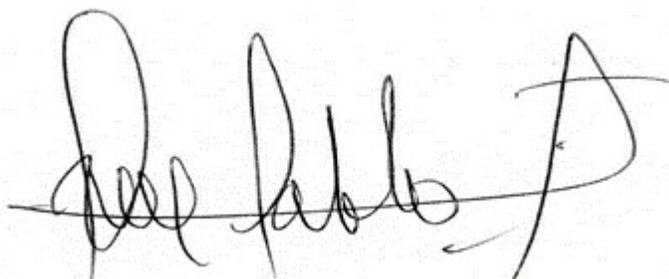
Aprobado por el jurado evaluador en cumplimiento de los requisitos exigidos

Por la universidad Antonio Nariño para optar al título de

Médico Veterinario

A handwritten signature in black ink on a light gray background. The signature is stylized and appears to read 'Jaime Andres Pérez Redondo'. It consists of several overlapping loops and lines.

Jurado evaluador: Jaime Andres Pérez Redondo.

A handwritten signature in black ink on a light gray background. The signature is stylized and appears to read 'Juan Pablo Andrade Valencia'. It features large, sweeping loops and a prominent vertical stroke on the right side.

Director: Juan Pablo Andrade Valencia

Tabla de Contenido

Lista de tablas.....	5
Lista de figuras.....	6
Lista de cuadros.....	7
Resumen.....	8
Abstract.....	9
Introducción.....	10-11
Justificación.....	12
Objetivos.....	13
Metodología.....	14-26
Resultados.....	21-28
Discusión.....	29-30
Conclusiones.....	31
Recomendaciones.....	32
Bibliografía.....	33

Lista De Tablas

Tabla 1. Características del semen equino.....	15
Tabla 2. Parámetros espermáticos de semen equino en los diferentes tiempos de refrigeración...	25
Tabla 3. Concentración espermática.....	27
Tabla 4. Porcentaje de motilidad espermática equino #1.....	28
Tabla 5. Porcentaje de motilidad espermática equino #2.....	29
Tabla 6. Porcentaje de motilidad espermática equino #3.....	30
Tabla 7. Porcentaje de motilidad progresiva equino #1.....	31
Tabla 8. Porcentaje de motilidad progresiva equino #2.....	32
Tabla 9. Porcentaje de motilidad progresiva equino #3.....	33

Lista De Figuras

Figura 1. Diluyente Botusemen gold laboratorio Botupharma.....	17
Figura 2. Diluyente marca Ramp laboratorio Rampco.....	18
Figura 3. Diluyente Revolution laboratorio Reproduction resources.....	19
Figura 4. Cámara de Neubauer bajo microscopio.....	25
Figura 5. Porcentaje de motilidad equino #1.....	29
Figura 6. Porcentaje de motilidad equino #2.....	30
Figura 7. Porcentaje de motilidad equino #3.....	31
Figura 8. Porcentaje de motilidad progresiva equino #1.....	32
Figura 9. Porcentaje de motilidad progresiva equino #2.....	33
Figura 10. Porcentaje de motilidad progresiva equino #3.....	34

Lista De Cuadros

Cuadro 1. Materiales para la recolección de las muestras.....	16
Cuadro 2. Materiales y equipo de laboratorio.....	16
Cuadro 3. Clasificación de anomalías espermáticas en el potro.....	18
Cuadro 4. Diluciones de producto Botusemen Gold.....	24
Cuadro 5. Características microscópicas y químicas.....	27
Cuadro 6. Características macroscópicas de las diluciones.....	27

Resumen

En este estudio se pone a prueba tres conservantes o diluyentes para semen equino los cuales son Botusemen Gold de laboratorio BotuPharma® Brasil, Ramp de laboratorio Rampco® Colombia y Revolution de Incolamerica® Estados unidos, en tres individuos con condiciones anatómicas y fisiológicas similares de los cuales las muestras se preparan mediante una dilución 1/1 y posteriormente se evalúan características iniciales como el color, pH, malformaciones espermáticas seguido de la evaluación mediante el uso de la cámara de Neubauer para determinar el porcentaje de motilidad total y motilidad progresiva en un control inicial de doce horas seguido de controles en intervalos de veinticuatro horas, almacenándolos en un medio de 2-8° con el fin de determinar y analizar que producto es mejor o conserva las mejores características bajo estas condiciones y por qué.

Palabras clave: diluyente seminal, conservante seminal, inseminación artificial

Abstract

This study tests three preservatives or diluents for equine semen which are Botusemen Gold from BotuPharma® Brazil laboratory, Ramp from Rampco® Colombia laboratory and Revolution from Incolamerica® United States, in three individuals with similar anatomical and physiological conditions of which the samples are prepared by a 1/1 dilution and then initial characteristics such as color, pH, sperm malformations are evaluated followed by evaluation using a Neubauer chamber to determine the percentage of total motility and progressive motility in an initial control of twelve hours followed by controls at intervals of twenty-five hours, pH, sperm malformations followed by evaluation using the Neubauer chamber to determine the percentage of total motility and progressive motility in an initial control of twelve hours followed by controls at twenty-four hour intervals, storing them in a medium of 2-8° in order to determine and analyze which product is better or retains the best characteristics under these conditions and why.

Key words: seminal extender, artificial insemination.

Introducción

La inseminación artificial (IA) es la técnica reproductiva más difundida, se practica en la mayoría de las especies de interés zootécnico. En la especie equina su implementación acelera la mejora genética, reduce costes de desplazamiento y se evita la aparición de enfermedades.

La finalidad de este método es facilitar lo que es un proceso de monta natural de las yeguas con el objetivo de que queden inseminadas de caballos que posean un buen material genético, a través de la introducción de semen en el cuerpo del útero de una hembra sexualmente receptiva. (Sánchez Forero V, 2023)

Previo a la IA hay métodos complementarios como el uso de diluyentes seminales que tienen como principal función la protección de la integridad y funcionalidad de la membrana plasmática de los espermatozoides. Estos proveen de sustratos energéticos y permiten la manutención de condiciones estables de pH y osmolaridad en el medio extracelular (Batellier et al, 2001).

La amplia variabilidad en el uso de diversos sustratos como la leche descremada o la yema de huevo siendo los más frecuentes en los diluyentes de semen equino (Douglas-Hamilton y col, 1984) la presencia de minerales, antibiótico y método de conservación como la refrigeración o la congelación, ya que en casos de que la inseminación se posponga 12 horas después de la colecta, el semen debe ser refrigerado o congelado. Esto prolongará la longevidad al disminuir la tasa metabólica del espermatozoide reduciendo los requerimientos energéticos y nutritivos (Knot-tenbelt, 2003).

la cantidad de resultados que se pueden llegar a obtener son casi ilimitados en base a la combinación de diversos componentes y características anatomofisiologías del animal como la genética, edad, estado nutricional y condiciones patológicas.

En base a se toma la muestra seminal de 3 equinos en condiciones similares como se describe previamente donde se pondrán a prueba tres diluyentes comerciales, Botusemen Gold, Ramp, Revolution en una dilución 1/1 respectivamente y la refrigeración como método de almacenamiento, para analizar cómo se conserva la calidad seminal determinada por los valores de concentración espermática, morfología, pH y evaluando únicamente la movilidad (motilidad total y motilidad progresiva) en intervalos de tiempo de 24 horas hasta las 96 horas para determinar la variabilidad de datos entre los productos y ante un grupo control sin diluyente.

Justificación

Este estudio se justifica en el interés de comparar y evaluar tres productos comerciales con el nombre de Botusemen gold, Ramp, Extensor, denominados diluyentes seminales, distribuidos en el mercado del territorio nacional de Colombia, que tienen el propósito de extender la longevidad del semen equino en medios adecuados de conservación como la refrigeración o la congelación hasta el momento de su uso en la inseminación artificial.

Cada producto se presenta con mayor claridad en el desarrollo del marco teórico.

En base al análisis de los resultados obtenidos del estudio justificar cuál de los tres productos es la mejor alternativa bajo las mismas condiciones como la preparación, manejo de la muestra y selección del equino para brindarle al productor un intervalo de tiempo mayor de uso efectivo comparado con la disminución tan drástica en la calidad seminal cuando no se usa diluyente y no se brindan los medios de conservación.

Teniendo en cuenta que se emplea un método sencillo y económico comparado con otras técnicas de conservación como la congelación dado que no se necesita de un amplio equipo o material de laboratorio se benefician principalmente a los pequeños medianos productores con no dispongan o no se quieran involucrar totalmente en el área de la reproducción.

Objetivos

Objetivo general:

Evaluar el efecto de tres diluyentes comerciales en la calidad seminal de equinos de raza criollo colombiano.

Objetivos específicos:

Evaluar la dinámica de las características espermáticas como el porcentaje de MT y porcentaje de MP en intervalos de 24 horas hasta un límite de 96 horas de tomadas las muestras.

Comparar los resultados de las respectivas diluciones frente a un grupo control sin diluyente.

Determinar entre los productos Botusemen gold, Ramp, Extensor, cual conserva las mejores características de MT y MP en el plazo de 96 horas.

Metodología

Se evalúan tres equinos de la ciudad de Popayán ubicados en el criadero puerto triunfo, de la raza criollo colombiano que cumplen con condiciones similares de (edad, genética, anatomía, nutrición, salud) a consideración de que la diferencia de alguno de estos parámetros puede alterar las significativamente las características seminales como se describen (Rodríguez, L; Ambrosius, B; Fumuso, E, 2018)

De la respectiva muestra seminal de cada equino se harán tres diluciones (1:1) con los productos (Botusemen gold, Ramp, Revolution) esta dilución se realiza mezclando todo el producto respectivamente en el volumen en ml de agua destilada que indique el laboratorio y se dejará un control donde no se hará uso de ningún diluyente, solo se realiza este procedimiento una vez por individuo.

La preparación del diluyente se realiza mínimo diez minutos antes de la colecta y se deja reposando en baño maría para que mantenga una temperatura de 37°, una vez se tiene la muestra similar y se ha realizado el proceso de filtrado se depositan 4 ml de semen en un tubo falcón de 10ml e inmediatamente se añaden los 4 ml correspondientes de diluyente, este procedimiento se realiza en simultaneo para las tres muestras que se requieren.

El sellado de la muestra se realiza una vez se hace la dilución, sellando el tubo falcón con su tapa e introduciéndolo en una bolsa de aluminio para minimizar los cambios abruptos de temperatura, se deja aclimatando cinco minutos y se introduce a la nevera portátil que debe de estar a una temperatura entre los dos y ocho grados centígrados.

Para el primer control (hora 0) solo se evalúa la muestra sin ningún diluyente y a partir de ese momento se evalúan todas las muestras en intervalos de veinticuatro horas considerando o

simulando como influye un día en las características del producto antes de su uso, además de ser intervalos planteados por (Giraldo S., Natalia; Correa Villegas, Juan Esteban; Vásquez Araque, Neil, 2006)

Tabla 1

Características del semen equino.

Característica o componente	
Volumen Eyaculado (ml)	60 - 100
Concentración Espermática (millones/ml)	150 - 300
Espermatozoides/eyaculado (Billones)	5 - 15
Motilidad espermática (%)	40 - 75
Espermatozoides normales (%)	60 - 90
Proteína (g/100ml)	1.0
pH	7.2 - 7.8
Fructosa (mg/100ml)	2
Sorbitol (mg/100ml)	20 - 60
Acido citrico (mg/100ml)	8 - 53
Inositol (mg/100ml)	20 - 47
GPC (mg/100ml)	40 - 100
Ergotioneina (mg/100ml)	40 - 110
Sodio (mg/100ml)	257
Potasio (mg/100ml)	103
Calcio (mg/100ml)	26
Magnesio (mg/100ml)	9
Cloro (mg/100ml)	448

Fuente. Rivera Janine Wernli. 2010. Actualidad sobre la congelación de semen equino y análisis de nuevas propuestas en la composición de los diluy opuestas en la composición de los diluyentes. Pag 20

Materiales.

Cuadro 1

Materiales para la recolección de las muestras.

Vagina artificial
Filtro de semen
Frasco de recolección
Nevera portátil
Guantes
Tapabocas
Tubos tipo Falcon 10 ML

Cuadro 2

Materiales y equipo de laboratorio.

Microscopios objetivos 40x-100x
Cámara de Neubauer
Termómetro
Equipo baño maría
Laminas cubreobjetos y portaobjetos

Tiras de pH
Diluyentes/extensores para semen
Micropipeta

Diluyentes

Botusemen gold

Figura 1

Diluyente Botusemen gold laboratorio Botupharma



Fuente: https://www.jiyadvet.com/wp-content/uploads/2019/06/Botusemen_gold.jpg

Nota. Composición a base de Caseína, glucosa, aminoácidos, antioxidantes y colesterol.

El laboratorio recomendar diluir el producto en un volumen de 100 ml de agua estéril, homogeneizar y usar mínimo quince minutos después de la preparación.

Cuadro 4

Diluciones de producto Botusemen Gold

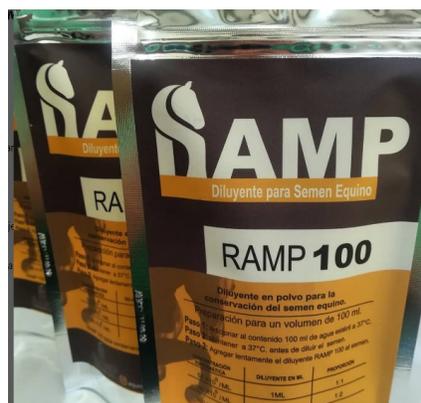
Concentración Espermática	Dilución
<90x10 ⁶ /ml	1:1 Centrifugar Resuspender 100x10 ⁶ spz/mL
90 a 110x10 ⁶ /ml	2:1
120 a 130x10 ⁶ /ml	2.5:1
140 a 160x10 ⁶ /ml	3:1
170 a 180x10 ⁶ /ml	3.5:1
190 a 210x10 ⁶ /ml	4:1
220 a 230x10 ⁶ /ml	4.5:1
240 a 250x10 ⁶ /ml	5:1

Nota. Indicaciones de laboratorio

Ramp

Figura 2

Diluyente marca Ramp laboratorio Rampco



Fuente: [https://www.instagram.com/p/CEcZXsalEUg/?utm_source=ig_web_copy_link&igshid=MzRIODBi](https://www.instagram.com/p/CEcZXsalEUg/?utm_source=ig_web_copy_link&igshid=MzRIODBiNWFIZA==)

[NWFIZA==](https://www.instagram.com/p/CEcZXsalEUg/?utm_source=ig_web_copy_link&igshid=MzRIODBiNWFIZA==)

La preparación para un volumen de 100 ml se debe adicional el contenido de 96 ml de agua destilada a 37°

Para una dilución 1:1 se recomienda que la concentración espermática sea de 50×10^6 / ML

Revolution

Figura 3

Diluyente Revolution laboratorio Incolamerica



Fuente. [Revolution Equine Semen Extender w/Gentamicin - 100 ml \(reproductionresources.com\)](http://reproductionresources.com)

Nota. Composición a base de potasio, amikacina, Penicilina. El laboratorio recomendar diluir el producto en un volumen de 200 ml de agua estéril.

Composición de los diluyentes

generalmente se componen de carbohidratos de simples como lactosa, glucosa, rafinosa que aportan energía a las células seminales, sales de Hanks que permiten la viabilidad de las células, citrato de sodio, citrato de potasio que pueden servir para reducir la acidez del pH, HEPES que funcionan como sustancias tampón, penicilina, gentamicina, que mantienen la carga microbiana baja, leche descremada que aporta lipoproteínas de baja densidad que le

proporcionan estabilidad a la membrana celular del espermatozoide, fosfolípidos provenientes de la yema de huevo o de la lecitina de soya. Estas sustancias pueden ser usadas para semen fresco o criopreservado (Celis, 2014).

Compuestos

Azúcares

El plasma seminal presenta de forma natural varios azúcares como la glucosa, fructosa y sorbitol. De los cuales la glucosa y fructosa son los más frecuentemente usados en diluyentes de congelación. El uso de azúcares como la metilcelulosa (Barrios, Huanca, Revuelta y Rodríguez, 2016).

Leche descremada

Aportan caseína, fosfocaseinato y beta lactoglobulinas que generan una función protectora frente al estrés por frío (Sandoval, 2010).

Yema de huevo

Las lipoproteínas y fosfolípidos que contiene la yema de huevo son componentes que presentan una función protectora frente al daño ocasionado por la congelación, generalmente usado huevo de gallina, aunque se han reportado buenos resultados con huevo de otras especies como patos (Castro y Chacón, 2016).

Existen diluyentes comerciales que contienen fosfolípidos provenientes de la lecitina

de soya, mientras que otros no contienen este componente, por tal motivo se adiciona la yema de huevos frescos, generalmente limpiando previamente los huevos y utilizando separadores de yema, retirando los excesos de clara con papel filtro (Pineda y Pinilla, 2007).

Crioprotectores permeables

Son compuestos permeables a través de la membrana plasmática gracias a su bajo peso molecular, produciendo una reorganización de los compuestos lipídicos y proteicos de la membrana que facilita la fluidez, generando que la deshidratación sea más fácil a bajas temperaturas y disminuyendo la formación de cristales intracelulares, incrementando la supervivencia espermática a la criopreservación actuando en el medio extra e intracelular (Elgueta, 2018).

Glicerol

Es una sustancia crio protectora, a pesar de que no existe uniformidad en cuanto a su concentración óptima en los diluyentes comerciales equinos, generando un efecto negativo en la motilidad y fertilidad post-descongelación. Su efecto tóxico causa alteraciones citoplasmáticas, provocando a su vez desnaturalización de proteínas. El principal efecto tóxico puede estar desencadenado por el estrés osmótico producido durante su incorporación y eliminación en las fases de congelación y descongelación

(Arriaga, Ampuero, Huanca y Terreros, 2015).

Dimetil sulfóxido

Es un agente crioprotector que gracias a su bajo peso molecular (78.13 g/mol) le permite atravesar la membrana celular de forma rápida, evitando que se produzcan cristales intracelulares en el proceso de criopreservación celular (López, 2021)

Procedimiento

Las colectas se realizan con una yegua como estímulo para el macho, minutos previos al procedimiento se limpia con abundante agua el glande del semental con el fin de disminuir lo más posible la cantidad de microorganismos como lo pueden llegar a ser la Taylorella, alphaherpesvirusequino tipo 3 o cualquier agente que se pueda transmitir por medio del coito en general como se describe en el documento (Metritis contagiosa equina. 2009. institute for international cooperation in animal biologics) y excedentes en general en puedan contaminar la muestra.

El correcto manejo tanto del semental como de la yegua y el uso de herramientas como las sueltas es de suma importancia para mantener la integridad de los operarios y los animales.

Uso de vagina artificial

Actualmente hay diferentes modelos de vagina artificial que trabajan bajo los mismos principios, temperatura y presión. “Las vaginas artificiales son básicamente un cuerpo rígido o blando, con una cámara para agregar agua caliente y aire, y un tubo laxo estéril desechable que estará en contacto con el pene. Las vaginas terminan en un tubo colector que contiene un filtro para separar la porción gelatinosa del eyaculado, a fin de que y no interfiera con la evaluación e

inseminación”. (universidad nacional autónoma de México, manual de la práctica de profundización en reproducción equina, pág. 28-29).

La vagina debe de estar a una temperatura entre los 39-42°.

Después o durante la colecta, el semen debe ser filtrado y luego debe separarse la fracción gelatinosa de la fracción espermática, una vez filtrado se introduce una tira de pH para determinar este valor de cada muestra.

Antes de refrigerar la muestra se realizan las respectivas diluciones de las cuales los diluyentes deben de estar a una temperatura de 37° mínimamente. Se adiciona un ml de semen y un ml de diluyente en un tubo Falcón respectivamente para cada dilución, se sella, se tabula y se deja climatizar unos minutos antes de refrigerarlo para evitar un shock térmico.

Evaluación en laboratorio

Antes de realizar el conteo se realiza un chequeo rápido para detectar malformaciones en los espermatozoides.

Cuadro 3

Clasificación de anomalías espermáticas en el potro

TIPO	SEGMENTO
ANORMALIDADES PRIMARIAS	
ESPERMATOZOIDE CON CABEZA DE FORMA: — PIRIFORME — LANCEOLADA — ANGOSTA O ESTRECHA — OTRAS FORMAS	ACROSOMA — DESPRENDIDO — RUGOSO — PEQUEÑO
ESPERMATOZOIDE CON CABEZA DE TAMAÑO: — PEQUEÑO/MICROCEFALIA — GRAN DE/MACROCEFALIA — OTROS TIPOS ABORTIVOS	CABEZA — AMORFA — MICROCEFALIA — MACROCEFALIA — DESPRENDIDA
ESPERMATOZOIDE CON FORMA: DOBLE DE CABEZA O COLA	CUELLO — PARAXIAL
ESPERMATOZOIDE CON COLA ANORMAL	— RETROAXIAL
ESPERMATOZOIDE CON TRACTO INTERMEDIO ANORMAL	— CON GOTA CITOPLASMATICA
ESPERMATOZOIDE CON CABEZA NORMAL Y COLA ALTAMENTE ENROLLADA	TRACTO INTERMEDIO — QUEBRADO — CON GOTA CITOPLASMATICA — FIBRILAR
CABEZA SUELTA ANORMAL	
ANORMALIDADES SECUNDARIAS	COLA
• ESPERMATOZOIDE CON GOTA CITOPLASMATICA PROXIMAL • ESPERMATOZOIDE CON GOTA CITOPLASMATICA DISTAL • ESPERMATOZOIDE CON COLA ENROLLADA • ESPERMATOZOIDE CON ACROSOMA DESPRENDIDO • ESPERMATOZOIDE CON COLA QUEBRADA • CABEZA SUELTA NORMAL	— ENROLLADA — QUEBRADA — ENROLLADA ALREDEDOR DE LA CABEZA

Fuente. Journal Manager, cuadro número 3 disponible en:

[publicador,+Journal+manager,+Archivo+editado.html](#)

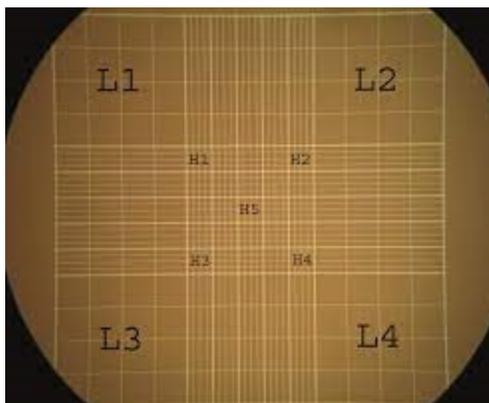
La concentración espermática se determinarse manualmente mediante una cámara hemocito métrico (Cámara de Neubauer) que aun siendo un método tedioso y con alta variabilidad frente al recuento espectrofotométrico, ha sido empleado habitualmente para determinar el número de partículas por unidad de volumen en un líquido como se describe en el documento (Valoración rutinaria de muestras seminales, 2023, universidad Cordoba, Facultad de medicina veterinaria).

Para realizar un conteo adecuado es fundamental el uso de una micropipeta para la medición precisa de volúmenes de líquido.

Con diferentes micropipetas se saca el volumen necesario (20 microlitros) de cada muestra refrigerada y se dejan a baño maría hasta que alcancen los 37° y la reactivación celular sea adecuada

Figura 4

Cámara de Neubauer bajo microscopio



Fuente. Capítulo 7 Errores en los hemogramas automatizados: los interferentes y sus correcciones, Pag 318, figura 7.11.

Nota. Visión microscópica de la cámara de Neubauer (mejorada/improved) con un objetivo de 4x (aumento total de 40x). Para el conteo celular se tuvo en cuenta una sola sección 4x4 en los espacios representados con “L” en la figura 4.

Fórmula empleada: # de células / # de cuadros que se tuvieron en cuenta, para determinar el promedio y finalmente promedio x valor de la dilución (1).

Tabla 2

Parámetros espermáticos de semen equino en los diferentes tiempos de refrigeración estudio realizado por Giraldo S., Natalia; Correa Villegas, Juan Esteban; Vásquez Araque, Neil, Evaluación del efecto de la refrigeración Sobre la calidad del semen equino

PARAMETROS TIEMPOS DE REFRIGERACIÓN	% MOVILIDAD	% VIABILIDAD	% HOST
24 HORAS	91.67±6.84	85.40±8.01	103.19±7.44
48 HORAS	21.79±3.42	21.8±8.94	45.86±21.77

Fuente: Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, vol. 1, pagina 13 disponible en:

<https://www.redalyc.org/pdf/3214/321428499001.pdf>

Resultados

Cuadro 5

Características microscópicas y químicas

	Presencia de malformaciones espermáticas	PH
Equino #1	Doble cabeza	7.2
Equino #2	No	7.2
Equino #3	Doble cabeza, cola enrollada	7.3

Nota. Estas características se evalúan previamente a realizar las diluciones.

Cuadro 6

Características macroscópicas de las diluciones

Característica	Color	Cantidad de sedimento medido en milímetros
Botusemen Gold	Blanco	2 mm
Ramp	Marrón claro	9 mm
Revolution	Blanco	6 mm

Nota. Se aclara que el volumen de cada dilución es de 8ml con un valor de medida de 7 cm, en la muestra de cada equino las características fueron las mismas sin presentar variación en el tiempo.

Tabla 3

Concentración espermática

Concentración espermática (millones/ml)	
Equino #1	170
Equino #2	180
Equino #3	180

Nota. Los valores de cada individuo se encuentra dentro un promedio adecuado (150-300 millones/ml) como se determina en la tabla 1

Tabla 4

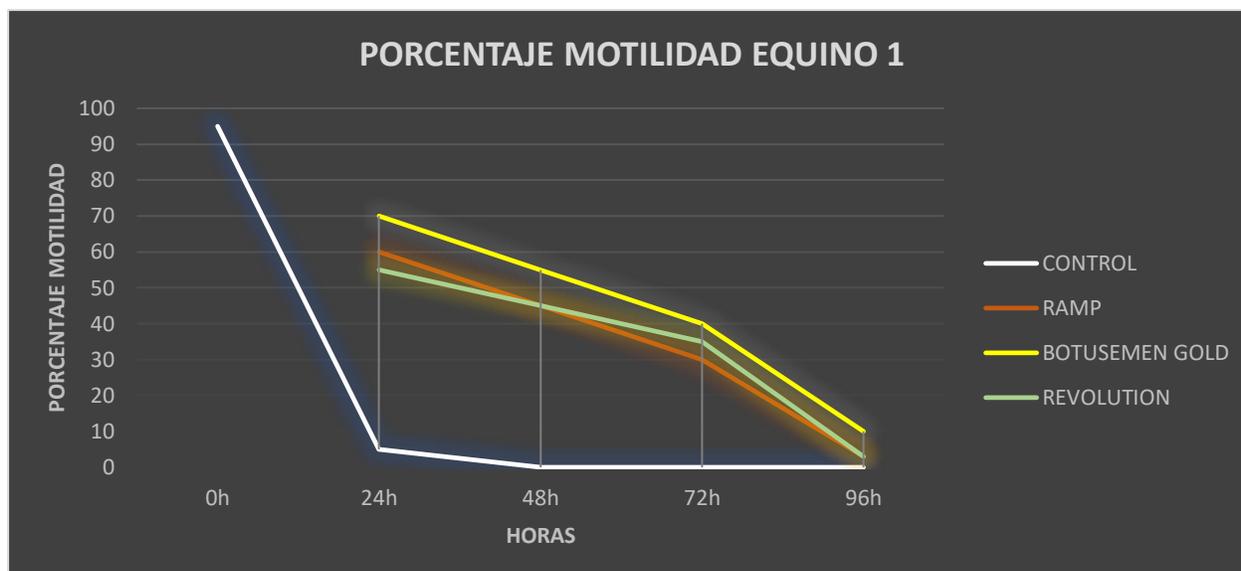
Porcentaje de motilidad espermática equino #1

Equino 1 Porcentaje de motilidad					
TIEMPO/HORAS	0h	24h	48h	72h	96h
CONTROL	95	5	0	0	0
RAMP		60	45	30	3
BOTUSEMEN GOLD		70	55	40	10
REVOLUTION		55	45	35	3

Nota: porcentaje de motilidad espermática del equino #1 de las diferentes diluciones con sus respectivos controles en intervalos de veinticuatro horas

Figura 5

Porcentaje de motilidad equino #1



Nota. El grafico representa los resultados del porcentaje de la motilidad espermática de la muestra del equino #1 donde la dilución con Botusemen gold presenta mayor actividad espermática con el tiempo mientras Ramp y Revolution presentan actividad celular significativa hasta las 48 horas, pero un descenso casi total a las 96 horas.

Tabla 5

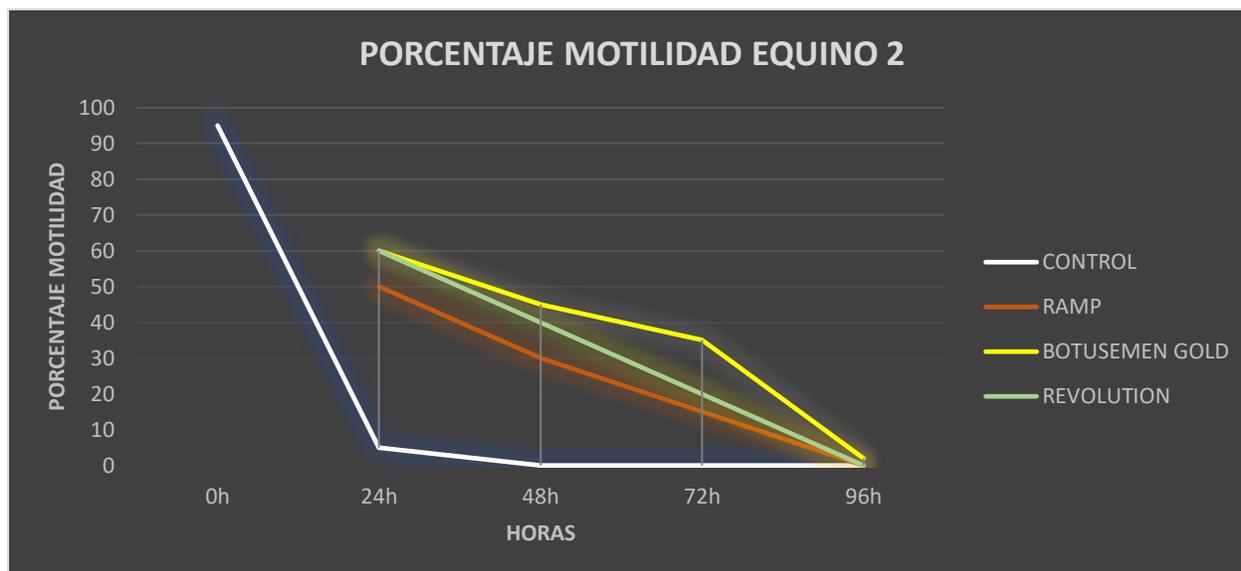
Porcentaje de motilidad espermática equino #2

Equino 2 Porcentaje de motilidad					
TIEMPO/HORAS	0h	24h	48h	72h	96h
CONTROL	95	5	0	0	0
RAMP		50	30	15	0
BOTUSEMEN GOLD		60	45	35	2
REVOLUTION		60	40	20	0

Nota. porcentaje de motilidad espermática del equino #2 de las diferentes diluciones con sus respectivos controles en intervalos de veinticuatro horas

Figura 6

Porcentaje de motilidad equino #2



Nota. El grafico representa los resultados del porcentaje de la motilidad espermática de la muestra del equino #2 donde principalmente se identifica que la dilución con Botusemen gold presenta una diferencia de actividad espermática muy significativa hasta las setenta y dos horas comparado con Ramp y Revolution.

Tabla 6

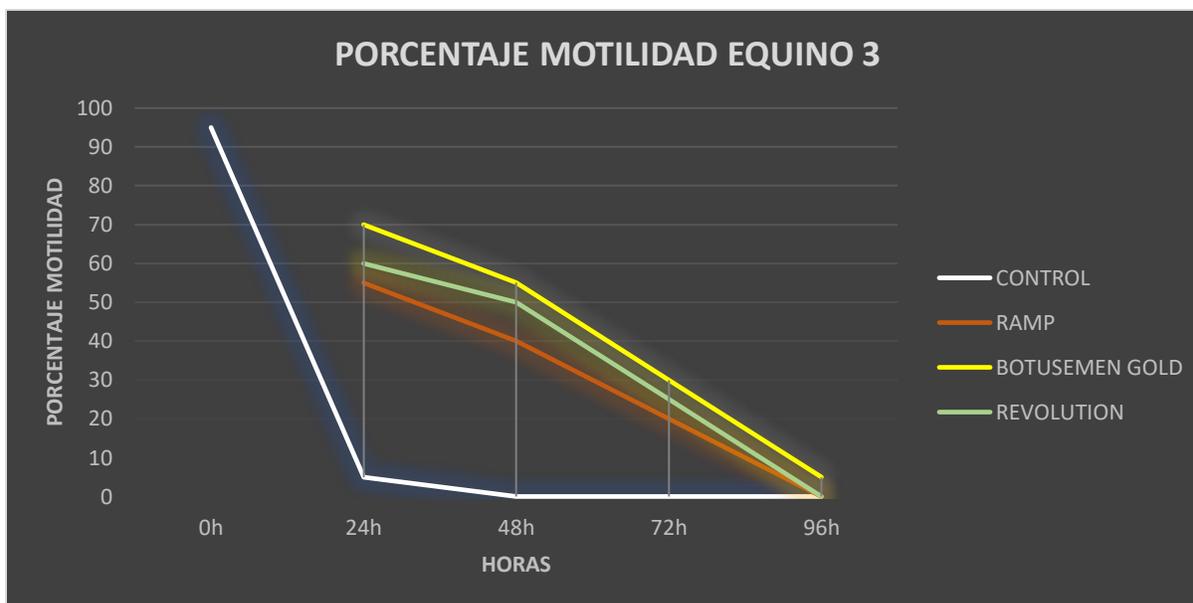
Porcentaje de motilidad espermática equino #3

Equino 3 Porcentaje de motilidad					
TIEMPO/HORAS	0h	24h	48h	72h	96h
CONTROL	95	5	0	0	0
RAMP		55	40	20	0
BOTUSEMEN GOLD		70	55	30	5
REVOLUTION		60	50	25	0

Nota. Porcentaje de motilidad espermática del equino #3 de las diferentes diluciones con sus respectivos controles en intervalos de veinticuatro horas

Figura 7

Porcentaje de motilidad equino #3



Nota. El grafico representa los resultados del porcentaje de la motilidad espermática de la muestra del equino #3 donde se observa una disminución paralela entre los tres diluyentes siendo Botusemen Gold el producto que conserva mayor actividad celular con el tiempo.

Tabla 7

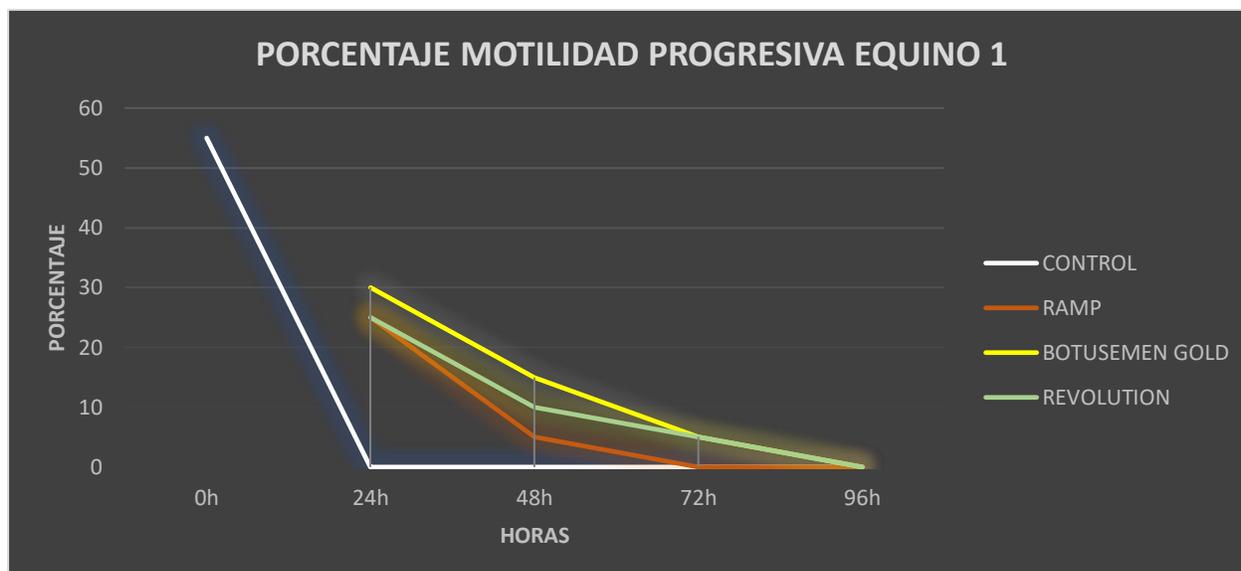
Porcentaje de motilidad progresiva equino #1

Equino 1 Porcentaje Motilidad progresiva					
TIEMPO/HORAS	0h	24h	48h	72h	96h
CONTROL	55	0	0	0	0
RAMP		25	5	0	0
BOTUSEMEN GOLD		30	15	5	0
REVOLUTION		25	10	5	0

Nota. Porcentaje de motilidad progresiva del equino #1 de las diferentes diluciones con sus respectivos controles en intervalos de veinticuatro horas

Figura 8

Porcentaje de motilidad progresiva equino #1



Nota. El grafico representa los resultados del porcentaje de la motilidad progresiva de la muestra del equino #1 donde Botusemen gold presenta mayor actividad hasta las primeras cuarenta y ocho horas igualándose con Revolution después de las setenta y dos horas.

Tabla 8

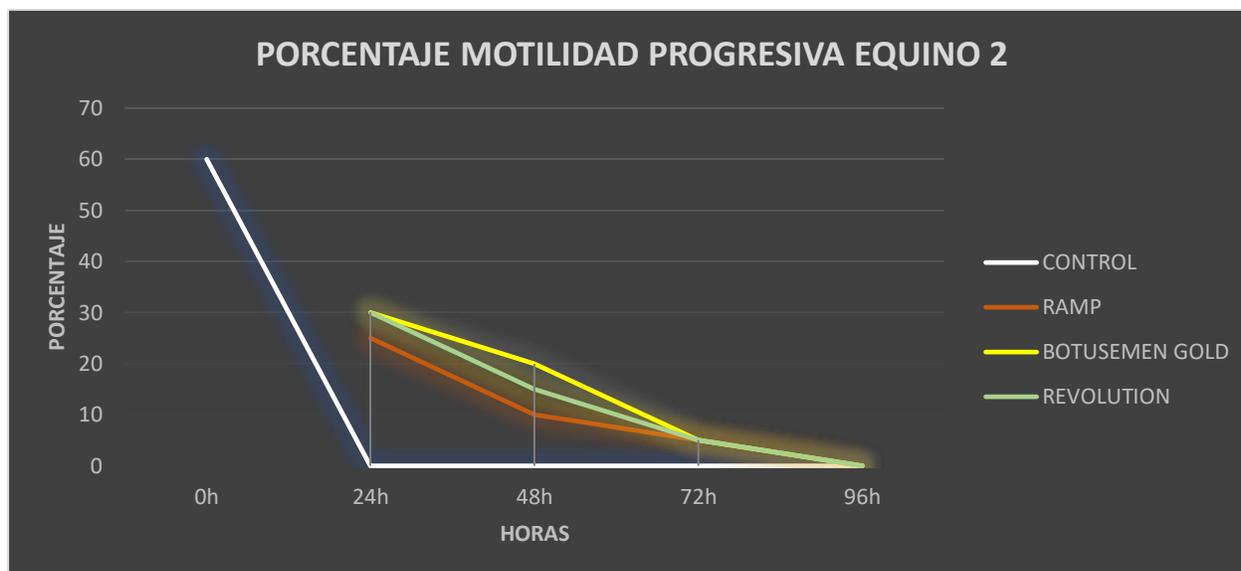
Porcentaje de motilidad progresiva equino #2

Equino 2 Porcentaje Motilidad progresiva					
	0h	24h	48h	72h	96h
CONTROL	60	0	0	0	0
RAMP		25	10	5	0
BOTUSEMEN GOLD		30	20	5	0
REVOLUTION		30	15	5	0

Nota. porcentaje de motilidad progresiva del equino #2 de las diferentes diluciones con sus respectivos controles en intervalos de veinticuatro horas

Figura 9

Porcentaje de motilidad progresiva equino #2



Nota. El grafico representa los resultados del porcentaje de la motilidad progresiva de la muestra del equino #2 donde se presenta mayor actividad con Botusemen gold hasta las primeras cuarenta y ocho horas igualándose las tres diluciones en las setenta y dos horas

Tabla 9

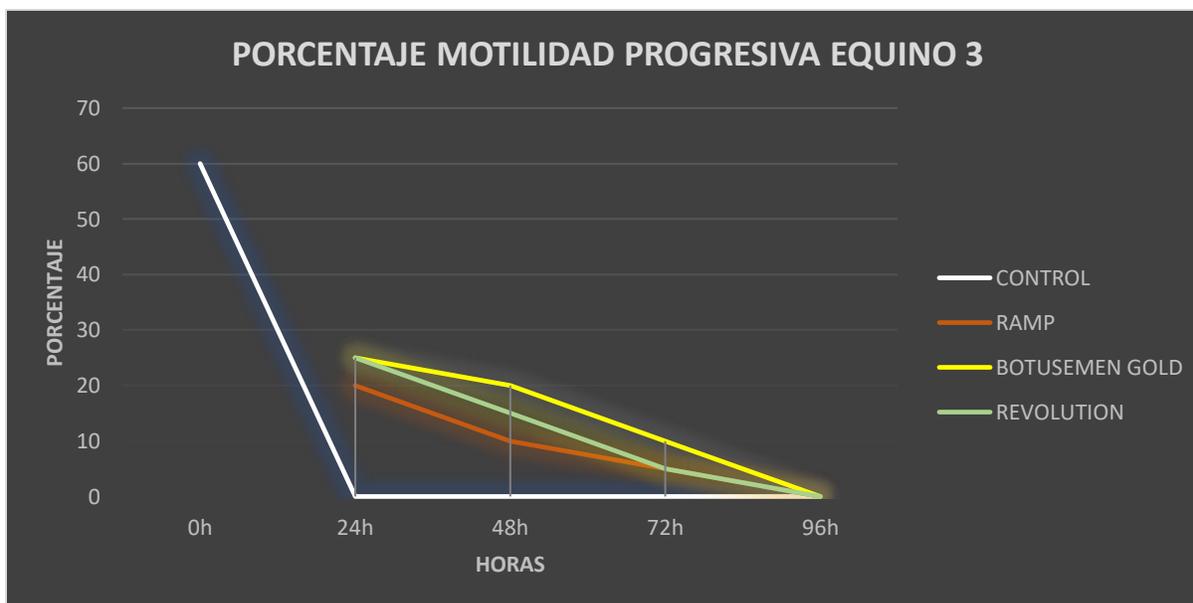
Porcentaje de motilidad progresiva equino #3

Equino 3 Porcentaje Motilidad progresiva					
TIEMPO/HORAS	0h	24h	48h	72h	96h
CONTROL	60	0	0	0	0
RAMP		20	10	5	0
BOTUSEMEN GOLD		25	20	10	0
REVOLUTION		25	15	5	0

Nota. porcentaje de motilidad progresiva del equino #3 de las diferentes diluciones con sus respectivos controles en intervalos de veinticuatro horas.

Figura 10

Porcentaje de motilidad progresiva equino #3



Nota. El grafico representa los resultados del porcentaje de la motilidad progresiva de la muestra del equino #3 donde la muestra con Botusemen gold presenta mayor actividad hasta las setenta y dos horas, donde se resalta valores inferiores en el primer control comparado con los equinos #1 y #2.

Discusión

Los diluyentes seminales cumplen con la función de prolongar la supervivencia de los espermatozoides sometidos a refrigeración (6°) indiferentemente a las marcas comerciales evaluadas.

A pesar de no seguir estrictamente las indicaciones de preparación de cada producto o llevar a cabo diferentes técnicas de laboratorio como se recomiendan en los diferentes estudios de las biotecnologías de la reproducción se prolonga la supervivencia de forma óptima hasta las 48 horas, considerándolo así cuando la motilidad total es igual o mayor al cincuenta por ciento, comparado con los grupo control que al enfrentarse a un estrés térmico sin un sustrato adicional a las 24 horas no presenta actividad celular.

El hecho de que los valores de las muestras diluidas con Botusemen gold hayan presentado una constante superioridad frente a los productos Ramp y Revolution está determinado por su amplia gama de sustratos que son fundamentales para la supervivencia espermática en el medio de suspensión en el que se encuentran.

Dentro de estos sustratos se encuentra la caseína, glucosa, aminoácidos, antioxidantes y colesterol. Como lo indica el laboratorio en (Botupharma, producto, Botusemen gold) descritas sus funciones en las páginas 20-22

Por otra parte, Revolution está compuesto por antibióticos como la amikacina, Penincilina y minerales como el potasio como lo indica el laboratorio en (Reproduction resources, product 102030).

finalmente, Ramp que no se identifica composición la composición, pero en base a los resultados si consta mínimamente de alguna sustancia buffer.

Los resultados muestran una constante y es que con Botusemen Gold prolonga más la actividad espermática, manteniendo un rango óptimo de motilidad total del 50 por ciento hasta las 48 horas de preparada la dilución y manteniendo con el tiempo valores más altos en estas características que Ramp y Extensor considerando que a partir de las 48 horas todas las muestras no se consideran óptimas para una IA efectiva.

Teniendo las similitudes fisiológicas de equino entre si la variabilidad de resultados es significativa lo cual indica que para identificar individuos con métricas más similares se requiere de pruebas clínicas complementarias como exámenes hematológicos o evaluación ecográfica testicular.

Conclusiones

Botusemen Gold demostró ser el producto que logra mantener las mejores características espermáticas con el tiempo siendo determinante las primeras 48 horas posteriores a la dilución manteniendo una motilidad total igual o mayor al 50 por ciento considerándose así un valor óptimo o favorable para una inseminación artificial efectiva como describen (Castro Cruz, J Chacón Jaramillo, L) gracias a su amplia cantidad de sustancias buffer presentes en el producto (página 17)

Considerando el fin de estos diluyentes que es extender la vida de los espermatozoides los tres brindan una viabilidad óptima hasta las 24 horas de almacenamiento en refrigeración.

Teniendo en cuenta la facilidad, simpleza y economía del procedimiento realizado en el estudio se brinda una buena alternativa a los productores que no están involucrados completamente en este mercado para comercializar y transportar este producto en mejores condiciones hasta al menos las primeras 48 horas lo cual amplía el área de mercado significativamente comparado con una muestra semen fresco sin diluyente la cual debe de ser utilizada prácticamente de inmediato.

Recomendaciones

Se debe de tener en cuenta las indicaciones que cada laboratorio indica en su producto desde con que prepararlo hasta como diluirlo ya que cada uno puede presentar algunas variaciones, ya al momento de hacer las diluciones y almacenar la muestra hacer las transiciones térmicas de forma adecuada.

Sobre el método de almacenamiento de refrigeración la estabilidad de la temperatura (2-8°) es fundamental para que no produzca la ineficiencia espermática o directamente la muerte celular por shock térmico.

Al momento de manipular la muestra también hay que tener en cuenta no exponer a la luz solar dado a su fotosensibilidad.

Finalmente, si se va a hacer un uso total o parcial la reactivación espermática se suele hacer a baño varia poniendo el recipiente donde se esté almacenando la muestra, nuevamente estos cambios van a repercutir de forma negativa en la supervivencia y así constante si se expone y almacena en más ocasiones.

Bibliografía

- Allen W. (2005). The Development and Application of the Modern Reproductive Technologies to Horse Breeding, pp 310-329. *Reproduction in Domestic Animals*, Editorial Wiley Blackwell, UK.
- Ampuero, A., Arriaga, I., Huanca, W., y Terreros, M. (2015). Efecto de tres crioprotectores en la criopreservación de espermatozoides epididimarios de alpaca. Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v26n3/a08v26n3.pdf>
- Barrios, M., Huanca, L., Revuelta, L., y Rodriguez, G. (2016). Niveles de glucosa y triglicéridos en plasma seminal y motilidad espermática en cobayos alimentados con 10% más de energía digestible. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 10(1), 75-82.
https://doi.org/10.5209/rev_RCCV.2016.v10.n1.52501
- Catalogo comercial botupharma disponible en: [BotuSÊMEN® GOLD - Botupharma](#)
- Castro, J., y Chacón, J. (2016). Aspectos generales del proceso de conservación de semen equino: una revisión desde la congelación espermática. *Conexión Agropecuaria JDC*, 6(1), 45–64.
Disponible en: <https://revista.jdc.edu.co/index.php/conexagro/article/view/54>
- Celis, A., Henao, A., Montoya, J., Restrepo, G., y Usuga, A. (2014). Evaluación de dos diluyentes para la criopreservación de semen de caballos de la raza criollo colombiano.
Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rlsi/v11n2/v11n2a08.pdf>
- Córdova Izquierdo, A, Iglesias Reyes, A, Guerra Liera, J, Villa Mancera, E, Gómez Vázquez, A, Sánchez Aparico, P, Bedolla Cedeño, C, Olivares Pérez, J, Sánchez Sánchez, R,
Características y tipos de diluyentes para la conservación del semen de cerdo, 2021, BM editores.

Dra. Boeta, M, MVZ. Díaz Duran, M, MVZ, Hayen Valles, S, Manual de la práctica de profundización en reproducción equina, universidad nacional autónoma de México.

Dutra, C, Gimenez, F, Martinez, M, 2013, Diluyentes de semen equino para su uso fresco y refrigerado por 24 y 48 horas. Comparación entre leche descremada uht y un diluyente comercial (equipro™), Tesis pregrado, Universidad de la república Facultad de veterinaria, disponible en:

<https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/2739/1/FV-29865.pdf>

Elgueta, C. (2018). Actualización en técnicas de criopreservación de espermatozoides equinos.

Disponible en:

<https://repositorio.udla.cl/xmlui/bitstream/handle/udla/282/a41740.pdf?sequence=1&isAllowed=>

López, E. (2021). Utilidad del dimetilsulfóxido para la criopreservación de muestras de líquido sinovial. Disponible en:

https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/54720/TFG_Lopez_Bardon_Elsa.pdf?sequence=3

Pineda, S., y Pinilla, S. (2007). Comparación de dos diluyentes Lactosa-glicerol-yema de huevo; inra-dformamida-yema de huevo en la preservación de semen equino. Disponible en:

https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1314&context=medicina_veterinaria

Rangel Núñez (2023). Análisis de técnicas de congelación de semen equino empleadas, tesis de pregrado, universidad Antonio Nariño.

http://repositorio.uan.edu.co/bitstream/123456789/7485/1/2023_Edison%20Dar%C3%A3Do%20Rangel%20N%C3%BA%C3%B1ez.pdf

-Rangel, E, 2023, Análisis de técnicas de congelación de semen equino empleadas En la actualidad. Tesis de pregrado, Universidad Antonio Nariño, disponible en:
http://repositorio.uan.edu.co:8080/bitstream/123456789/7485/1/2023_Edison%20Dar%C3%A3Do%20Rangel%20N%C3%BA%C3%B1ez.pdf

Reproduction resources, producto categories, disponible en: [Product Categories - Reproduction Resources](#)

Restrepo, G, Ocampo, D, Velásquez, A, 2013, evaluación de la movilidad del semen crio preservado de caballos criollo colombiano por un sistema analizador de clase, disponible en: <https://revistas.udca.edu.co/index.php/ruadc/article/view/917/1109>

Rodríguez, L; Ambrosius, B; Fumuso, E, 2018, Azoospermia, como causa de infertilidad en padrillo, Facultad de Ciencias Veterinarias UNCPBA.

-Sandoval, C. (2010). Efecto sobre motilidad espermática de distintas leches descremadas comerciales utilizadas como diluyente de refrigeración de semen equino. Disponible en:
<https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/131373/Efectosobre-motilidad-espermatICA-de-distintas-leches-descremadas-comerciales-utilizadascomo-diluyente-de-refrigeracion-de-semen-equino.pdf?sequence=1&isAllowed=>

Universidad de Córdoba, Facultad de veterinaria, 2006, Reproducción animal departamento de medicina y cirugía animal disponible en: [Reproducción Animal - Dpto. de Medicina y cirugía Animal \(uco.es\)](#)