

Evaluación microbiológica y calidad espermática del semen ovino mediante la comparación de
antibióticos en el diluyente seminal

Laura Noelia Carreño Tibana.

Trabajo de Grado para Optar al Título de Zootecnista

Director

Laura Vanessa Álvarez Palomino

MSc. Medica Veterinaria y Zootecnista

Codirector

Daniel Felipe Torres Ruda

MSc. Zootecnista

Universidad Industrial de Santander

Instituto de Proyección Regional y Educación a Distancia IPRED

Programa de Zootecnia

Bucaramanga.

2025

Dedicatoria

A Dios, fuente de vida y fortaleza, por guiarme en cada paso de este camino, darme sabiduría en los momentos de duda y fuerzas en las pruebas que parecían imposibles.

A mis padres, Hugo Noé Carreño y Blanca Aide Tibaná, quienes con amor, sacrificio y ejemplo me han enseñado el verdadero valor del esfuerzo y la perseverancia. Este logro también es de ustedes, porque sin su apoyo incondicional no habría llegado hasta aquí.

A mis hermanas, Jackelin y Daniela, por ser mi compañía constante, mis consejeras y amigas inigualables, quienes siempre me alentaron a seguir adelante sin importar las dificultades.

A mis sobrinos, Ángela, Logan y Antonella, porque su alegría y ternura han sido un motor en mi vida, recordándome que todo esfuerzo tiene un propósito y que los sueños sí se pueden alcanzar.

Este trabajo es para ustedes, pilares fundamentales de mi vida, quienes con su amor y confianza me han inspirado rendirme nunca.

Agradecimientos

A Dios, por ser mi guía y darme la fortaleza necesaria para culminar este proceso académico con fe y esperanza.

A la Universidad Industrial de Santander, institución que me abrió las puertas y me brindó las herramientas para formarme como profesional en Zootecnia.

A mis directores, Laura Vanessa Álvarez Palomino y, de manera muy especial, al Magíster Daniel Felipe Torres Ruda, cuya dedicación, orientación y compromiso fueron determinantes en la culminación de este trabajo. Más allá de su papel como director, agradezco su amistad, sus valiosos consejos y el acompañamiento constante que marcaron una diferencia significativa tanto en mi formación académica como en mi crecimiento personal. A la docente Luisa Mendoza, por su disposición y generosidad al compartir sus conocimientos, que aportaron de manera importante a este proceso.

A mis compañeros de carrera, por los aprendizajes compartidos, el esfuerzo conjunto y los momentos que hicieron más llevadero este camino universitario.

A mis queridas amigas, Taciara Lima y Johana Duarte Ruiz, por su compañía sincera, su apoyo desinteresado y por estar presentes en cada etapa de este proceso, brindándome siempre palabras de aliento y confianza.

Finalmente, a mi familia, por estar siempre a mi lado, por su apoyo incondicional y por ser mi mayor motivación para alcanzar este objetivo.

Tabla de Contenido

	Pág.
Introducción	11
1. Objetivos	14
1.1. Objetivo General	14
1.2. Objetivos Específicos.....	14
2. Marco teórico	15
2.1. Origen de los ovinos en Colombia.....	15
2.1.1. Importancia económica.....	16
2.1.2. Manejo reproductivo de los ovinos.....	17
2.2. Métodos de colecta	18
2.2.1. Electroeyaculación	19
2.2.2. Vagina artificial	20
2.2.3. Contaminación bacteriana durante la colecta	21
2.3. Evaluación de la calidad seminal	23
2.3.1. Métodos de conservación de semen.....	24
2.4. Uso de semen refrigerado en reproducción animal.....	25
2.5. Normativa y bioseguridad en la manipulación del semen ovino	25
3. Metodología	26
3.1. Ubicación geográfica	26
3.2. Selección y Manejo de Animales.....	26
3.3. Recolección de semen.....	26
3.4. Evaluación microbiológica y calidad espermática.....	27

3.5.	Análisis estadístico.....	28
3.6.	Consideraciones éticas	29
4.	Resultados y discusión.....	29
5.	Conclusiones	43
6.	Recomendaciones	44
	Referencias Bibliográficas	46

Lista de Tablas

Tabla 1. <i>Taxonomía Ovina</i>	16
Tabla 2. Géneros y especies bacterianas aisladas en semen ovino según tratamiento experimental.	38
Tabla 3. <i>Géneros de hongos aislados en semen ovino según tratamiento experimental</i>	41

Lista de Figuras

Figura 1. Motilidad individual progresiva (%)	30
Figura 2. Recuento bacteriano en semen ovino sin antibióticos (Control).....	32
Figura 3. Recuento bacteriano en semen ovino con gentamicina.....	33
Figura 4. Recuento bacteriano en semen ovino con estreptomicina.....	34
Figura 5. Recuento bacteriano en semen ovino con penicilina.....	35
Figura 6. Variación del recuento bacteriano entre tratamientos	36
Figura 7. Observación microscópica de bacterias en tinción de Gram.....	39
Figura 8. Bacilos Gram negativos (<i>Escherichia coli</i>) observados en semen ovino mediante tinción de Gram.....	40
Figura 9. Cocos Gram negativos (<i>Staphylococcus aureus</i>) observados en semen ovino mediante tinción de Gram.....	40
Figura 10. Bacilos Gram positivos (<i>Bacillus sp.</i>) observados en semen ovino mediante tinción de Gram.	41
Figura 11. Levaduras (<i>Candida sp.</i>) observadas en semen ovino mediante tinción con azul de lactofenol.....	42
Figura 12. Hongo filamentoso (<i>Aspergillus sp.</i>) observado en microscopio a 400x.	43
Figura 13. Hongo filamentoso (<i>Aspergillus sp.</i>).....	43

Glosario

Agar nutritivo: medio de cultivo general utilizado para el crecimiento de bacterias

Agar Sabouraud dextrosa: medio selectivo empleado para el crecimiento de hongos y levaduras

Bacilos: bacterias con forma alargada en bastón

Calidad espermática: conjunto de características que determinan la capacidad fecundante del semen

Candida: género de levaduras que puede contaminar el semen

Contaminación bacteriana: presencia de bacterias indeseables en el semen

Diluyente seminal: solución que preserva la viabilidad del semen durante almacenamiento

Escherichia coli: bacteria gram negativa que afecta la calidad espermática

Gentamicina: antibiótico eficaz contra bacterias gram negativas

Gram positivo / Gram negativo: clasificación de bacterias según la tinción de gram

Inseminación artificial: técnica de reproducción que introduce semen en la hembra

Motilidad espermática: capacidad de movimiento de los espermatozoides

Penicilina: antibiótico eficaz principalmente contra bacterias gram positivas

Staphylococcus spp.: bacterias gram positivas que reducen la calidad seminal

UFC: unidades formadoras de colonia que indican la cantidad de microorganismos viables

Viabilidad espermática: proporción de espermatozoides vivos en una muestra

Resumen

Título: Evaluación microbiológica y calidad espermática del semen ovino mediante la comparación de antibióticos en el diluyente seminal

Autor: Laura Noelia Carreño Tibaná**

Palabras Clave: semen ovino, antibióticos, motilidad espermática, contaminación bacteriana, inseminación artificial

Descripción:

Procesos de manipulación de semen son susceptibles a contaminación de bacterias y hongos dados los cambios de temperatura y el uso de varios diluyentes. Por ello, se evaluó el efecto de la adición de antibióticos en el diluyente sobre la calidad microbiológica y espermática del semen ovino durante el almacenamiento a 5 °C. Se utilizaron cuatro tratamientos: control sin antibióticos (G0), gentamicina (G1), estreptomycin (G2) y penicilina (G3). La calidad espermática se analizó en tres tiempos de almacenamiento (0, 24 y 48 h), considerando parámetros como motilidad progresiva y motilidad masal. La calidad microbiológica se evaluó mediante recuento UFC/ml e identificación de géneros. Los resultados mostraron que la motilidad espermática disminuyó con el tiempo de refrigeración, siendo la gentamicina el antibiótico que mejor preservó la viabilidad y funcionalidad de los espermatozoides. En cuanto a la carga bacteriana, todos los antibióticos contribuyeron a reducir la proliferación microbiana en comparación con el control, aunque ninguno logró su eliminación completa. El análisis microbiológico permitió identificar bacterias de los géneros *Escherichia*, *Staphylococcus* y *Bacillus*, así como levaduras (*Candida*) y hongos filamentosos (*Aspergillus* y *Penicillium*), todos asociados a la reducción de la calidad seminal. Se recomienda realizar nuevos estudios con semen refrigerado y postdescongelado que evalúe otros criterios de funcionalidad espermática y diferentes diluyentes enriquecidos con antibióticos.

** Instituto de Proyección Regional y Educación a Distancia. Programa Zootecnia. Director: Laura Vanessa Álvarez Palomino MSc. Médica Veterinaria y Zootecnista. Codirector: Daniel Felipe Torres Ruda MSc Zootecnista.

Abstract

Title: Microbiological evaluation and sperm quality of ovine semen by comparing antibiotics in the seminal diluent

Author(s): Laura Noelia Carreño Tibaná**

Key Words: ram semen, antibiotics, sperm motility, bacterial contamination, artificial insemination.

Description:

Processes of semen handling are susceptible to contamination by bacteria and fungi due to temperature changes and the use of various extenders. Therefore, the effect of adding antibiotics to the extender on the microbiological and sperm quality of ram semen during storage at 5 °C was evaluated. Four treatments were used: control without antibiotics (G0), gentamicin (G1), streptomycin (G2), and penicillin (G3). Sperm quality was analyzed at three storage times (0, 24, and 48 h), considering parameters such as progressive motility and mass motility. Microbiological quality was assessed through CFU/ml counts and genus identification. The results showed that sperm motility decreased with refrigeration time, with gentamicin being the antibiotic that best preserved sperm viability and functionality. Regarding bacterial load, all antibiotics contributed to reducing microbial proliferation compared to the control, although none achieved complete elimination. The microbiological analysis allowed the identification of bacteria from the genera *Escherichia*, *Staphylococcus*, and *Bacillus*, as well as yeasts (*Candida*) and filamentous fungi (*Aspergillus* and *Penicillium*), all associated with reduced semen quality. It is recommended to conduct further studies with refrigerated and post-thawed semen that evaluate other sperm functionality criteria and different extenders enriched with antibiotics.

**Institute of Regional Outreach and Distance Education. Faculty of Zootechnics. Director: Laura Vanessa Álvarez Palomino, MSc, Veterinarian and Animal Scientist. Co-Director: Daniel Felipe Torres Ruda, MSc, Animal Scientist.

Introducción

En la actualidad, las biotecnologías reproductivas han cobrado una importancia significativa dentro de los sistemas de producción animal, dado que permiten acelerar el progreso genético, optimizar el uso de reproductores superiores y mejorar la eficiencia reproductiva (Moula et al., 2024). Una de las técnicas más utilizadas en este ámbito es la inseminación artificial (IA), la cual se ha implementado con éxito en especies como bovinos, porcinos y, en menor medida, en ovinos (Thibier, M. et al., 2018). Sin embargo, a pesar de los beneficios potenciales de esta técnica en la producción ovina, su aplicación aún presenta limitantes técnicas que deben ser abordadas para asegurar su efectividad (Moula et al., 2024).

Una de las principales limitaciones en la aplicación de la inseminación artificial en ovinos es la conservación del semen (Morrell, JM et al., 2019). La viabilidad espermática durante el almacenamiento refrigerado o congelado depende en gran medida de factores como la composición del diluyente, las condiciones del medio, el protocolo de enfriamiento y la presencia de contaminantes (Samantaray et al., 2025). Dentro de estos últimos, la contaminación bacteriana representa un problema crítico que afecta la integridad del eyaculado, disminuye la motilidad y vitalidad espermática, y puede incluso provocar infertilidad, reduciendo la eficiencia de los programas de reproducción (Saha et al., 2022).

La presencia de microorganismos en el semen ovino puede originarse de diversas fuentes, como la flora bacteriana del tracto reproductor, la higiene inadecuada durante la recolección, el manejo de los utensilios o las condiciones del ambiente (Armentia et al., 2017). Estos microorganismos pueden multiplicarse rápidamente durante el almacenamiento del semen,

interfiriendo con la funcionalidad de los espermatozoides e incluso generando compuestos tóxicos que afectan su metabolismo (Serrano et al., 2020). Para contrarrestar esta situación, se ha establecido como práctica común la adición de antibióticos en los diluyentes seminales. No obstante, la selección adecuada del antibiótico y su concentración debe ser cuidadosamente estudiada, ya que algunos pueden tener efectos espermicidas o no ser eficaces frente a los patógenos presentes en el semen (López et al., 2022).

En Colombia, y particularmente en la provincia de García Rovira, la producción ovina ha sido una actividad tradicional que recientemente ha empezado a integrar prácticas más tecnificadas (Silva et al., 2022). Sin embargo, existen limitaciones en cuanto a la implementación efectiva de programas de inseminación artificial, debido a la falta de estudios aplicados al contexto local y a la ausencia de protocolos ajustados a las condiciones ambientales, sanitarias y productivas de la región (Flórez, 2022). En este sentido, evaluar el impacto del uso de antibióticos en el diluyente seminal sobre la calidad del semen ovino almacenado se convierte en una necesidad técnica y científica que puede contribuir al fortalecimiento de la producción ovina regional.

Este trabajo de investigación plantea la evaluación microbiológica y espermática de muestras de semen ovino tratadas con diferentes antibióticos durante el almacenamiento a baja temperatura. Para ello, se utilizan diluyentes suplementados con Gentamicina, Estreptomycin y Penicilina, en comparación con un grupo control sin antibióticos. Las muestras se evalúan microbiológicamente para identificar la carga bacteriana y su susceptibilidad a los antibióticos. A su vez, se analiza la calidad espermática en diferentes momentos del almacenamiento (0, 24, y 48 horas), evaluando parámetros como volumen del eyaculado, concentración espermática, motilidad progresiva y masal.

Este estudio se fundamenta en un enfoque experimental con diseño factorial y análisis estadístico mediante ANOVA, utilizando el software SAS University 2025®. La expectativa es que, al determinar el efecto de los antibióticos seleccionados sobre la carga microbiana y la calidad del semen ovino, se logren identificar alternativas efectivas para su conservación. Esto permite proponer recomendaciones técnicas basadas en evidencia, con impacto directo en la eficiencia reproductiva de los rebaños ovinos de García Rovira.

Finalmente, este trabajo se proyecta como una contribución relevante al desarrollo de prácticas más eficaces en la inseminación artificial ovina, respondiendo a las necesidades productivas del sector y generando conocimiento aplicable a nivel regional. Además, abre la posibilidad de continuar investigando sobre otros aspectos relacionados con el microbiota del semen, la resistencia bacteriana a antibióticos y el perfeccionamiento de técnicas de crío preservación en especies menores. Por ello, se plantea la pregunta ¿Cómo influye la aplicación de diferentes antibióticos en el diluyente de semen ovino sobre la contaminación bacteriana y la calidad espermática?

1. Objetivos

1.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de la adición de antibióticos en el diluyente para semen ovino sobre la carga bacteriana y la calidad espermática.

1.2. Objetivos Específicos

Analizar la calidad espermática del semen ovino diluido en diferentes antibióticos durante el proceso de almacenamiento en condiciones de refrigeración a 5°C.

Determinar el efecto de los antibióticos sobre la carga bacteriana y la calidad espermática del semen ovino en refrigeración.

Identificar los géneros de bacterias y hongos presentes en el semen ovino y evaluar su posible relación con la calidad espermática.

2. Marco teórico

2.1. Origen de los ovinos en Colombia

Existen reportes que afirman que los ovinos no son autóctonos de América, sino que fueron introducidos por los colonos desde la península Ibérica (Medina et al., 2021), y los cuales fueron utilizados con fines productivos sentando así las bases de la ganadería ovina en el continente. En Colombia, los ovinos que ingresaron por la región del Caribe, posiblemente a través de La Guajira, dieron origen a la variedad conocida como Ovino Criollo Colombiano (Alvarez et al., 2020).

Gracias a su notable capacidad de adaptación, esta población se encuentra distribuida en diversos ecosistemas, desde las zonas áridas de La Guajira hasta los páramos húmedos de la región Andina (Tsartsianidou et al., 2021). Se identifican tres grupos principales: Ovino Criollo de Lana, con relevancia económica en Boyacá, Cundinamarca, Nariño y Santander; la raza sintética Mora Colombiana, presente en Boyacá, Cundinamarca y Santander; y el Ovino Criollo de Pelo, común en Costa Atlántica y los Llanos Orientales (Muñoz et al., 2022).

Tabla 1.*Taxonomía Ovina*

Taxonomía	
Reino	Animal
Subreino	Cordados
Clase	Mammalia (mamíferos)
Orden	Artiodáctilo
Rama	Ruminantia
Familia	Bovidae
Subfamilia	Caprinae
Genero	Ovis
Especie	O. orientalis

Nota. Adaptado de Salas, (2017).

2.1.1. Importancia económica

La ovinocultura aporta a la diversificación productiva y al ingreso rural en Colombia a través de carne, piel y lana, con encadenamientos crecientes hacia el sacrificio formal y el comercio especializado. En la última década el sacrificio de ovinos mostró una tendencia al alza, reflejando avances de organización sectorial y de mercado, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural ([MADR], 2020). A escala territorial, los inventarios ovinos se concentran en unos pocos departamentos y Santander mantiene participación estable dentro del total nacional, Instituto

Colombiano Agropecuario ([ICA], 2023). En 2023, el inventario ovino de Santander se estimó en 48.716 cabezas, equivalentes al 2,7 % del total del país, evidenciando su peso regional y potencial de crecimiento en sistemas de trópico alto y medio, Unidad de Planificación Rural Agropecuaria (UPRA, 2023). Este desempeño sectorial se inserta en una matriz agropecuaria donde las actividades pecuarias dominan el uso del suelo a nivel nacional, condición que favorece la articulación de la cadena ovina con la infraestructura y servicios rurales existentes, Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE, 2024).

En Santander y, particularmente, en la provincia de García Rovira (municipios como Málaga, Concepción, Cerrito, Enciso, San José de Miranda y Capitanejo), la ovinocultura constituye una alternativa económica para pequeños y medianos productores, con efectos en empleo rural, ferias y circuitos cortos de comercialización (AGROSAVIA, 2022). Registros oficiales por municipio confirman la presencia de hatos ovinos en localidades de García Rovira, lo que respalda la pertinencia de estrategias de mejoramiento sanitario, asociatividad y encadenamiento comercial en la subregión ([ICA], 2023).

2.1.2. Manejo reproductivo de los ovinos

Dada la escasez de ejemplares y a las condiciones del entorno, la reproducción de estos animales en el país se ha caracterizado por manejos sin un plan de selección definido (Assefa et al., 2022), como consecuencia se ha presentado un proceso de mestizaje el cual se ha mantenido a lo largo del tiempo, dando lugar a las razas ovinas criollas (Revelo et al., 2022), las cuales aún subsisten en pequeños grupos, sobre todo en regiones apartadas (Muñoz et al., 2022).

Sin embargo, en las últimas décadas, con el objetivo de mejorar la productividad y conservar características genéticas deseables, se han implementado estrategias reproductivas más

tecnificadas, entre ellas la inseminación artificial (IA) (Bouchra y Rahim., 2024). Esta biotecnología ha permitido la introducción de genética mejorada sin la necesidad de trasladar reproductores, facilitando el mejoramiento genético en rebaños locales y reduciendo la consanguinidad (Mutinda et al., 2024).

El manejo reproductivo mediante inseminación artificial ha mostrado ser variable dependiendo de la disponibilidad de tecnología y recursos en cada región (Gebre et al., 2022), en algunos sistemas productivos, la IA se ha realizado con semen fresco o refrigerado, mientras que en otros se ha optado por el uso de semen congelado, lo que ha requerido el desarrollo de protocolos específicos para la sincronización del celo y la preparación de las hembras receptoras (Asaduzzaman et al., 2022), no obstante, la eficiencia de este proceso depende en gran medida de la calidad del semen utilizado, lo que hace indispensable la aplicación de métodos adecuados de colecta, procesamiento y conservación del material genético (Abulbashar, 2022).

La calidad espermática influye directamente en la tasa de concepción, por lo que es necesario implementar protocolos estandarizados que permitan obtener dosis viables y libres de contaminantes (Bouchra et al., 2022). A partir de esto, se han desarrollado diferentes técnicas de colecta de semen ovino, cada una con sus ventajas y desafíos.

2.2. Métodos de colecta

La recolección de semen en ovinos es una técnica ampliamente utilizada en programas de inseminación artificial y mejoramiento genético, con el objetivo de optimizar la reproducción y preservar el material genético de alta calidad (Moula et al., 2024). Entre los métodos de colecta más empleados se encuentra la electroeyaculación, la masturbación y la vagina artificial. Sin

embargo, la eficiencia de cada método varía en función de la especie, el bienestar animal y la calidad de semen obtenido (Carvajal et al., 2018).

Los métodos de recolección de semen deben garantizar la viabilidad espermática, minimizando factores que puedan afectar su calidad como la contaminación microbiana, el estrés térmico y el daño durante la manipulación (Saha et al., 2022). La elección del método adecuado es fundamental para poder obtener unas muestras con alta motilidad, concentración y morfología, lo cual impactara directamente la eficiencia de la inseminación artificial (Madeleine et al., 2022).

2.2.1. Electroeyaculación

La electroeyaculación es un método comúnmente utilizado en ovinos, especialmente cuando los machos no han sido entrenados para la monta o cuando es difícil obtener eyaculados mediante métodos naturales; consiste en la estimulación eléctrica de la glándula prostática y la uretra a través de un electrodo, que emite impulsos eléctricos controlados, provocando la eyaculación sin necesidad de estimulación física externa (Carrascal et al, 2022)

Este método es útil en investigaciones y programas de mejoramiento genético, ya que permite recolectar semen de machos sin necesidad de entrenamiento previo; no obstante, estudios han demostrado que la electroeyaculación puede generar estrés en los animales, afectando los niveles de cortisol, espasmos musculares involuntarios y, en algunos casos contaminación del semen con orina (Khonmee et al., 2023). Para minimizar los efectos adversos de la electroeyaculación, se recomienda aplicar anestesia local o sedación leve en los animales, lo que reduce significativamente el estrés y mejora la calidad seminal (Monsalve., 2024).

Saddamhusen et al., (2021) reportaron que la motilidad espermática obtenida por electroeyaculación puede verse reducida en un 15-20 % en comparación con la obtenida mediante

vagina artificial, sin embargo, se ha observado una mayor incidencia de contaminación bacteriana en las muestras recolectadas con este método debido al contacto con la mucosa uretral.

2.2.2. *Vagina artificial*

La vagina artificial es el método más recomendado para la recolección de semen en ovinos dado que imita las condiciones naturales de la cópula. Consiste en un cilindro que contiene una cámara interna con agua tibia a una temperatura controlada (37-40 °C) y un revestimiento de goma o silicona lubricado para facilitar la eyaculación del macho (Garba et al., 2024).

Este método tiene varias ventajas entre las cuales se destacan una mayor calidad seminal, donde se presenta una motilidad individual progresiva de hasta un 85 %, una menor contaminación bacteriana y una concentración espermática más elevada en comparación con la electroeyaculación (Sepulveda, 2023), y un menor estrés comparado con la electroeyaculación dado que el carnero exprese su comportamiento natural de monta, sin embargo, su uso requiere que los carneros sean entrenados para montar un maniquí o una hembra en estro, lo que puede tomar tiempo (Bahadi et al., 2023), y limita su aplicación en machos jóvenes o sin experiencia. Estudios han demostrado que la adaptación a la vagina artificial puede tardar entre 7 y 14 días en promedio, dependiendo del temperamento y la edad del animal (Saddamhusen et al., 2021).

La asepsia de la vagina artificial es fundamental para evitar la proliferación de bacterias. Se ha identificado que, si no se realiza una desinfección adecuada, pueden desarrollarse microorganismos como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, que afectan la calidad espermática y reducen la tasa de fertilización en un 10-15 % (Hernández et al., 2021).

2.2.3. Contaminación bacteriana durante la colecta

Uno de los problemas más frecuentes en la recolección y manejo del semen ovino es la contaminación bacteriana (Yániz et al., 2010). Esta contaminación puede ocurrir en distintas etapas del proceso: durante la colecta, en el contacto con los genitales externos, por manipulación inadecuada, equipos mal esterilizados o condiciones ambientales deficientes (Tvrdá et al., 2021). La presencia de bacterias en el eyaculado no solo representa un riesgo sanitario para las hembras inseminadas, sino que también compromete significativamente la calidad espermática, afectando parámetros como la motilidad, viabilidad, integridad de membranas, concentración y morfología de los espermatozoides (Londra et al., 2021).

Las bacterias que contaminan el semen pueden clasificarse, según su reacción a la tinción de Gram, en grampositivas y gramnegativas, siendo estas últimas las más asociadas a efectos negativos en la calidad seminal (Costinar et al., 2021). Entre las bacterias gramnegativas más comúnmente identificadas se encuentran *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* (Herman et al., 2021). Estas especies poseen la capacidad de producir endotoxinas, enzimas proteolíticas y especies reactivas de oxígeno (ROS), lo cual deteriora la estructura y funcionalidad del espermatozoide (Hammoudi et al., 2020). Las bacterias grampositivas, como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.* y *Bacillus spp.*, aunque a veces menos agresivas, también pueden inducir inflamación, alterar la motilidad espermática y reducir la tasa de fertilización (Jawed et al., 2024).

Diversos estudios han documentado la presencia de estos microorganismos en muestras seminales. Por ejemplo, que produce la enzima ureasa, puede aumentar el pH del medio, lo que desestabiliza el ambiente seminal y perjudica la movilidad espermática (Juarez, 2024).

Pseudomonas aeruginosa, bacteria ambiental y altamente resistente, produce toxinas que afectan la membrana plasmática de los espermatozoides, *Klebsiella pneumoniae*, relacionada con infecciones genitourinarias, puede causar inflamación y deterioro de la calidad seminal, por su parte, *Escherichia coli*, aunque es parte de la microbiota intestinal, puede contaminar el semen por contacto fecal, liberando lipopolisacáridos y toxinas que generan daño celular y estrés oxidativo (Xuefeng et al., 2020).

En cuanto a las bacterias grampositivas, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus* spp. suelen provenir de la piel del animal o del personal manipulador (Mohammed, 2024). Si bien su acción puede ser más lenta, su presencia en el semen puede generar una disminución progresiva de la motilidad, cambios morfológicos y reducción de la integridad del ADN espermático (Garzón et al., 2019).

La presencia de bacterias también altera la composición del plasma seminal, provocando la degradación de proteínas y azúcares, además de favorecer la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo cual induce estrés oxidativo, una de las principales causas del daño a la membrana y al ADN espermático (Ribeiro et al., 2021). Este deterioro no solo reduce la fertilidad, sino que puede comprometer la integridad genética de la descendencia.

Aunque la mayoría de bacterias presentes en el semen se consideran patógenas o indeseables, algunos estudios han sugerido que ciertas especies bacterianas pueden formar parte de un microbiota normal en el tracto reproductivo del macho (1, 2022). Estas bacterias comensales podrían mantener un equilibrio ecológico y no necesariamente afectar la calidad espermática si se encuentran en niveles bajos. Sin embargo, ante un desequilibrio, condiciones de estrés o la

presencia de especies más virulentas, este microbioma puede volverse perjudicial (Nassar et al., 2024).

Para la identificación de bacterias en el semen, se emplean métodos microbiológicos tradicionales como el cultivo en medios específicos (agar nutritivo, agar Sabouraud, agar sangre, agar MacConkey, entre otros), seguido de observación morfológica, tinción de Gram y pruebas bioquímicas para caracterizar el tipo de bacteria presente (Serrano et al., 2020).

Para controlar y prevenir la contaminación bacteriana, es fundamental implementar protocolos estrictos de bioseguridad durante todo el proceso de colecta y manejo del semen. Entre las medidas preventivas se incluyen el lavado del prepucio con soluciones antisépticas antes de la colecta, el uso de guantes estériles, la desinfección rigurosa de los equipos de colecta, el uso de diluyentes con antibióticos, y el almacenamiento adecuado del semen en condiciones controladas (Abulbashar, 2022).

El uso de antibióticos en los diluyentes espermáticos es una estrategia ampliamente utilizada para inhibir el crecimiento bacteriano. Se ha demostrado que la combinación de gentamicina y cefalosporinas, en concentraciones específicas, puede reducir significativamente la carga bacteriana sin afectar la viabilidad espermática (Samantaray et al., 2025). No obstante, el uso indiscriminado de antimicrobianos puede generar resistencia bacteriana, por lo que es recomendable realizar pruebas de sensibilidad para seleccionar el antibiótico más adecuado según el perfil microbiano encontrado en cada región o explotación.

2.3. Evaluación de la calidad seminal

La evaluación de la calidad seminal es un aspecto crucial en la reproducción asistida, ya que permite determinar el potencial del semen. Entre las técnicas utilizadas para este propósito se

encuentran el análisis computarizado de motilidad espermática (CASA), las tinciones fluorescentes para evaluar la integridad acrosomal, las pruebas de hiposmoticidad para valorar la funcionalidad de la membrana y los cultivos bacterianos para detectar contaminación microbiológica (Carvajal et al., 2018). Estas pruebas permiten realizar un diagnóstico preciso de la calidad seminal y tomar decisiones sobre su uso en inseminación artificial.

2.3.1. Métodos de conservación de semen

El semen puede almacenarse en estado refrigerado (4°C) o congelado (-196°C en nitrógeno líquido), dependiendo de los requerimientos del programa de reproducción. La refrigeración permite mantener la viabilidad espermática por periodos cortos, mientras que la congelación posibilita la conservación del material genético a largo plazo. Sin embargo, la refrigeración está sujeta a un mayor riesgo de contaminación bacteriana, lo que puede comprometer la calidad del semen si no se toman las medidas adecuadas (Sánchez et al., 2023).

El uso de diluyentes adecuados es clave para la conservación del semen, ya que estos proporcionan un ambiente propicio para la supervivencia espermática durante su almacenamiento (Zhang et al., 2023). Los diluyentes a base de tris-yema de huevo-glicerol han demostrado ser efectivos en la preservación de la motilidad y viabilidad espermática, al igual que aquellos que contienen fructosa y glicerol, los cuales han mostrado mejores resultados en comparación con los diluyentes a base de glucosa y etilenglicol (Abdelghany et al., 2022).

Las bacterias presentes en el tracto reproductivo también pueden influir negativamente en la fertilidad, ya que pueden afectar la movilidad espermática y la integridad acrosomal, reduciendo así las probabilidades de fecundación (Samantaray et al., 2025), por esta razón, es fundamental

implementar medidas de control microbiológico en los programas de reproducción asistida para minimizar la presencia de patógenos en las muestras seminales.

2.4. Uso de semen refrigerado en reproducción animal

El empleo de semen refrigerado constituye una alternativa intermedia entre el uso de semen fresco, con el propósito de prolongar la viabilidad espermática y facilitar su utilización en programas de inseminación artificial. Este procedimiento consiste en conservar el semen a temperaturas entre 0 y 5 °C, reduciendo el metabolismo celular y ralentizando el consumo de energía por parte de los espermatozoides, lo que permite extender su vida útil sin someterlos al daño estructural característico de la congelación y descongelación (Moreira et al., 2022).

Una de las principales ventajas del semen refrigerado es que ocasiona menor daño celular en comparación con la criopreservación, ya que evita la formación de cristales de hielo y la alteración de membranas plasmáticas. En bovinos, se ha demostrado que el semen refrigerado conserva mayores porcentajes de motilidad, integridad de membrana y capacidad fecundante frente al semen congelado, lo que se traduce en mejores tasas de preñez en determinados sistemas reproductivos (Bashawat et al., 2021).

2.5. Normativa y bioseguridad en la manipulación del semen ovino

En Colombia, la manipulación del semen ovino está regulada por normativas que garantizan la bioseguridad y la calidad del material genético utilizado en programas de reproducción asistida. La Resolución 1577 de 2022 del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) establece los lineamientos sanitarios y de bioseguridad para el registro, recolección y procesamiento de material genético de especies de interés zootécnico, incluyendo los ovinos. Esta normativa busca evitar la transmisión de enfermedades y garantizar la viabilidad del semen

utilizado en inseminación artificial (ICA, RESOLUCIÓN No.00001577 , 2022), además, la Resolución 2304 de 2015 establece los protocolos de bioseguridad que deben cumplir los predios dedicados a la producción ovina y caprina, regulando aspectos como el manejo sanitario, la trazabilidad y las condiciones necesarias para la reproducción de los animales (ICA, 2015).

3. Metodología

3.1. Ubicación geográfica

El estudio se llevó a cabo entre los meses de abril y julio en el laboratorio de reproducción animal de la universidad industrial de Santander (UIS), ubicado en el municipio de Málaga, en la provincia de García Rovira, con coordenadas 6°42'18"N 72°43'54"W, a una altitud de 2,199 m.s.n.m. Esta región fue seleccionada debido a la presencia de rebaños ovinos con interés en mejorar la calidad espermática de los reproductores y optimizar la reproducción mediante técnicas de inseminación artificial.

3.2. Selección y Manejo de Animales

Se trabajó con un total de seis ovinos mestizos con edades comprendidas entre 1 y 4 años. Los animales fueron mantenidos bajo un régimen de alimentación controlada, con acceso a agua limpia y monitoreo sanitario regular. Se garantizó que el manejo fuese acorde con las normativas de bienestar animal, evitando situaciones de estrés innecesario.

3.3. Recolección de semen

La recolección de semen se realizó mediante el uso de vagina artificial, siguiendo un protocolo estándar de 1 eyaculación por sesión, una vez por semana, durante 6 semanas. Las muestras fueron recolectadas en tubos estériles y transportadas en condiciones térmicas

controladas (37 °C) hasta el laboratorio de análisis, donde se sometieron a los procedimientos de evaluación microbiológica y espermática.

3.4. Evaluación microbiológica y calidad espermática

Cada muestra de semen fue dividida en cuatro grupos experimentales, Grupo G0 (control): Sin antibióticos, Grupo G1: Gentamicina 2.8 µg/ml, Grupo G2: Estreptomicina 2µg/ml, Grupo G3: penicilina 0.5 µg/ml. A cada grupo se le realizaron pruebas microbiológicas para evaluar la presencia y proliferación de microorganismos, utilizando dos medios de cultivo: agar nutritivo, para el aislamiento e identificación de bacterias, y agar Sabouraud dextrosa, utilizado específicamente para el crecimiento de hongos y levaduras, ambos medios fueron preparados siguiendo las indicaciones del fabricante. En el caso del agar nutritivo, se disolvieron 23 g del medio en polvo en 1 litro de agua destilada y se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Para el agar Sabouraud, se utilizaron 65 g por litro de agua destilada, siguiendo el mismo proceso de esterilización. Una vez enfriados a 45-50 °C, los medios fueron vertidos en placas Petri estériles y dejados solidificar bajo condiciones asépticas. Las muestras de semen, ya divididas por grupo, fueron sembradas en las placas mediante técnica de estría cruzada, utilizando asas estériles.

Las placas destinadas al crecimiento bacteriano fueron incubadas a 37 °C durante 48 horas, mientras que las utilizadas para hongos y levaduras se incubaron a una temperatura de 25 a 28 °C durante el mismo periodo. Posteriormente, se realizó una evaluación macroscópica de las colonias desarrolladas en cada medio, analizando características como color, forma, borde, elevación, textura y opacidad. Las colonias fúngicas fueron reconocidas por su aspecto algodonoso, filamentoso o pulverulento, en contraste con las levaduras, que presentaron colonias lisas, cremosas y convexas. En el caso de las bacterias, se procedió a la realización de tinción de Gram

para su observación microscópica. Las muestras se tiñeron en laminas portaobjetos y fueron visualizadas a 100X con aceite de inmersión, permitiendo su clasificación en bacterias Gram positivas (teñidas de púrpura, con pared celular gruesa) y Gram negativas (rosadas, con pared delgada y membrana externa). Se describió además la morfología celular observada, identificando cocos, bacilos, diplococos y agrupaciones en forma de estreptococos o estafilococos. Para la identificación microscópica de levaduras y mohos, se utilizó azul de lactofenol como colorante, las muestras se montaron en lamina portaobjetos con laminilla, permitiendo una observación detallada en el microscopio, se pudo evidenciar estructuras ovaladas y gemantes características de las levaduras, así como hifas, esporas o conidios en los hongos filamentosos.

La calidad espermática se analizó en tres tiempos: 0, 24 y 48 horas tras el almacenamiento a 5°, siguiendo un protocolo de enfriamiento gradual. Se evaluaron los siguientes parámetros: Volumen del eyaculado (ml), Concentración espermática (Millones Ezp/ml), Motilidad individual progresiva (%) y motilidad masal (1-5).

3.5. Análisis estadístico

El estudio se enmarcó en un diseño experimental con enfoque cuantitativo, donde se evaluó el efecto de la calidad espermática de muestras de semen ovino mediante pruebas microbiológicas y espermáticas. Se analizó la eficiencia de los 3 antibióticos sobre el diluyente de semen en la reducción de contaminación bacteriana y preservación de la viabilidad espermática durante la refrigeración.

Se utilizó un análisis de varianza ANOVA con una vía de clasificación y cuatro niveles para determinar si había diferencias significativas en el crecimiento de bacterias y la motilidad

espermática en el semen refrigerado a 5°C. Se trabajó con un nivel de confianza del 95%. Los datos se analizaron con el programa SAS University 2025®.

3.6. Consideraciones éticas

Este estudio se llevó a cabo bajo estrictas normas de bienestar animal, en cumplimiento de la Resolución 136 de 2020, por la cual se adopta el manual de condiciones de bienestar animal para especies de producción en el sector agropecuario, específicamente para ovinos. Se garantizó que los animales recibieran un manejo adecuado, considerando su comportamiento natural, condiciones de alojamiento, alimentación, salud y manejo sanitario. Además, se evitaron procedimientos invasivos innecesarios y se aplicaron medidas que redujeron el estrés y el sufrimiento, asegurando el cumplimiento de los principios de libertades del bienestar animal y los lineamientos establecidos por el Comité de trabajos de grado.

4. Resultados y discusión

Analizar la calidad espermática del semen ovino diluido en diferentes antibióticos durante el proceso de almacenamiento en condiciones de refrigeración a 5°C.

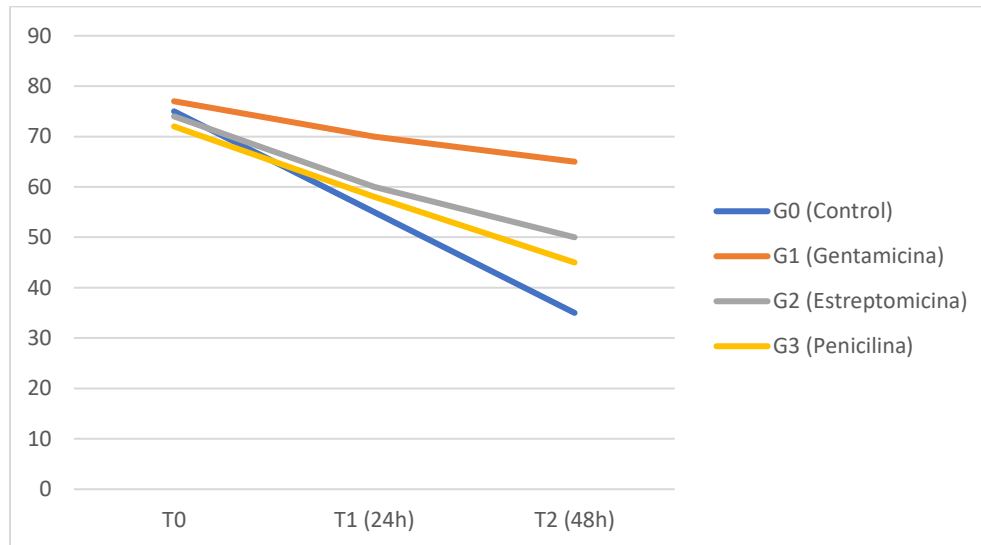
Para este estudio se realizó un pool de semen proveniente de varios machos, el cual presentó un aspecto homogéneo, con color blanco perlado característico de muestras ovinas sanas y de buena calidad.

En la Figura 1 se ilustran los valores de motilidad individual progresiva (%) del semen ovino diluido con diferentes antibióticos y almacenado a 5 °C, evaluado en tres tiempos (0, 24 y 48 h). El uso de antibióticos en los diluyentes seminales no solo se orienta a disminuir la

proliferación bacteriana, sino también a preservar parámetros funcionales del espermatozoide, como la motilidad progresiva y la integridad de membrana.

Figura 1.

Motilidad individual progresiva (%)



Nota. La motilidad individual progresiva se evaluó por triplicado y se presentó un promedio. Se evaluó mediante microscopía óptica con el equipo **Zeiss Primo Star**.

La Figura 1 muestra el comportamiento de la motilidad individual progresiva (%) del semen ovino almacenado a 5 °C en los diferentes tratamientos (G0: Control, G1: Gentamicina, G2: Estreptomicina y G3: Penicilina), evaluados en tres tiempos: T0 (0 h), T1 (24 h) y T2 (48 h). La motilidad espermática es uno de los parámetros más utilizados para evaluar la calidad seminal, ya que refleja directamente la capacidad fecundante de los espermatozoides (Montero et al., 2024). En ovinos, la motilidad individual progresiva inicial suele encontrarse entre 70 y 90 % en semen fresco, pero disminuye conforme avanza el almacenamiento a bajas temperaturas debido al estrés por refrigeración y la acumulación de metabolitos (Álvarez et al., 2021).

En general, todos los tratamientos presentaron una tendencia decreciente en la motilidad conforme aumentó el tiempo de almacenamiento. El grupo control (G0) inició con valores similares a los demás (~74 %), pero presentó la caída más marcada, alcanzando ~35 % a las 48 h. El grupo tratado con gentamicina (G1) mostró los mejores resultados, con ~77 % en T0, 70 % en T1 y 65 % en T2, manteniéndose por encima del resto. La estreptomicina (G2) inició en ~72 %, bajó a 60 % a las 24 h y alcanzó 50 % a las 48 h. La penicilina (G3) presentó un patrón parecido, con 74 % en T0, 58 % en T1 y 45 % en T2.

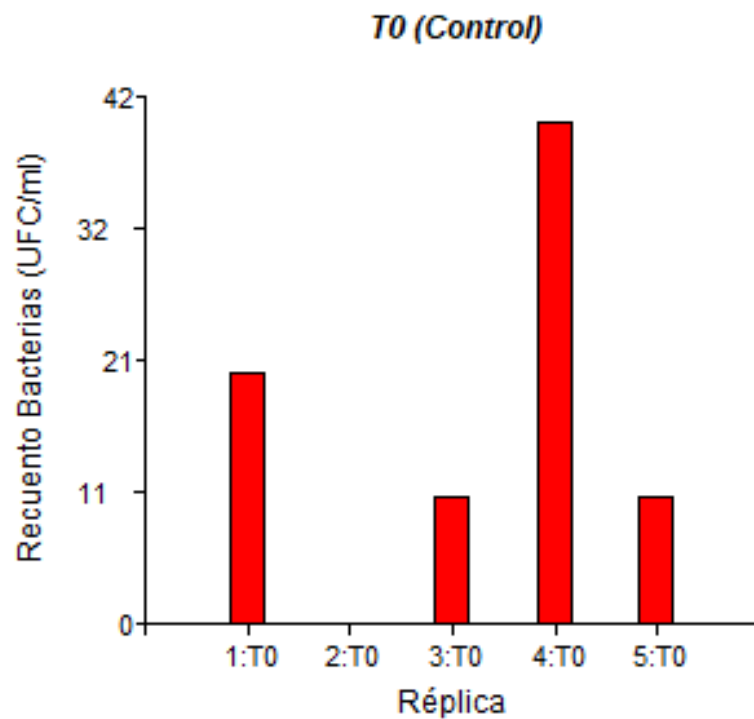
El tiempo de almacenamiento a 5 °C tuvo un efecto negativo evidente sobre la motilidad progresiva, lo que confirma la pérdida de viabilidad espermática a medida que se prolonga la refrigeración, tal como reportan (Neila-Montero et al., 2024). La adición de antibióticos influyó de manera significativa en la preservación de la motilidad, siendo la gentamicina (G1) la que permitió mantener valores más altos y estables durante las 48 h, en concordancia con estudios previos que destacan su eficacia en la conservación de semen ovino (Anel-López et al., 2022). En contraste, la estreptomicina y la penicilina mostraron descensos intermedios, y el control sin antibióticos presentó la pérdida más drástica de motilidad, lo que evidencia la importancia del uso de antibióticos en diluyentes para evitar proliferación bacteriana y conservar la calidad espermática. Estos resultados respaldan la recomendación de incluir antibióticos adecuados en protocolos de almacenamiento en frío, aunque su elección debe considerar también posibles efectos secundarios sobre la fisiología espermática.

Determinar el efecto de los antibióticos sobre la carga bacteriana y la calidad espermática del semen ovino en refrigeración.

Con el fin de determinar la influencia de los antibióticos en el control de la contaminación bacteriana y en la preservación de la calidad seminal, se analizaron las muestras sometidas a refrigeración durante 48 horas, se muestran los resultados por tratamiento, destacando el comportamiento del recuento bacteriano.

Figura 2.

Recuento bacteriano en semen ovino sin antibióticos (Control).



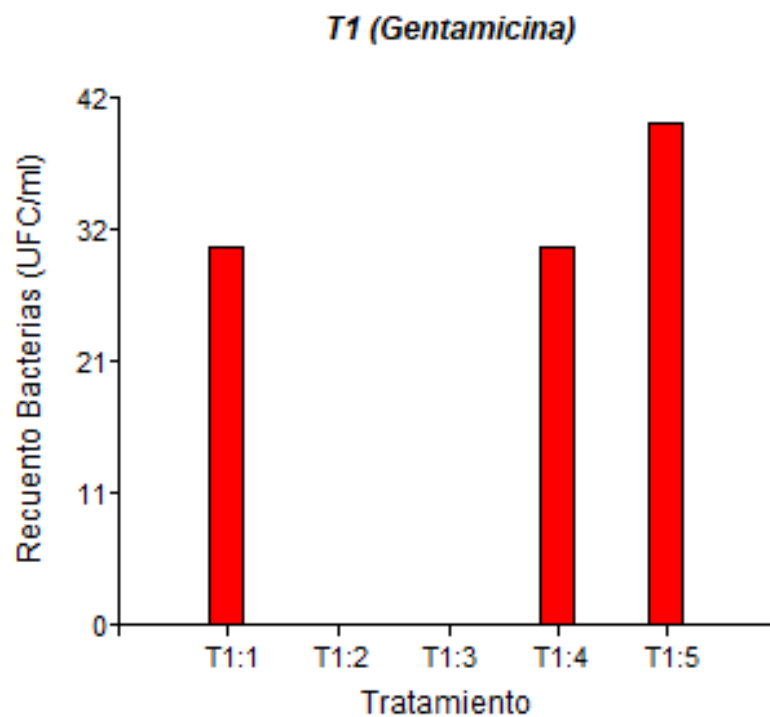
Nota. Recuento bacteriano (UFC/ml) en semen ovino sin adición de antibióticos al diluyente.

En el grupo control, donde no se adicionaron antibióticos al diluyente, los recuentos bacterianos oscilaron entre 0 y 40 UFC/ml. La media obtenida fue de 16,0 UFC/ml, con una desviación estándar de 15,17 y un coeficiente de variación del 94,8 %. Estos resultados reflejan una elevada dispersión entre réplicas, evidenciando la ausencia de homogeneidad en la

proliferación bacteriana. La presencia de réplicas sin crecimiento contrasta con otras que alcanzaron valores máximos, lo cual confirma que, en ausencia de antibióticos, el semen ovino presenta una susceptibilidad considerable a la contaminación microbiana, como lo señalan estudios previos en eyaculados sin suplementación antimicrobiana (Tvrdá et al., 2022).

Figura 3.

Recuento bacteriano en semen ovino con gentamicina.



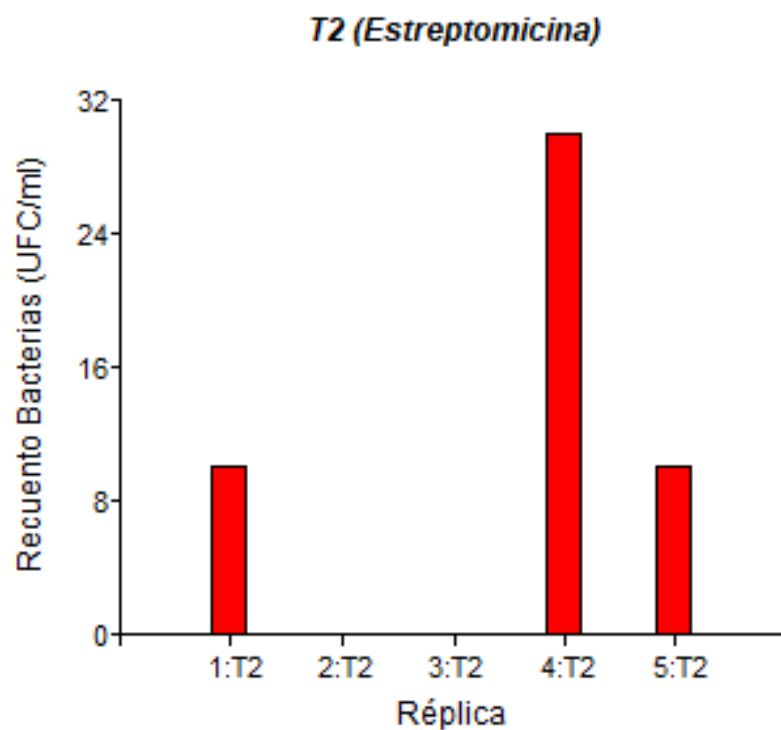
Nota. Recuento bacteriano (UFC/ml) en semen ovino con adición de gentamicina (2,8 µg/ml).

La adición de gentamicina (2,8 µg/ml) mostró valores de recuento bacteriano entre 0 y 40 UFC/ml. La media fue de 20,0 UFC/ml, con una desviación estándar de 18,71 y un coeficiente de variación de 93,5 %. Aunque dos réplicas no presentaron crecimiento, otras mostraron

proliferación significativa, lo que evidencia un efecto inconsistente de este antibiótico en las condiciones evaluadas. Estos hallazgos concuerdan con lo reportado por (López et al., 2022), quienes observaron variabilidad en la eficacia de la gentamicina sobre bacterias Gram negativas presentes en semen ovino. A pesar de su uso común, la variabilidad registrada sugiere que su acción puede depender tanto de la carga bacteriana inicial como de la sensibilidad de los microorganismos presentes.

Figura 4.

Recuento bacteriano en semen ovino con estreptomina.

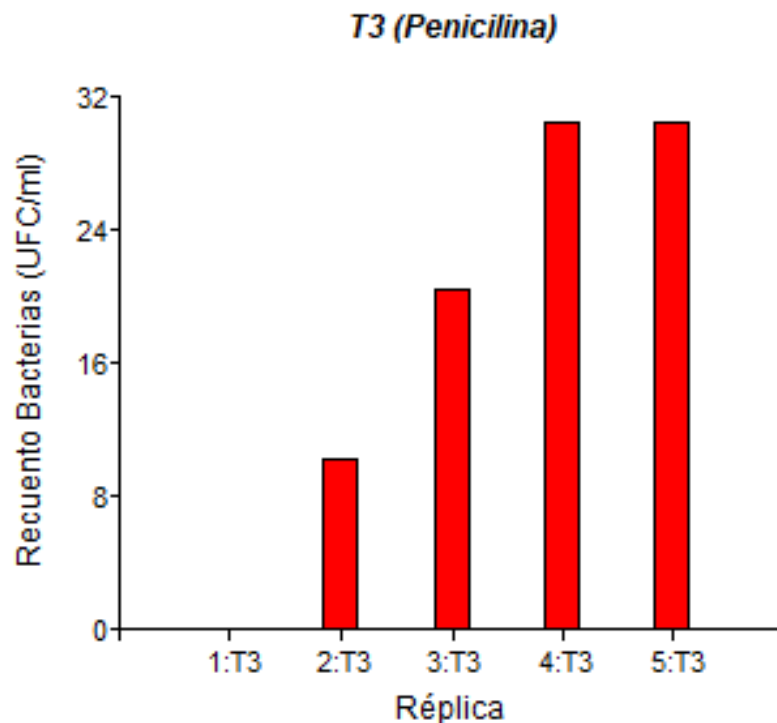


Nota. Recuento bacteriano (UFC/ml) en semen ovino con adición de estreptomina (2 µg/ml).

El tratamiento con estreptomicina ($2 \mu\text{g/ml}$) arrojó recuentos bacterianos entre 0 y 30 UFC/ml, con una media de $10,0 \text{ UFC/ml}$, desviación estándar de $12,25$ y un coeficiente de variación de $122,5 \%$. Este fue el grupo con la media más baja de recuento bacteriano, lo que evidencia un mayor efecto inhibitorio frente a los demás tratamientos. Sin embargo, la elevada dispersión indica que no en todas las réplicas se logró un control completo de la proliferación. Estos resultados son consistentes con lo documentado por (Mohammed, 2024), quien señala que la estreptomicina presenta una acción más marcada contra bacterias Gram positivas, aunque su efectividad frente a contaminantes ambientales puede ser variable.

Figura 5.

Recuento bacteriano en semen ovino con penicilina.



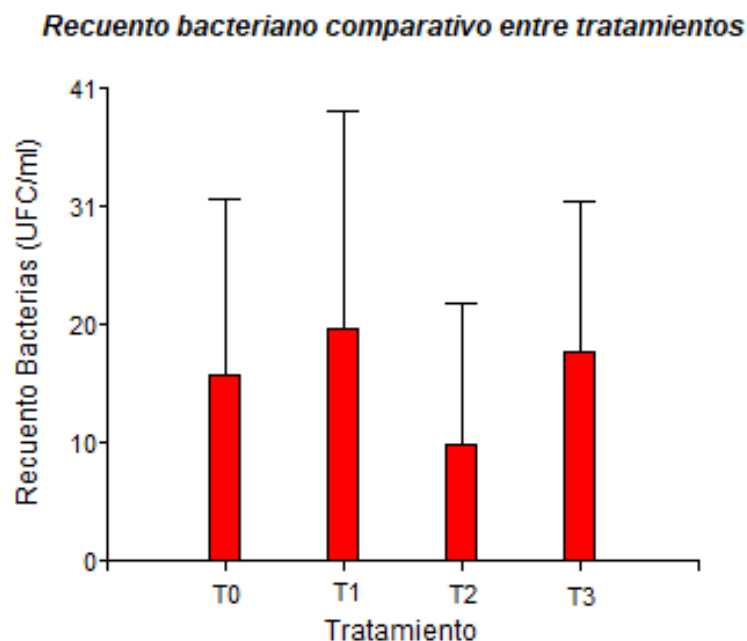
Nota. Recuento bacteriano (UFC/ml) en semen ovino con adición de penicilina ($0,5 \mu\text{g/ml}$).

En el grupo con penicilina (0,5 µg/ml), los recuentos oscilaron entre 0 y 30 UFC/ml, alcanzando una media de 18,0 UFC/ml, con desviación estándar de 13,04 y un coeficiente de variación de 72,4 %. En este caso, si bien se presentó una réplica sin crecimiento bacteriano, la mayoría de los valores se ubicaron en rangos intermedios y altos, reflejando un control parcial de la proliferación. Estos hallazgos coinciden con lo señalado por (Garza, 2018), en cuanto a que la penicilina puede presentar limitaciones frente a ciertas bacterias Gram negativas, las cuales suelen estar presentes en eyaculados ovinos y pueden reducir su efectividad.

Con el propósito de integrar los resultados de cada tratamiento, se elaboró una gráfica comparativa que permite observar las diferencias en el recuento bacteriano obtenido tras 48 horas de incubación, evidenciando la eficacia relativa de cada tratamiento.

Figura 6.

Variación del recuento bacteriano entre tratamientos



Nota. No se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos.

En la comparación general se evidenció que el grupo control presentó el mayor número de unidades formadoras de colonia, lo que confirma la ausencia de un efecto inhibitorio sobre la proliferación microbiana. En contraste, el tratamiento con gentamicina mostró los recuentos más bajos, indicando un efecto más eficiente en la reducción de la carga bacteriana. Los tratamientos con estreptomicina y penicilina presentaron valores intermedios, lo que sugiere un efecto inhibitorio parcial frente a la multiplicación bacteriana.

Identificar los géneros de bacterias y hongos presentes en el semen ovino y evaluar su posible relación con la calidad espermática.

El semen ovino, aunque se recolecte bajo condiciones higiénicas, suele presentar contaminación bacteriana y fúngica que afecta negativamente la calidad seminal. Diversos estudios han demostrado que la presencia de bacterias como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* reduce la motilidad, viabilidad e integridad de membrana de los espermatozoides (CongBang et al., 2023).

El empleo de antibióticos en diluyentes seminales es una práctica extendida para limitar el crecimiento bacteriano; sin embargo, no siempre eliminan la totalidad de la microbiota y pueden alterar la composición seminal. En paralelo, la presencia de hongos, especialmente géneros como *Candida*, *Aspergillus* y *Penicillium*, también ha sido reportada y se asocia a efectos negativos por producción de micotoxinas (Morrell et al., 2023).

Tabla 2.

Géneros y especies bacterianas aisladas en semen ovino según tratamiento experimental.

Tratamiento	Tipo de bacteria	Gram	Género/Especie	Efecto sobre la calidad espermática
G0 (Control)	Cocos	+	<i>Staphylococcus spp.</i>	Disminuye motilidad y viabilidad por producción de toxinas y estrés oxidativo
	Bacilos	-	<i>Escherichia coli</i>	Reducción marcada de motilidad, viabilidad y morfología normal de espermatozoides
	Cocos	-	<i>Neisseria spp.</i>	Puede causar adhesión a espermatozoides y daño en membrana, afectando la fertilización
G1 (Gentamicina)	Cocos	+	<i>Staphylococcus spp.</i>	Inhibición del crecimiento bacteriano → mantiene motilidad y viabilidad
	Bacilos	+	<i>Bacillus spp.</i>	No se observaron efectos adversos; controlados por gentamicina
G2 (Estreptomycin)	Bacilos	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	Considerados flora comensal; posible efecto protector frente a patógenos
	Bacilos	+	<i>Bacillus spp.</i>	Controlados; semen libre de efectos negativos tras tratamiento antibiótico
G3 (Penicilina)	Bacilos	+	<i>Bacillus spp.</i>	Sin efecto negativo, penicilina previene proliferación
	Cocos	+	<i>Staphylococcus spp.</i>	Neutralizados por penicilina; no reducen calidad seminal

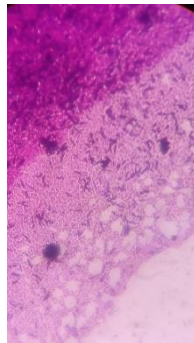
Nota. Bacterias Gram positivas y Gram negativas aisladas en semen ovino, con sus efectos sobre la calidad espermática.

El análisis de los géneros bacterianos aislados en semen ovino evidencia distintos mecanismos de alteración de la calidad espermática, los cuales pueden clasificarse en efectos funcionales o estructurales. Se ha descrito que bacterias del género *Staphylococcus spp.* generan toxinas y estrés oxidativo que afectan la motilidad y la viabilidad, comprometiendo directamente la funcionalidad espermática (Waberski et al., 2019). Por su parte, *Escherichia coli* presenta una elevada capacidad de adhesión a la membrana plasmática, lo que ocasiona alteraciones en la morfología e integridad celular; este efecto estructural se traduce también en una disminución

significativa de la motilidad progresiva, reflejando un compromiso funcional. De acuerdo con estudios realizados en ovinos y caprinos, *E. coli* y *Staphylococcus spp.* se encuentran entre los principales contaminantes bacterianos en el semen, asociados con reducciones en motilidad y viabilidad, así como con daños en la membrana espermática (Ahmed et al., 2018). Otros géneros como *Neisseria spp.* también ejercen efectos estructurales al adherirse a la superficie de los espermatozoides e interferir con la fertilización, mientras que *Bacillus spp.* se consideran parte de la flora comensal sin repercusiones negativas notorias en la función espermática. En contraste, la presencia de *Lactobacillus spp.* se ha vinculado con un posible efecto protector frente a patógenos, contribuyendo al mantenimiento de parámetros funcionales como la motilidad y la viabilidad (Ansam et al., 2024).

Figura 7.

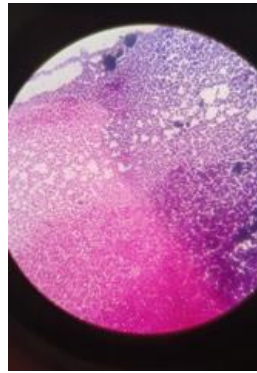
Observación microscópica de bacterias en tinción de Gram



Nota. Observación microscópica de semen ovino teñido con la técnica de Gram a 100X, utilizando objetivo de inmersión en aceite.

Figura 8.

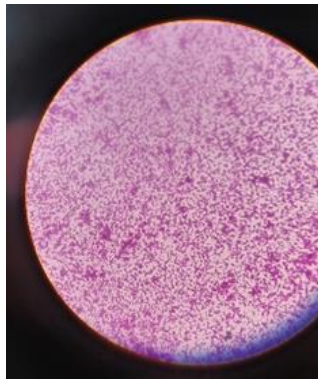
Bacilos Gram negativos (*Escherichia coli*) observados en semen ovino mediante tinción de Gram.



Nota. Observación microscópica de semen ovino teñido con la técnica de Gram a 1000X, utilizando objetivo de inmersión en aceite.

Figura 9.

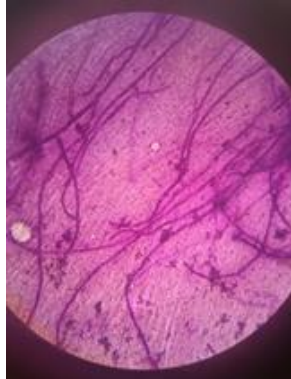
Cocos Gram negativos (*Staphylococcus aureus*) observados en semen ovino mediante tinción de Gram.



Nota. Observación microscópica de semen ovino teñido con la técnica de Gram a 100X, utilizando objetivo de inmersión en aceite.

Figura 10.

Bacilos Gram positivos (*Bacillus sp.*) observados en semen ovino mediante tinción de Gram.



Nota. Observación microscópica de semen ovino teñido con la técnica de Gram a 100X, utilizando objetivo de inmersión en aceite.

En cuanto al crecimiento de levaduras y hongos en el semen ovino, se evidenció la presencia de diferentes géneros según el tratamiento experimental.

Tabla 3.

Géneros de hongos aislados en semen ovino según tratamiento experimental

Tratamiento	Tipo de hongo	Género
G0 (Control)	Levadura	<i>Candida</i>
G1 (Gentamicina)	Levadura	<i>Candida</i>
G2 (Estreptomicina)	Levadura	<i>Candida</i>
G3 (Penicilina)	Filamentoso (moho)	<i>Aspergillus</i>

Nota. Datos de los géneros de hongos aislados en semen ovino según el tratamiento aplicado.

El análisis de los cultivos permitió identificar la presencia de levaduras y hongos filamentosos en los diferentes tratamientos evaluados. En el grupo control (G0) se evidenció crecimiento de levaduras del género *Candida*, lo cual confirma que en ausencia de antibióticos el semen ovino es susceptible a la proliferación de este tipo de microorganismos. De manera similar, en los tratamientos con gentamicina (G1) y estreptomycinina (G2) también se aisló *Candida*, aunque con una menor abundancia relativa frente al control, lo que sugiere un efecto parcial de estos antibióticos frente a levaduras. En contraste, en el tratamiento con penicilina (G3) no se observó crecimiento de *Candida*, pero sí la presencia de hongos filamentosos del género *Aspergillus*, indicando que, aunque la penicilina pudo inhibir el desarrollo de levaduras, no resultó eficaz frente a mohos. Estos hallazgos evidencian que los antibióticos ejercen un impacto diferencial sobre los hongos presentes en el semen, generando variaciones en la composición fúngica según el tratamiento aplicado.

Figura 11.

Levaduras (*Candida sp.*) observadas en semen ovino mediante tinción con azul de lactofenol



Nota. Semen ovino mediante tinción con azul de lactofenol a 400X.

Figura 12.

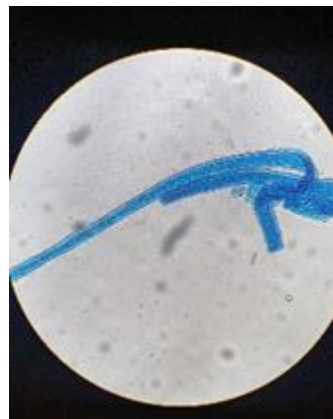
Hongo filamentoso (*Aspergillus sp.*) observado en microscopio a 400x.



Nota. semen ovino mediante tinción con azul de lactofenol a 400X.

Figura 13.

Hongo filamentoso (*Aspergillus sp.*)



Nota: semen ovino mediante tinción con azul de lactofenol a 400X.

5. Conclusiones

El análisis de la calidad espermática del semen ovino durante el almacenamiento a 5 °C demostró que la motilidad progresiva disminuye con el tiempo de refrigeración, confirmando la pérdida de viabilidad espermática asociada a este proceso. Entre los antibióticos evaluados, la

gentamicina fue la que mejor conservó la motilidad y la integridad funcional de los espermatozoides, mientras que la estreptomycinina y la penicilina presentaron efectos intermedios, y el control sin antibióticos mostró la mayor pérdida de calidad seminal.

La evaluación del efecto de los antibióticos sobre la carga bacteriana evidenció que, aunque todos los tratamientos contribuyeron a reducir la proliferación microbiana, ninguno logró una eliminación completa. El grupo control presentó los recuentos más elevados de unidades formadoras de colonia, mientras que la estreptomycinina mostró el mayor efecto inhibitorio, seguida de la penicilina y la gentamicina. Estos hallazgos confirman que el uso de antibióticos en diluyentes es necesario para limitar la contaminación bacteriana y preservar la calidad espermática durante la refrigeración.

La identificación microbiológica reveló la presencia de bacterias de géneros como *Escherichia*, *Staphylococcus* y *Bacillus*, así como hongos filamentosos y levaduras pertenecientes al género *Candida*, todos asociados a la disminución de la calidad seminal. Estos hallazgos respaldan que la contaminación microbiana, además de afectar directamente parámetros como la motilidad y la viabilidad, representa un riesgo adicional en el almacenamiento del semen ovino, justificando la inclusión de estrategias antimicrobianas en los protocolos de conservación.

6. Recomendaciones

Ampliar la investigación a condiciones de campo, evaluando la tasa de preñez en ovejas inseminadas con semen tratado con los distintos antibióticos, con el fin de correlacionar los parámetros in vitro con resultados reproductivos reales.

Capacitar a los operarios, técnicos y profesionales en buenas prácticas de manejo higiénico del semen, desde la colecta hasta el almacenamiento, ya que la contaminación muchas veces se origina por fallas humanas en la manipulación.

Estudiar otras alternativas no antibióticas con potencial antimicrobiano, como extractos vegetales, nanopartículas o probióticos, que puedan complementar o sustituir el uso de antibióticos frente al creciente problema de resistencia bacteriana.

Referencias Bibliográficas

- Armentia et al. (Octubre de 2017). *Hallazgo de Campylobacter fetus en semen ovino*. Obtenido de <https://www.ridaa.unicen.edu.ar/bitstreams/23c49c6c-8133-49ff-8b63-1247e64f5366/download>
- Morrell, JM et al. (2019). *Advantages and disadvantages of artificial insemination*. Obtenido de <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgiclfndmkaj/https://veteriner.erciyes.edu.tr/EditorUpload/Files/fa31df81-ef00-4ad4-90ed-6e710d520a16.pdf>
- Tsartsianidou et al. (2021). *A comprehensive genome-wide scan detects genomic regions related to local adaptation and climate resilience in Mediterranean domestic sheep*. Obtenido de <https://link.springer.com/article/10.1186/s12711-021-00682-7>
- [ICA], I. C. (2023). *CENSO NACIONAL CAPRINO Y OVINO 2023*. Obtenido de https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/epidemiologia-veterinaria/censos-caprinos-y-ovinos-2023-final.aspx?utm_source=chatgpt.com
- [MADR], M. d. (2020). *CADENA OVINO-CAPRINA*. Obtenido de https://sioc.minagricultura.gov.co/ovinocaprina/documentos/2020-06-30%20cifras%20sectoriales.pdf?utm_source=chatgpt.com
- Abdelghany et al. (27 de 06 de 2022). *Trehalose as an Alternative of Egg Yolk in Ram Semen Extender*. Obtenido de <https://www.advetresearch.com/index.php/AVR/article/view/946>
- Abulbashar. (24 de Noviembre de 2022). *Alternative Opportunities to Collect Semen and Sperm Cells for Ex Situ In Vitro Gene Conservation in Sheep*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2077-0472/12/12/2001>
- AGROSAVIA. (2022). *Proyecto de excelencia sanitaria*. Obtenido de https://www.agrosavia.co/media/d43fdjqf/proyectos-excelencia-sanitaria-ovinocaprios.pdf?utm_source=chatgpt.com
- Ahmed et al. (2018). *Bacterial contamination of ram semen used for artificial insemination in indigenous ewes*. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/328574492_Bacterial_contamination_of_ram_semen_used_for_artificial_insemination_in_indigenous_ewes
- Alvarez et al. (08 de Septiembre de 2020). *Mitochondrial DNA Variations in Colombian Creole*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2076-2615/10/9/1594>
- Álvarez et al. (2021). *Variations in Behavioral and Physiological Traits in Yearling Tibetan Sheep (Ovis aries)*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/6/1676>
- Anel-López et al. (2022). *Comparing the Effect of Different Antibiotics in Frozen-Thawed Ram Sperm: Is It Possible to Avoid Their Addition?* Obtenido de <https://www.frontiersin.org/journals/veterinary-science/articles/10.3389/fvets.2021.656937/full>

- Ansam et al. (01 de Junio de 2024). *Comparative Study of Bacterial Contamination in Local Iraqi Sheep and Goats Semen. Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 18(1): 71-78, 2024. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/377216146_Comparative_Study_of_Bacterial_Contamination_in_Local_Iraqi_Sheep_and_Goats_Semen_Iranian_Journal_of_Veterinary_Medicine_181_71-78_2024/link/65e38b0ae7670d36abee167/download?_tp=eyJjb250ZXh0Ijp7ImZpcnNOU
- Asaduzzaman et al. (2022). *Developing a Cost Structure of Frozen Semen Production and Performance of Artificial Insemination for Sheep Breeding Program*. Obtenido de Agricultural Science Digest: https://openurl.ebsco.com/EPDB%3Agcd%3A15%3A15160703/detailv2?sid=ebsco%3Aplink%3Ascholar&id=ebsco%3Agcd%3A155609988&crl=c&link_origin=scholar.google.es
- Assefa et al. (06 de Noviembre de 2022). *Characterization, Conservation and Sustainable Utilization of Ethiopian Animal Genetic*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2079-7737/11/11/1623>
- Bahadi et al. (2023). *Group-training of rams at puberty for artificial vagina-mediated semen collection and its influence on semen quality and sexual behavior*. Obtenido de <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2022-0051>
- Bashawat et al. (Noviembre de 2021). *Cooled storage of semen from livestock animals (Part II): Camelids, goats, and sheep*. Obtenido de https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432021001706?utm_source
- Bouchra et al. (Octubre de 2022). *Factors influencing seminal plasma composition and its relevance to succeed sperm technology in sheep: An updated review*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0921448822001481>
- Bouchra y Rahim. (11 de Febrero de 2024). *Exploring Endogenous and Exogenous Factors for Successful Artificial Insemination in Sheep: A Global Overview*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2306-7381/11/2/86>
- Carrascal et al. (31 de Agosto de 2022). *Seminal characteristics of ovine under environmental conditions of Colombian Caribbean*. Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172022000400019
- Carvajal et al. (2018). Evaluación de la calidad espermática en ovinos mediante CASA. *Revista Colombiana de Reproducción Animal*.
- CongBang et al. (2023). *Bacteriospermia and its antimicrobial resistance in relation to boar sperm quality during short-term storage with or without antibiotics in a tropical environment*. Obtenido de chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10193611/pdf/40813_2023_Article_320.pdf

- Costinar et al. (27 de Diciembre de 2021). *Boar Semen Contamination: Identification of Gram-Negative Bacteria and Antimicrobial Resistance Profile*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2076-2615/12/1/43>
- DANE, D. A. (2024). *Encuesta nacional agropecuaria (ENA)*. Obtenido de https://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-por-tema/agropecuario/encuesta-nacional-agropecuaria-ena?utm_source=chatgpt.com
- Flórez. (2022). *Evaluación de la producción Ovina en el agroecosistema de Páramo en el municipio de Cerrito, Santander*. Obtenido de <http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/handle/20.500.12744/9498>
- Garba et al. (05 de Noviembre de 2024). *the effects of seasonal variations on semen parameter such as*. Obtenido de https://thetropicaljournal.org/published_manuscripts/vol-5-1-2024/TJOAR-6407-14-27.pdf
- Garza, P. (2018). *Antecedentes históricos y panorama actual* . Obtenido de file:///C:/Users/noeli/Downloads/carneros_de_san_juan.pdf
- Garzón et al. (Diciembre de 2019). *Staphylococcus aureus: generalities, mechanisms of pathogenicity and cell colonization*. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702019000200025
- Gebre et al. (01 de Septiembre de 2022). *Adoption of artificial insemination technology and its intensity of use in Eastern Tigray National Regional State of Ethiopia*. Obtenido de <https://link.springer.com/article/10.1186/s40066-022-00384-3>
- Hammoudi et al. (16 de Abril de 2020). *The Current Burden of Carbapenemases: Review of Significant Properties and Dissemination among Gram-Negative Bacteria*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2079-6382/9/4/186>
- Herman et al. (27 de 12 de 2021). *Boar Semen Contamination: Identification of Gram-Negative Bacteria and Antimicrobial Resistance Profile*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2076-2615/12/1/43>
- Hernández et al. (02 de Marzo de 2021). *Microbiota vaginal y susceptibilidad quimioterapéutica en cabras criollas*. Obtenido de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322020000100128
- ICA. (07 de Julio de 2015). Obtenido de <https://sioc.minagricultura.gov.co/OvinoCaprina/Normatividad/Resoluci%C3%B3n%202304%20del%2006%20de%20julio%20del%202015.pdf>
- ICA. (2022). *RESOLUCIÓN No.00001577* . Obtenido de <https://www.ica.gov.co/getattachment/be459c02-d772-45a5-984a-218b924ec763/2022R00001577.aspx>

- Jawed et al. (09 de octubre de 2024). *The impact of gram positive bacteria on semen quality in infertile men and assessment antibiotic Susceptibility profile*. Obtenido de <https://journal.nuc.edu.iq/home/vol4/iss1/7/>
- Juarez. (2024). *COMPARACIÓN DE LA CALIDAD SEMINAL DE SEMEN PORCINO PRESERVADO EN DILUYENTES COMERCIALES VS CONVENCIONALES*. Obtenido de chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://up-rid.up.ac.pa/8665/1/alicia_juarez.pdf
- Khonmee et al. (06 de Junio de 2023). *Effect of Electroejaculation Protocols on Semen Quality and Concentrations of Testosterone, Cortisol, Malondialdehyde, and Creatine Kinase in Captive Bengal Tigers*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2076-2615/13/12/1893>
- I, E. C. (10 de Agosto de 2022). *Problemas reproductivos en ovejas más frecuentes*. Obtenido de <https://ruminants.ceva.pro/es/problemas-reproductivos-ovejas>
- Londra et al. (05 de Marzo de 2021). *Microbiología del semen bovino: efecto sobre la calidad seminal*. Obtenido de <https://repositorio.unnoba.edu.ar/xmlui/handle/23601/469>
- López et al. (09 de Septiembre de 2022). *Comparación del efecto de diferentes antibióticos en el espermatozoos de carnero congelado: ¿es posible evitar su adición?* Obtenido de <https://axoncomunicacion.net/comparacion-del-efecto-de-diferentes-antibioticos-en-el-esperma-de-carnero-congelado-es-posible-evitar-su-adicion/>
- Madeleine et al. (26 de Noviembre de 2022). *Motility Assessment of Ram Spermatozoa*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2079-7737/11/12/1715>
- Medina et al. (13 de Marzo de 2021). *Association of a genetic polymorphism in the BMPR-1B gene, and non-genetic factors with the natural prolificacy of the Colombian-haired sheep*. Obtenido de <https://link.springer.com/article/10.1007/s11250-021-02651-0>
- Mohammed. (2024). *Contamination with Proteus and Staphylococcus spp. Effect on Physical Properties of Sheep Semen*. Obtenido de https://ejvs.journals.ekb.eg/article_341207.html
- Monsalve. (2024). *Efecto del resveratrol sobre la calidad del semen bovino criopreservado*. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*.
- Montero et al. (2024). *The Adaptation Time to the Extender as a Crucial Step for an Accurate Evaluation of Ram Sperm Quality during the Liquid Storage*. Obtenido de https://www.mdpi.com/journal/vetsci/special_issues/0TT0NK8A49
- Moreira et al. (19 de Septiembre de 2022). *Investigating the need for antibiotic supplementation to the extender used for semen cryopreservation in collared peccaries*.
- Morrell et al. (30 de Noviembre de 2023). *Antibiotics in semen extenders – a multiplicity of paradoxes*. Obtenido de <https://doi.org/10.1071/RD23218>
- Moula et al. (2024). *Reproductive biotechnology for INRA 180 sheep preservation*. Obtenido de <https://revues.imist.ma/index.php/Afrimed/article/view/39122>

- Muñoz et al. (07 de Agosto de 2022). *Diversidad genética de ovinos criollos colombianos*. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682020000300144#:~:text=En%20Colombia%2C%20los%20animales%20que,h%C3%BAmedos%20de%20la%20zona%20Andina.
- Mutinda et al. (2024). *Genetic improvements in sheep*. Obtenido de <https://www.veterinarypaper.com/special-issue/2024/9/1/9-1-59>
- Nassar et al. (Noviembre de 2024). *The microbiota: a key regulator of health, productivity, and reproductive success in mammals*. Obtenido de <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11616035/>
- Neila-Montero et al. (2024). *The Adaptation Time to the Extender as a Crucial Step for an Accurate Evaluation of Ram Sperm Quality during the Liquid Storage*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2306-7381/11/3/132>
- Revelo et al. (Agosto de 09 de 2022). *New Insight into the Genome-Wide Diversity and Admixture of Six Colombian Sheep Populations*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2073-4425/13/8/1415>
- Ribeiro et al. (Septiembre de 2021). *Antioxidants Present in Reproductive Tract Fluids and Their Relevance for Fertility*. Obtenido de <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8466935/>
- Saddamhusen et al. (03 de Diciembre de 2021). *Comparación de la respuesta eyaculatoria, la calidad del semen fresco y congelado y la fertilidad con vagina artificial frente al método de electroeyaculación en toros Mithun (Bos frontalis)*. Obtenido de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/and.14330>
- Saha et al. (30 de Abril de 2022). *Cryopreservation Techniques for Ram Sperm*. Obtenido de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1155/2022/7378379>
- Samantaray et al. (2025). *Microbial Contaminants in Semen and Their Effects on Sperm Motility Morphology and Fertility Outcomes*. Obtenido de <https://cuestionesdefisioterapia.com/index.php/es/article/view/2827>
- Sánchez et al. (2023). *Efecto del diluyente sobre calidad espermática del semen ovino refrigerado*. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9029400>
- Sepulveda, J. (2023). *Ventajas de la colecta de semen con vagina artificial en bovinos*. Obtenido de <https://bovinosvirtual.com/ventajas-de-la-colecta-de-semen-con-vagina-artificial-en-bovinos/>
- Serrano et al. (06 de Julio de 2020). *Influence of the Ovine Genital Tract Microbiota on the Species Artificial Insemination Outcome. A Pilot Study in Commercial Sheep Farms*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2571-5135/9/3/16>
- Serrano et al. (Julio de 2020). *Influence of the Ovine Genital Tract Microbiota on the Species Artificial Insemination Outcome. A Pilot Study in Commercial Sheep Farms*. Obtenido de https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7576495/?utm_source=chatgpt.com

- Silva et al. (31 de Marzo de 2022). *Extensive Sheep and Goat Production: The Role of Novel Technologies towards Sustainability and Animal Welfare*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2076-2615/12/7/885>
- Thibier, M. et al. (27 de Febrero de 2018). *Role of reproductive biotechnologies: global perspective, current methods and success rates*. Obtenido de <https://www.cambridge.org/core/journals/bsap-occasional-publication/article/abs/role-of-reproductive-biotechnologies-global-perspective-current-methods-and-success-rates/151FBF564922CC9529993C3EE79E3298>
- Tvrđá et al. (28 de Diciembre de 2021). *The Impact of Bacteriocenoses on Sperm Vitality, Immunological and Oxidative Characteristics of Ram Ejaculates: Does the Breed Play a Role?* Obtenido de <https://www.mdpi.com/2076-2615/12/1/54>
- Tvrđá et al. (2022). *first_pagesettingsOrder Article Reprints*. Obtenido de https://www.mdpi.com/2076-2615/12/1/54?utm_source
- UPRA, U. d. (2023). *Documento regional Santander*. Obtenido de https://upra.gov.co/Kit_Territorial/2-%20Informaci%C3%B3n%20por%20Departamentos/SANTANDER/2-%20Documento%20Regional%20UPRA%20Santander.pdf?utm_source=chatgpt.com
- Waberski et al. (14 de Octubre de 2019). *Sperm function in vitro and fertility after antibiotic-free, hypothermic storage of liquid preserved boar semen*. Obtenido de <https://www.nature.com/articles/s41598-019-51319-1>
- Xuefeng et al. (2020). *Klebsiella pneumoniae and Pseudomonas aeruginosa*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123971692000871>
- Yániz et al. (Octubre de 2010). *Bacterial contamination of ram semen, antibiotic sensitivities, and effects on sperm quality during storage at 15 °C*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432010003799>
- Zhang et al. (06 de septiembre de 2023). *Effects of Different Diluents on Semen Quality of Hu Ram Stored at 4 °C*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2076-2615/13/18/2823>