

Optimal stabilization time of canine semen. Bibliographic Review

Tiempo de estabilización óptimo de semen canino. Revisión Bibliográfica

Autores:

MV. Cordero-Vintimilla, Milton Enmanuel
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA
Maestrante en el programa de Maestría en Medicina Veterinaria, mención en Clínica y
Cirugía de Pequeñas Especies
Cuenca – Ecuador



mecorderov30@est.ucacue.edu.ec



<https://orcid.org/0009-0001-1685-222X>

Msc. Dr. Moscoso-Piedra, Andrés Leonardo
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA
Docente de la Universidad Católica de Cuenca
Cuenca – Ecuador



amoscosop@ucacue.edu.ec



<https://orcid.org/0000-0002-4017-0165>

Fechas de recepción: 10-NOV-2024 aceptación: 10-DIC-2024 publicación: 15-DIC-2024



<https://orcid.org/0000-0002-8695-5005>
<http://mqrinvestigar.com/>

Resumen

La criopreservación de semen canino es un proceso que está documentado en varias publicaciones a lo largo de los años. Este es un proceso relevante debido a que permite conservar material genético de alto valor y favorece la reproducción animal en caninos con alguna condición que evite la correcta procreación. Es fundamental tener conocimiento sobre los distintos pasos para la congelación seminal, el tiempo de estabilización es un factor crucial en este proceso ya que es el período durante el cual se prepara el material biológico para la congelación, asegurando que las células estén en condiciones óptimas para lograr mantener la movilidad y viabilidad posterior a la descongelación esto puede implicar enfriar las muestras gradualmente para evitar la formación de cristales de hielo, que pueden dañar las células. La duración específica de la estabilización puede variar ampliamente según el tipo de células y el protocolo de congelación utilizado. **Objetivo:** describir los tiempos de estabilización empleados en la congelación de semen canino. **Metodología:** Se realizó una revisión documental, descriptiva que incluyó revisiones bibliográficas, artículos científicos, tesis y estudios experimentales, publicados en español, portugués e inglés durante los últimos 5 años, que aborden el tiempo de estabilización de semen canino. **Resultados:** luego de un análisis el tiempo de estabilización óptimo es menor a 24 horas empleando una temperatura de 5 °C, sin embargo, el uso de crioconservantes permite tener un tiempo de estabilización prolongado (días) y abre camino a futuras investigaciones.

Palabras clave: tiempo de estabilización; semen; canino; congelación; criopreservación

Abstract

Cryopreservation of canine semen is a process that has been documented in several publications over the years. This is a relevant process because it allows preserving genetic material of high value and favors animal reproduction in canines with any condition that prevents correct procreation. The stabilization time is a crucial factor in this process since it is the period during which the biological material is prepared for freezing, ensuring that the cells are in optimal conditions to maintain motility and viability after thawing. This may involve cooling the samples gradually to avoid the formation of ice crystals, which can damage the cells. The specific duration of stabilization can vary widely depending on the cell type and the freezing protocol used. Objective: To describe the stabilization times used in canine semen freezing. Methodology: A descriptive documentary review was carried out, including bibliographic reviews, scientific articles, theses and experimental studies, published in Spanish, Portuguese and English during the last 5 years, dealing with the stabilization time of canine semen. Results: after an analysis, the optimal stabilization time is less than 24 hours using a temperature of 5 °C, however, the use of cryopreservatives allows a prolonged stabilization time (days) and opens the way for future research.

Keywords: stabilization time; semen; canine; freezing; cryopreservation

Introducción

La criopreservación de semen canino es un procedimiento documentado a lo largo de los años, Harrop en 1954 almaceno en frío el semen canino y en 1969 fue congelado con éxito por Seager. Desde el primer nacimiento de una camada obtenida a partir de inseminación artificial con semen congelado en 1969, el interés demostrado por especialistas en reproducción y criadores incentivo el estudio de mejoras para la congelación y la refrigeración de semen canino. Creando bancos de semen en universidades y entidades privadas en diferentes lugares del mundo. Los cuales proveen un reservorio de material genético importante en la preservación de caracteres fenotípicos de diversas razas, previniendo cualquier posibilidad de desaparición futura, tanto por motivos ecológicos, sanitarios o catástrofes naturales. (Stornelli & Sota, 2006) (Garay, 2019)

Este proceso es relevante debido a que permite el uso de un reproductor luego de haber finalizado su vida reproductiva, inseminar una hembra ubicada en una localización lejana, que presente problemas de conducta o vagina estrecha y cuando los machos tengan rigidez o debilidad en las extremidades inferiores, desarrollen rápido engrosamiento del bulbo del pene imposibilitando la penetración o sencillamente son de menor tamaño respecto a las hembras todo esto evita gastos y mejora la reproducción animal. Además, estos conocimientos desarrollados resultan ser útiles para la congelación de semen de caninos silvestres en vías de extinción lo que permitirá aumentar las posibilidades de preservación de estas especies. (Proaño Montesdeoca, 2019)

No obstante, en el desarrollo de la crioconservación hay un gran número de factores que pueden afectar la capacidad fertilizante del semen canino. Se estima que entre el 40 y 50% de la población de espermatozoides no sobrevive a la congelación y descongelación. La tasa de preñez al utilizar semen refrigerado varía entre 45 y 65%, y depende de factores como la calidad del semen, el momento de inseminación y el lugar donde se deposite el semen, mientras que la tasa de preñez con semen fresco es alrededor del 84%. Esta diferencia podría deberse a que los espermatozoides pueden experimentar daños a nivel de los organelos celulares durante el procedimiento. (Vaca, 2016)

Estos cambios son provocados por el estrés y pueden afectar a los espermatozoides en cualquier etapa del procedimiento: la técnica de recolección de semen, la tasa de dilución, el tipo y la composición del extensor, el enfriamiento, velocidad de centrifugación, el tiempo y la temperatura de equilibrio, el método de envasado y velocidad y el método de congelación y descongelación. En conjunto, estos factores son la razón por la que sólo el 50% de los espermatozoides sobreviven el proceso de criopreservación. Conocer las causas de las lesiones es un factor clave para desarrollar nuevos métodos y técnicas de criopreservación

con el objetivo de mejorar la supervivencia de espermatozoides, es por ello que es esta revisión bibliográfica se enfoca en describir los tiempos de estabilización empleados en la congelación de semen canino y evaluar el tiempo de estabilización óptimo.(Domain et al., 2019)

El tiempo de estabilización es el período durante el cual se prepara el material genético para la congelación, garantizando que las células estén en condiciones óptimas. Esto puede implicar enfriar las muestras gradualmente para evitar la formación de cristales de hielo, que pueden dañar las células. La duración específica de la estabilización puede variar ampliamente según el tipo de células y el protocolo de congelación utilizado.(Domain et al., 2019)

Por otro lado, el tiempo de estabilización podría verse influenciado por la elección del criopreservante, ya que pueden tener distintos efectos en la viabilidad y la motilidad de los espermatozoides después de la descongelación. También por la forma y condiciones en que se almacena el semen. Sobre todo, la duración de equilibrio en diferentes estudios manifiesta que el tiempo de estabilización óptimo para el semen canino es de aproximadamente 6 horas a 4°C sin embargo se puede congelar de manera segura después de permanecer 24 horas en condiciones de transporte refrigerado, aunque la motilidad tiende a disminuir después de 48 horas. Si bien los tiempos de estabilización establecidos son efectivos, otras investigaciones sugieren que los avances en activadores y diluyentes de semen podrían mejorar más la calidad de los espermatozoides durante períodos de almacenamiento de 2 a 3 días a 10 a 14 días extendiendo la viabilidad más allá de los límites actuales. (Bencharif & Dordas-Perpinya, 2020; Colombo et al., 2022; Martínez-Barbitta & Salinas, 2021)

Este punto del proceso es un factor esencial para el éxito de las técnicas de reproducción para caninos. La elección de la forma de criopreservación y los diluyentes y el momento en que se produce el ciclo influyen en la determinación del tiempo de estabilización óptimo para lograr resultados de reproducción efectivos. Es ideal continuar con más investigaciones para establecer tiempos de estabilización precisos para diversas aplicaciones de la tecnología de reproducción en caninos.(Suzuki et al., 2022)

Material y métodos

- Diseño del estudio:

Se realizó una revisión bibliográfica documental, descriptiva en la cual se describirán los tiempos empleados en la estabilización de semen canino.

- Estrategias de búsqueda:

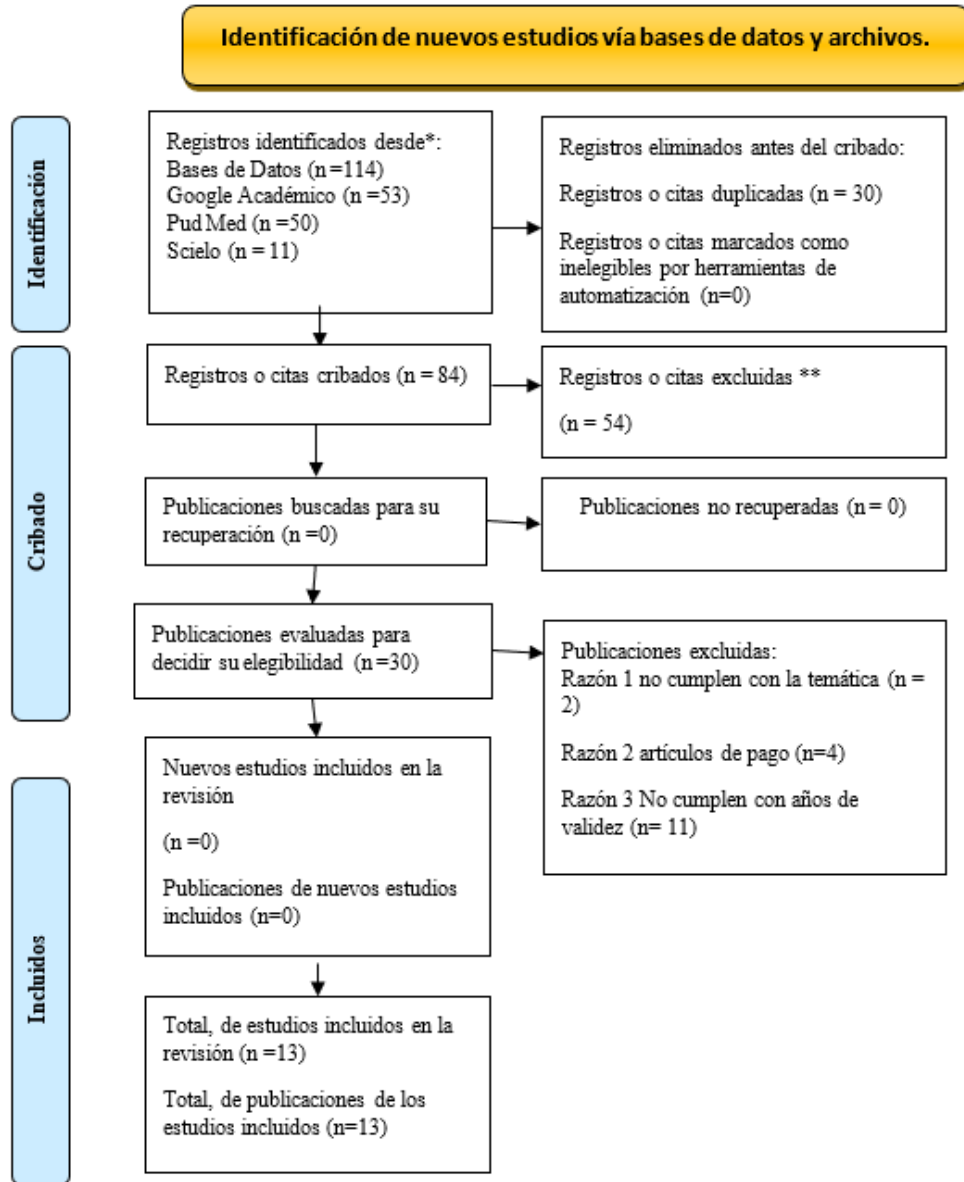
Se desarrolló una búsqueda en distintas bases de datos académicas como: Google Scholar, PubMed, Elsevier y Scielo. Se utilizaron operadores booleanos como: “AND”, “OR”, como

conectores de las palabras claves estabilización, semen canino, congelación. Los artículos que se encuentren redactados en otro idioma serán traducidos con traductor Deepl y DocTranslator.

- Criterios de selección:

Para la elección de los artículos se emplearon los siguientes criterios de inclusión; revisiones sistemáticas, metaanálisis, estudios experimentales, tesis, documentos publicados en español, inglés y portugués durante los últimos 5 años, que presenten información valiosa sobre el tiempo de estabilización óptimo de semen canino. Como criterios de exclusión; artículos que no tengan pertinencia con la temática de estabilización de semen canino, que se presenten en diferentes animales, artículos publicados en un idioma diferente y artículos de pago.

Figura 1
 Diagrama de flujo



Fuente: Elaborado por el autor

Resultados

Inicialmente, se encontraron 114 artículos en las 4 bases de datos: en Google académico 53 artículos, en Pub Med 50 artículos y SciELO 11 artículos de los cuales fueron eliminados 30 duplicados. Después de un primer análisis se registraron 84 artículos que fueron examinados mediante lectura de resumen y conclusiones de los cuales 54 fueron excluidos al presentar no presentar información del tiempo de estabilización. Se identificó un total de 30 artículos relacionados con la temática de estudio, 4 de los cuales no estaban disponibles en forma

gratuita, 11 no cumplen con los años de validez y 2 no presenta una estructura completa (objetivos, resultados y conclusiones) en el artículo, por lo tanto, se excluyeron 101 publicaciones. Aplicando los criterios de inclusión y exclusión se consideraron 13 artículos.

Además, se realizó un análisis estadístico de los artículos seleccionados para la revisión bibliográfica de acuerdo con las bases de datos, 10 artículos pertenecen a Google académico, 2 a Pub Med y 1 a Scielo. En cuanto a los años de publicación de los artículos 2 son del año 2019, 4 del 2020, 1 en el año 2021, 3 en el 2022, 2 en el 2023 y finalmente 1 del 2024. En relación con el idioma de los artículos 10 corresponden al idioma inglés, 2 al español y 1 portugués. Los datos fueron sistematizados en una matriz de Excel donde consta base de datos, revista, título, año de publicación y tiempo de estabilización empleado/ resultados.

Como se detalla en la tabla N1.

Tabla 1
Matriz de búsqueda bibliográfica

N°	Base de Datos	Publicado en	Autores y año de la Publicación		Idioma	Titulo	Tiempo de estabilización empleado/ Resultados
1	Google Académico	Repositorio Institucional UCUEN CA	Gabriela Garay	Sofía Peña (2019)	Español	Efecto de la centrifugación coloidal previo al proceso de criopreservación sobre la calidad seminal post descongelación en caninos	En la fase de equilibrio de los dos grupos de alícuotas fueron colocados en un recipiente con agua a 15°C/30min, luego en la refrigeradora a 5°C/1hora. Con este procedimiento se logró bajar la temperatura a 5°C manteniendo las muestras seminales únicamente con el diluyente A. La adición de glicerol al 4% durante el proceso de criopreservación brindo altos porcentajes de protección celular
2	Google Académico	Revista Colombiana de Ciencia Animal Recia	Julián Arango, Vanessa Castrillon, Natali Correa, Marcela Suarez, Diego Carrillo	(2020)	Español	Criopreservación de semen canino (Canis familiaris) en pajilla francesa en el municipio de Medellín, Antioquia	Las pajillas fueron llevadas a refrigeración en una nevera, esta se realizó desde 24°C hasta 4°C durante 3-4 horas, permitiendo así, que el diluyente interactuara con el semen, también para que se redujera el metabolismo celular y evitar la toxicidad del agente crioprotector que contiene el diluyente.(Arango-Múnera et al., 2020)

3	Google académico	Reproduction in domestic animals	Djemil Bencharif, Marta Dordas-Perpinya. (2020)	Inglés	Canine semen cryoconservation: Emerging data over the last 20 years	El tiempo óptimo de estabilización del semen canino durante la etapa de equilibración es de 6 horas a una temperatura de +4 °C antes de congelarlo, lo que mejora la movilidad del esperma después de la descongelación y el éxito general de la crioconservación.(Bencharif & Dordas-Perpinya, 2020)
4	Google académico	Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift	G. Dominio, E. Wydooghe, B.JG Broeckx, M. Hoogewijs, A. Van Soom (2019)	Inglés	Semen donation and establishment of an open canine semen bank: A novel tool to prevent inbreeding in pedigree dogs	Este período de enfriamiento, llamado equilibrio, es un paso esencial durante el procedimiento de criopreservación se da durante 1 a 2 horas a 4°C para que los espermatozoides puedan sobrevivir a bajas temperaturas. (Domain et al., 2019)
5	Google Académico	Animals	Nicole Sugai, Stephen. Werre, Julie Cecere. Orsolya Balogh (2023)	Inglés	Defining an Optimal Range of Centrifugation Parameters for Canine Semen Processing	El tiempo de estabilización del semen canino, después del procesamiento y enfriamiento, es el mejor para la inseminación dentro de las 24 horas. Se producen disminuciones significativas en la motilidad de los espermatozoides y la integridad de la membrana entre las 24 y las 48 horas durante el almacenamiento refrigerado, lo que afecta la calidad general del semen.(Sugai et al., 2023)
6	Google Académico	Animals	Martina Colombo, Maria Giorgia Morselli, Giulia Franchi, Sabine Schäfer-Somi, Gaia Cecilia Luvoni. (2022)	Inglés	Freezability of Dog Semen after Collection in Field Conditions and Cooled Transport	El semen canino puede estabilizarse hasta 48 horas en una caja de transporte refrigerada sin afectar significativamente las características morfofuncionales. Sin embargo, es aconsejable un tiempo de estabilización más corto, de 24 horas, para mantener mejor la motilidad de los espermatozoides después de la descongelación.(Colombo et al., 2022)

7	Google Académico	Animals	Guillaume Domain, H. Ali Hassan, Eline Wydooge, O. Bogado Pascottini, Anders Johansson, Jane M Morrell, Wojciech Nizanski, A Van Soom. (2022)	Inglés	Influence of Single Layer Centrifugation with Canicoll on Semen Freezability in Dogs	El semen extendido se equilibró a 4 °C durante 90 min después de reservar una alícuota para su análisis.(Domain et al., 2022)
8	Google Académico	BioRxiv	Martínez Marcelo; Rivera, Claudio. (2021)	Inglés	The effect of a canine semen activator supplementat ion or addition on the long-term refrigeration quality of dog spermatozoa	Las muestras individuales de semen fueron refrigeradas a 4 °C y evaluadas cada 24 horas durante 14 días. La presencia del activador del semen mejoró significativamente la calidad del semen refrigerado, lo que indica que el tiempo de estabilización se extiende de manera efectiva con el uso del activador de semen. (Martínez-Barbitta & Salinas, 2021)
9	Google Académico	Reproduccion animal	Anton Antonov, Boyana Ivanova (2023)	Inglés	Canine sperm vitrification with nonpermeable cryoprotectants and coconut water extender	El tiempo de estabilización en este estudio se estableció específicamente en 60 minutos a 5 °C, que es un paso crítico en el proceso de vitrificación para mejorar las posibilidades de una preservación exitosa de los espermatozoides.(Antonov & Ivanova, 2023)
10	Google Académico	Biopreservacion y Biobancos	Michelle Silva Araujo, Otávio Luis de Oliveira Henriques Paulo, Fernanda Paulini, Daniel de Souza Ramos	Inglés	Seminal Plasma Does Not Influence Canine Semen Stored at 5°C for	El tiempo de estabilización del semen canino almacenado a 5 °C en este estudio fue efectivo hasta por 7 días, y las evaluaciones indicaron que, si bien algunas características del esperma pueden disminuir, la calidad general se

			Angrimani, Miriam Harumi Tsunemi, Camilla de Paula Freitas Dell'Aqua, Federico Ozanam Papa, Fabiana Ferreira de Souza. (2022)		Long-Term Conservation puede mantener con extensores adecuados.(Araujo et al., 2022)
1 1	Pud Med Scand	Acta Vet	Letizia Sinagra, Ángela Polisca, Julia Donato, Tiziana Caspanello, Giorgia Pettina, Sara Pastore, Máximo De Majo, Santa Cristarella, Marco Quartuccio, Viola Zappone. (2024)	Inglés	Enhancing canine semen quality through a second centrifugation after 48 hours of storage: a comparative study El estudio encontró una disminución gradual de los parámetros de calidad del esperma con el tiempo, particularmente después de 24 y 48 horas. Esto resalta la importancia de monitorear el tiempo de estabilización para garantizar una calidad óptima del esperma para fines de reproducción.(Sinagra et al., 2024)
1 2	Pud Med	Reproduction in Domestic Animals	Seyyed Aliakbar Sheikholeslami, Ali Soleimanzadeh, Alale Rakhshanpour, Dariush Shirani (2020)	Inglés	The evaluation of lycopene and cysteamine supplementation effects on sperm and oxidative stress parameters during chilled storage of canine semen. El semen canino se equilibró a 5 °C durante un total de 72 horas. Esta duración es fundamental para evaluar los efectos de los suplementos en la calidad del esperma y los parámetros de estrés oxidativo durante el almacenamiento.(Sheikholeslami et al., 2020)

1 3	Scielo	Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.	S.T.PAG. Lopes, yo.A.DO. Sousa hijo, yo.yo.yo. Silva, F.norte. Barros, Metro .A. Doastelo Blanco, yo.S. Melo Evangelista, yo.A.yo. Souza (2020)	Portugué s de recuperação de espermatozoid es epididimários de cães e avaliação seminal pós- criopreservaçã o	El semen diluido fue refrigerado, alcanzando solo una temperatura de 5°C, estabilizándose durante una hora a esta temperatura. Se concluye que las técnicas de recuperación de espermatozoides epididimarios de perros castrados, probadas en este trabajo, pueden usarse para refrigeración y crio preservación de semen.(Lopes et al., 2020)
--------	--------	--	--	---	---

Fuente: Elaborado por el autor

Discusión

El tiempo de estabilización de semen canino es un evento importante en el éxito de la criopreservación y la inseminación artificial a lo largo de los años. Todos los objetivos se direccionan a buscar técnicas y materiales para optimizar y mejorar la vitalidad de los espermatozoides durante el proceso de refrigeración, congelación y descongelación. El desarrollo de crioprotectores, parámetros de centrifugación, tiempo y temperatura de estabilización y la reducción del daño en los espermatozoides son clave en el proceso de congelación.

Temperatura de estabilización

Desde 1999 Januskauskas en su estudio menciona la importancia de la estabilización y las condiciones óptimas para su procedimiento, puesto que los espermatozoides de la mayoría de los mamíferos son sensibles al cambio de temperatura, pudiendo afectar a su supervivencia postdescongelación. (Celeste et al., 2005)

Se ha investigado que los espermatozoides de la mayoría de las especies requieren una temperatura por encima de 0 °C en presencia de un crioprotector para crear una resistencia positiva a los efectos de la congelación. No obstante Watson en 1979 describió que este no era el caso, debido a que la que la penetración completa del glicerol en el espermatozoide toma solo de 3 a 5 minutos a 25 °C o 5 °C mencionando que el período de equilibrio es para favorecer que las membranas sean más resistentes al enfriamiento. Por otro lado, Ennen en

1976 demostraron que los espermatozoides enfriados lentamente requerían un tiempo de equilibrio más corto en comparación con el enfriamiento rápido antes de la congelación. (Celeste et al., 2005)

Por lo tanto, según estos estudios una temperatura por encima de 0 °C puede proporcionar una resistencia adicional a la congelación y descongelación. En los diferentes estudios se emplea una temperatura de 4 °C con resultados favorables en la descongelación. (Hori et al., 2015; Prapaiwan et al., 2015). Los resultados óptimos se han obtenido generalmente enfriando el semen a una temperatura de almacenamiento de 4 °C lo antes posible después de la recolección para disminuir el daño en metabolismo de los espermatozoides. (Batista et al., 2016; Bencharif & Dordas-Perpinya, 2020; Domain et al., 2022; Mota Filho et al., 2014)

Además, existen estudios presentes en esta revisión donde la temperatura de estabilización cambia a 5 °C y se evidencio una menor proporción de espermatozoides anormales y aumento de la vitalidad en comparación con otras investigaciones (Antonov & Ivanova, 2023; Araujo et al., 2022; Garay, 2019; Giovanni Restrepo et al., 2017; Lopes et al., 2020; Sheikholeslami et al., 2020).

Tiempo de estabilización

Andersen en 1980 reportó que empleó un periodo de refrigeración y equilibrio de aproximadamente 2 a 3 horas. Por su parte, Olar y su equipo en 1989 evaluaron diferentes tiempos de refrigeración y equilibrio, concluyendo que periodos de 1, 2 o 3 horas de refrigeración combinados con 1 o 2 horas de equilibrio no afectaron la motilidad antes de la congelación. Sin embargo, los mejores resultados de motilidad tras la descongelación se obtuvieron con combinaciones de 1 hora de refrigeración y 1 hora de equilibrio, o 2 horas de refrigeración y 2 horas de equilibrio lo que genera una interacción para determinar la motilidad postdescongelación (Celeste et al., 2005).

En su investigación (Restrepo et al., 2017) sometió el semen a una estabilización durante 30 minutos y evidencio reducción de anormalidades. Al igual que (Mota Filho et al., 2014) manifestando que el procedimiento de congelación debe realizarse inmediatamente después de la recuperación de los espermatozoides.

Estos autores (Antonov & Ivanova, 2023; Garay, 2019; Lopes et al., 2020; Prapaiwan et al., 2015) realizaron su estabilización por el tiempo de 1 hora teniendo como resultado mejorar las posibilidades de una preservación exitosa y que los espermatozoides puedan sobrevivir a bajas temperaturas. Otras investigaciones indican que el período de equilibrio óptimo para el semen canino a es de aproximadamente 6 horas, lo que mejora la motilidad posterior a la descongelación (Bencharif & Dordas-Perpinya, 2020).

Además, estas investigaciones (Batista et al., 2016; Colombo et al., 2022; Sinagra et al., 2024; Sugai et al., 2023) emplearon un tiempo de estabilización más largo y muestran que el semen se puede congelar de manera efectiva después de permanecer 24 horas en condiciones de estabilización, aunque la motilidad tiende a disminuir después de 48 horas, por lo que mencionan que es aconsejable un tiempo de estabilización más corto, de 24 horas, para mantener mejor la motilidad y vitalidad de los espermatozoides después de la descongelación. Este hallazgo subraya la relevancia de controlar el tiempo de estabilización para preservar la calidad óptima del semen destinado a fines reproductivos.

(Araujo et al., 2022) desarrollo un estudio que emplea un tiempo de estabilización de semen canino hasta 7 días, donde las evaluaciones indicaron que, si bien algunas características del esperma pueden disminuir, la calidad general se puede mantener con extensores adecuados.

Por otro lado (Martínez-Barbitta & Salinas, 2021) usaron un tiempo de 14 días, realizando evaluaciones cada 24 horas donde la vitalidad y movilidad de los espermatozoides alcanzó el 70% el día 10 y el 65% el día 14, lo que indica que el esperma mantuvo un nivel de calidad que se considera normal y potencialmente fértil. Por lo que el tiempo de estabilización con suplementación de activador de semen muestra que la calidad del esperma puede mantenerse en niveles aceptables hasta por 14 días, con cambios notables que ocurren particularmente después del día 10.

Otro aspecto importante sobre el tiempo de estabilización es que podría verse influenciado por la elección del extensor o diluyente, ya que los mismo pueden tener diferentes efectos en la viabilidad y la motilidad de los espermatozoides después de la descongelación. Según estudios los tiempos de estabilización empleados son efectivos, sin embargo, algunos autores sugieren que los avances en activadores y extensores de semen podrían mejorar aún más la calidad de los espermatozoides durante períodos de almacenamiento más prolongados, lo que podría extender la viabilidad más allá de los límites actuales, considerando estas investigaciones como nuevas alternativas para mejorar el proceso de criopreservación (Araujo et al., 2022; Martínez-Barbitta & Salinas, 2021).

El uso de Triladyl® como crioprotector ha mostrado resultados prometedores, manteniendo la motilidad y el vigor de los espermatozoides después de la descongelación (Arango-Múnica et al., 2020). Y las lipoproteínas de baja densidad (LDL) de la yema de huevo han sido efectivas, con concentraciones óptimas que producen hasta un 54,5% de motilidad (Bencharif & Dordas-Perpinya, 2020).

Conclusiones

Se describió los tiempos de estabilización empleados en la congelación de semen canino, cada estudio emplea su protocolo con el objetivo de conservar la mayor vitalidad del esperma.

Sin embargo, luego de un análisis el tiempo de estabilización óptimo es menor a 24 horas empleando una temperatura de 5 °C, permitiendo mantener mejor la motilidad y vitalidad del semen. Sin embargo, perspectivas alternativas podrían mejorar la calidad de los espermatozoides durante períodos más prolongados mediante el uso de crioprotectores que generan la expectativa a nuevas modalidades de trabajo con diluyentes para frío conservar reproductores de alto valor genético, sin necesidad de congelar el semen (con los dramáticos cambios que la congelación/descongelación provoca en la célula seminal), con las complejidades de transporte, costos y manejo que requieren para obtener resultados satisfactorios.

Referencias bibliográficas

- Antonov, A., & Ivanova, B. (2023). Canine sperm vitrification with nonpermeable cryoprotectants and coconut water extender. *Animal Reproduction*, 20(2). <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2023-0004>
- Arango-Múnera, J. D., Castrillón-Zuluaga, V., Correa-Rendón, N., Suarez-Delgado, M., & Carrillo-Gonzalez, D. F. (2020). Criopreservación de semen canino (*Canis familiaris*) en pajilla francesa en el municipio de Medellín, Antioquia. *Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA*, 12(1), e754-e754. <https://doi.org/10.24188/RECIA.V12.N1.2020.754>
- Araujo, M. S., De Oliveira Henriques Paulo, O. L., Paulini, F., De Souza Ramos Angrimani, D., Tsunemi, M. H., De Paula Freitas Dell'Aqua, C., Papa, F. O., & De Souza, F. F. (2022). Seminal Plasma Does Not Influence Canine Semen Stored at 5°C for Long-Term Conservation. *Biopreservation and Biobanking*, 20(2), 149-162. <https://doi.org/10.1089/BIO.2021.0054>
- Batista, M., Vilar, J., Rosario, I., & Terradas, E. (2016). Influence of different anaesthetic protocols over the sperm quality on the fresh, chilled (4°C) and frozen-thawed epididymal sperm samples in domestic dogs. *Reproduction in Domestic Animals*, 51(5), 758-765. <https://doi.org/10.1111/RDA.12743>
- Bencharif, D., & Dordas-Perpinya, M. (2020). Canine semen cryoconservation: Emerging data over the last 20 years. *Reproduction in Domestic Animals*, 55(S2), 61-65. <https://doi.org/10.1111/RDA.13629>
- Celeste, A., Martins De Carvalho Bessa, A., María, A., Antonio, M.-A., Mittermayer, L., & Rocha, M. (2005). Influencia en la calidad espermática de la adición de distintas

concentraciones de crioprotectores para la conservación del semen canino. Universidad Complutense de Madrid facultad de veterinaria.

- Colombo, M., Morselli, M. G., Franchi, G., Schäfer-Somi, S., & Luvoni, G. C. (2022). Freezability of Dog Semen after Collection in Field Conditions and Cooled Transport. *Animals*, 12(7), 816–816. <https://doi.org/10.3390/ANI12070816>
- Domain, G., Hassan, H. A., Wydooghe, E., Pascottini, O. B., Johannisson, A., Morrell, J. M., Nizański, W., & Soom, A. Van. (2022). Influence of Single Layer Centrifugation with Canicoll on Semen Freezability in Dogs. *Animals*, 12(6), 714–714. <https://doi.org/10.3390/ANI12060714>
- Domain, G., Wydooghe, E., Broeckx, B. J. G., Hoogewijs, M., & Van Soom, A. (2019). Semen donation and establishment of an open canine semen bank: a novel tool to prevent inbreeding in pedigree dogs. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 88(1), 55–61. <https://doi.org/10.21825/VDT.V88I1.16045>
- Garay, G. (2019). Efecto de la centrifugación coloidal previo al proceso de crio conservación sobre la calidad seminal post descongelación en caninos. U CUENCA .
- Giovanni Restrepo, B., Carlos Andrés Madrid, R., Laura Prieto, R., Juan Esteban Duque, C., & Alexandra Usuga, S. (2017). Congelación de Semen Epididimal Canino con Yema de Huevo Centrifugada. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 28(4), 876–885. <https://doi.org/10.15381/RIVEP.V28I4.13886>
- Hori, T., Atago, T., Kobayashi, M., & Kawakami, E. (2015). Influence of different methods of collection from the canine epididymides on post-thaw caudal epididymal sperm quality. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 77(5), 625–630. <https://doi.org/10.1292/JVMS.14-0421>
- Lopes, S. T. P., Filho, M. A. C. S., Silva, J. H. L., Barros, F. N., Branco, M. A. C., Evangelista, L. S. M., & Souza, J. A. T. (2020). Eficiência de duas técnicas de recuperação de espermatozoides epididimários de cães e avaliação seminal pós-criopreservação. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 72(5), 1758–1766. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-11020>
- Martínez-Barbitta, M., & Salinas, C. R. (2021). The effect of a canine semen activator supplementation or addition on the long-term refrigeration quality of dog spermatozoa. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2021.04.09.439141>
- Mota Filho, A. Ô. C., Silva, H. V. R., Nunes, T. G. P., de Souza, M. B., de Freitas, L. A., de Araújo, A. A., & da Silva, L. D. M. (2014). Cryopreservation of canine epididymal sperm using ACP-106c and TRIS. *Cryobiology*, 69(1), 17–21. <https://doi.org/10.1016/J.CRYOBIOL.2014.04.013>
- Prapaiwan, N., Tharasanit, T., Punjachaipornpol, S., Yamtang, D., Roongsitthichai, A., Moonarmart, W., Kaeoket, K., & Manee-In, S. (2015). Low-density Lipoprotein Improves Motility and Plasma Membrane Integrity of Cryopreserved Canine Epididymal Spermatozoa. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(5), 646. <https://doi.org/10.5713/AJAS.15.0572>

- Proaño Montesdeoca, P. E. (2019). Evaluación de la Adición de Yema de Huevo y Crema de Leche al diluyente, para la Crioconservación del Semen Canino. Ecuador, Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC). <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/5987>
- Sheikholeslami, S. A., Soleimanzadeh, A., Rakhshanpour, A., & Shirani, D. (2020). The evaluation of lycopene and cysteamine supplementation effects on sperm and oxidative stress parameters during chilled storage of canine semen. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 55(9), 1229–1239. <https://doi.org/10.1111/RDA.13770>
- Sinagra, L., Polisca, A., Donato, G., Caspanello, T., Pettina, G., Pastore, S., De Majò, M., Cristarella, S., Quartuccio, M., & Zappone, V. (2024). Enhancing canine semen quality through a second centrifugation after 48 hours of storage: a comparative study. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 66(1). <https://doi.org/10.1186/S13028-024-00767-5>
- Stornelli, M. A., & Sota, R. L. de la. (2006). Fertilidad y supervivencia del semen canino criopreservado. *Analecta Veterinaria*, 26, no. 2. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/11194>
- Sugai, N., Werre, S., Cecere, J., & Balogh, O. (2023). Defining an Optimal Range of Centrifugation Parameters for Canine Semen Processing. *Animals*, 13(8), 1421–1421. <https://doi.org/10.3390/ANI13081421>
- Suzuki, H., Watanabe, H., & Abe, Y. (2022). Assisted reproductive techniques for canines: preservation of genetic material in domestic dogs. *Journal of Reproduction and Development*, 68(1), 1–11. <https://doi.org/10.1262/JRD.2021-111>
- Vaca, M. (2016). Salud supervivencia y viabilidad espermática canina usando diluyentes de semen y concentraciones crio protectoras en toda la cadena de crio preservación de semen.

Conflicto de intereses:

Los autores declaran que no existe conflicto de interés posible.

Financiamiento:

No existió asistencia financiera de partes externas al presente artículo.

Agradecimiento:

En primer lugar agradezco a mi amado Dios por brindarme de vida y salud para seguir formándome en mi profesión, a mi padre Milton que siempre ha sido mi ejemplo y mi inspiración para superarme, a mi madre Cecilia que es mi apoyo aquí en la tierra, a mi compañera de vida Lesly, que es mi ayuda y fortaleza en todo este año de estudio a pesar de estar formando a nuestro pequeñ@ hij@ que desde ya lo amamos con todo nuestro corazón, a mi abuela Estela por sus oraciones y porque cada día que salgo de casa me desea lo mejor, a mis sobrinas Emilia y Sol que han sido mi motor para seguir superándome en este viaje llamado vida, a mi querida Universidad Católica de Cuenca, a sus docentes de pregrado y tener el honor de que me hayan recibido de la mejor manera en este postgrado gracias totales a cada uno de los nombrados.

Nota:

El artículo no es producto de una publicación anterior.

