



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Medicina Veterinaria

Maestría en Reproducción Animal con Mención Rumiantes

Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino a distintas temperaturas de descongelación y a diferentes intervalos de tiempo post-descongelación

Trabajo de Titulación, previo a la obtención del título de Magister en Reproducción Animal con Mención en Rumiantes

AUTOR:

Ing. Pablo Andrés Villavicencio Celi

DIRECTOR:

Dr. Wilmer Vacacela Ajila, Mgtr.

Loja – Ecuador

2025

Certificación

CERTIFICADO DE CULMINACIÓN Y APROBACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, **VACACELA AJILA WILMER AUGUSTO**, director del Trabajo de Titulación denominado **Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino a distintas temperaturas de descongelación y a diferentes intervalos de tiempo post- descongelación**, perteneciente al estudiante **PABLO ANDRES VILLAVICENCIO CELI**, con cédula de identidad N° **1104333370**.

Certifico:

Que luego de haber dirigido el **Trabajo de Titulación**, habiendo realizado una revisión exhaustiva para prevenir y eliminar cualquier forma de plagio, garantizando la debida honestidad académica, se encuentra concluido, aprobado y está en condiciones para ser presentado ante las instancias correspondientes.

Es lo que puedo certificar en honor a la verdad, a fin de que, de así considerarlo pertinente, el/la señor/a docente de la asignatura de **Titulación**, proceda al registro del mismo en el Sistema de Gestión Académico como parte de los requisitos de acreditación de la Unidad de Titulación del mencionado estudiante.

Loja, 27 de Febrero de 2025



Verificar Autenticidad
VACACELA AJILA

F) _____
DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN



Certificado TIC/TT.: UNL-2025-001347

Autoría

Yo, **Pablo Andrés Villavicencio Celi**, declaro ser autor del presente Trabajo de Titulación y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma:

Cédula de identidad: 1104333370

Fecha: 27 de febrero de 2025

Correo electrónico: pablo.villavicencio@unl.edu.ec

Teléfono: 0979593352

Carta de autorización por parte del autor, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo del Trabajo de Titulación

Yo, **Pablo Andrés Villavicencio Celi**, declaro ser autor del Trabajo de Titulación denominado: **Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino a distintas temperaturas de descongelación y a diferentes intervalos de tiempo post- descongelación**, como requisito para optar por el título de **Magíster en Reproducción Animal con Mención en Rumiantes**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Titulación que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los veintisiete días del mes de enero del dos mil veinticinco.

Firma:

Autor: Ing. Pablo Andrés Villavicencio Celi

Cédula: 1104333370

Dirección: Santa Mariana de Jesús y Pichincha

Correo electrónico: pablo.villavicencio@unl.edu.ec

Teléfono: 0979593352

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Director del Trabajo de Integración Curricular: Dr. Wilmer Vacacela Ajila, Mgtr.

Dedicatoria

Dedico el presente a Dios por guiarme y permitirme seguir a delante con el voy y regreso de todo proyecto y meta a alcanzar.

A mis padres y hermanos por siempre alentarme a crecer como persona y profesionalmente sin su apoyo incondicional no sería posible ningún logro.

A mi esposa e hijos siempre son una fuente de inspiración para seguir adelante todo lo logrado es para ustedes con amor y respeto.

Una dedicatoria especial a todas las personas que creyeron en mí, principalmente a todos los que creían que no lo lograría, con trabajo esfuerzo y dedicación todo se logra.

Pablo Andrés Villavicencio Celi

Agradecimiento

A Dios, por guiarme con paso firme para alcanzar mis objetivos. A mi familia, parte del tiempo entregado a este logro es de ellos. A los docentes, por transmitir sus conocimientos de manera especial al Dr. Wilmer Vacacela por su apoyo en el desarrollo de este trabajo y al Dr. Manuel Quezada por guiarme siempre en el desarrollo de la maestría. A mis amigos y compañeros que estuvieron conmigo en todos los momentos de este gran reto. De manera especial a Jefferson Lasso, Patricio Cevallos y Xavier Zambrano gracias por su apoyo, Los amigos son la familia que uno elige para que lo apoyen y sostengan en este camino que es la vida.

Pablo Andrés Villavicencio Celi

Índice de contenidos

| | |
|--|-----------|
| Portada | i |
| Certificación..... | ii |
| Autoría..... | iii |
| Carta de autorización..... | iv |
| Dedicatoria | v |
| Agradecimiento..... | vi |
| Índice de contenidos | vii |
| Índice de tablas | x |
| Índice de anexos..... | xi |
| 1. Título..... | 1 |
| 2. Resumen | 2 |
| Abstract | 3 |
| 3. Introducción..... | 4 |
| 4. Marco Teórico..... | 6 |
| 4.1. Generalidades | 6 |
| 4.2. Reproducción Bovina | 6 |
| 4.3. Impacto de la Reproducción Eficiente en la Producción de Carne y Leche. | 7 |
| 4.4. Semen Bovino..... | 7 |
| 4.4.1. Biología del Semen Bovino..... | 7 |
| 4.4.2. Composición Espermática Bovina | 7 |
| 4.4.3. Características | 7 |
| 4.4.4. Parámetro de Calidad d.el Semen | 8 |
| 4.5. Conservación y Criopreservación del Semen..... | 9 |
| 4.5.1. Ventajas de la Criopreservación sobre otros Métodos de Conservación. | 9 |
| 4.5.2. Factores que Afectan la Motilidad y Viabilidad del Semen Descongelado ... | 10 |
| 4.5.3. Aplicaciones Prácticas en la Reproducción Ganadera | 10 |
| 4.6. Efecto de las Temperaturas de Descongelación..... | 10 |

| | | |
|--------------|--|-----------|
| 4.6.1. | Descongelación Rápida (60 °C): | 10 |
| 4.6.2. | Descongelación Lenta (37 °C): | 11 |
| 4.7. | Viabilidad Post-Descongelación | 11 |
| 4.8. | Impacto de Diluyentes en la Criopreservación | 11 |
| 4.9. | Factores Fisiológicos del Toro | 11 |
| 4.10. | Importancia de la Evaluación..... | 11 |
| 4.11. | Estudios Relacionados..... | 12 |
| 5. | Materiales y Métodos | 13 |
| 5.1. | Área de estudio | 13 |
| 5.2. | Procedimiento | 13 |
| 5.2.1. | Enfoque Metodológico | 13 |
| 5.2.2. | Diseño de la Investigación | 13 |
| 5.2.3. | Tamaño de la muestra y tipo de muestreo..... | 14 |
| 5.2.4. | Técnicas..... | 14 |
| 5.2.5. | Variables de estudio | 14 |
| 5.2.6. | Procesamiento y análisis de la información | 15 |
| 6. | Resultados | 16 |
| 6.1. | Evaluar la Motilidad Individual Seminal Post Descongelado a Temperaturas de 38°C y 40°C. | 16 |
| 6.2. | Determinar la Motilidad Mínima del 30% de Semen Bovino y su Viabilidad en el Tiempo, Midiendo a 30, 60 y 90 Minutos. | 16 |
| 6.3. | Comparar la Motilidad Individual Post Descongelado en el Tiempo..... | 17 |
| 7. | Discusión..... | 18 |
| 7.1. | Evaluar la Motilidad Individual Seminal Post Descongelado a Temperaturas de 38°C y 40°C. | 18 |
| 7.2. | Determinar la Motilidad Mínima del 30% de Semen Bovino y su Viabilidad en el Tiempo, Midiendo a 30, 60 y 90 Minutos. | 19 |
| 7.3. | Comparar la Motilidad Individual Post Descongelado en el Tiempo..... | 19 |
| 8. | Conclusiones..... | 21 |
| 9. | Recomendaciones..... | 22 |
| 10. | Bibliografía..... | 23 |

11. Anexos..... 27

Índice de tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Características espermáticas bovinas | 8 |
| Tabla 2. Parámetros de calidad..... | 8 |
| Tabla 3. Varibales del estudio | 15 |
| Tabla 4. Porcentaje de motilidad a temperatura de 38° y 40° Celsius | 16 |
| Tabla 5. Porcentaje de motilidad a 30, 60 y 90 minutos post descongelado..... | 16 |
| Tabla 6. Porcentaje de motilidad a 38° y 40° en 30, 60 y 90 minutos post descongelado..... | 17 |

Índice de anexos

| | |
|--|----|
| Anexo 1. Certificado de traducción de resumen del Trabajo de Integración Curricular | 27 |
| Anexo 2. Pajuelas em platina térmica a 38° C | 29 |
| Anexo 3. Ubicación de semen en portaobjetos | 29 |
| Anexo 4. Datos de programa CASA | 29 |
| Anexo 5. Resultados Análisis CASA..... | 30 |

1. Título

Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino a distintas temperaturas de descongelación y a diferentes intervalos de tiempo post- descongelación.

2. Resumen

El uso de semen crio preservado, es una herramienta clave para el éxito en las biotecnologías reproductivas, debido a la capacidad para conservar la funcionalidad espermática durante largos periodos, demostrando ser efectivos para mitigar los efectos adversos de la crio preservación mejorando la supervivencia espermática post-descongelación. Este estudio tuvo como objetivo evaluar semen bovino descongelado a diferentes temperaturas y su viabilidad en el tiempo post descongelado. Se utilizaron 18 pajuelas de la casa comercial GENEX, el semen que se analizó pertenece al toro NICODEMUS – ET de la raza Holstein. Se extrajo la pajuela y se evaluaron en baño maría a 38°C y 40°C y se mantuvieron por 30, 60 y 90 minutos; luego fueron evaluados en un portaobjetos sobre la platina térmica en el equipo Androscope, se tomaron 5 capas de cada muestra y el programa CASA arrojó un informe de cada pajuela. Al ser evaluado la motilidad individual y la motilidad mínima del 30% a dos temperaturas de 38° y 40°, en escalas de 30, 60 y 90 minutos cada pajuela, no hubo diferencia estadística, por lo que la post descongelación en las dos temperaturas aparentemente no influye en la calidad del semen. Además, al evaluar temperatura, tiempo mínimo y motilidad total, no hubo diferencia estadística, sin embargo, con temperatura de 38° C y mayor tiempo (90 minutos) la motilidad es mayor, por el contrario, a temperaturas de 38° C y tiempo medio (60 minutos) la motilidad se reduce a la mitad. La motilidad y viabilidad del semen post descongelación no se ve afectada a temperaturas de 38°C y 40°C, por lo que la calidad del mismo se mantiene intacta en el tiempo.

Palabras clave: motilidad, supervivencia espermática, crio preservación, calidad seminal.

Abstract

Cryopreserved semen is a key tool for success in reproductive biotechnologies, due to its ability to preserve sperm functionality for long periods, proving to be effective in mitigating the adverse effects of cryopreservation by improving post-thawing sperm survival. This study aimed to evaluate bovine semen thawed at different temperatures and its viability in the post-thawing time. 18 straws from the GENEX commercial company were used, the semen that was analyzed belongs to the NICODEMUS – ET bull of the Holstein breed. The straw was removed and evaluated in a water bath at 38°C and 40°C and kept for 30, 60, and 90 minutes; then they were evaluated on a slide on the thermal plate in the Androscope equipment, 5 layers of each sample were taken and the CASA program provided a report for each straw. When individual motility and minimum motility of 30% were evaluated at two temperatures of 38° and 40°, in scales of 30, 60, and 90 minutes for each straw, there was no statistical difference, so post-thawing at the two temperatures does not influence semen quality. In addition, when evaluating temperature, minimum time, and total motility, there was no statistical difference, however, with a temperature of 38° C and a longer time (90 minutes) the motility is greater, on the contrary, at temperatures of 38° C and a medium time (60 minutes) the motility is reduced by half. The motility and viability of semen post-thawing are not affected at temperatures of 38°C and 40°C, so the quality of the semen remains intact over time.

Keywords: motility, sperm survival, cryopreservation, semen quality.

3. Introducción

La inseminación artificial ha sido un pilar en el mejoramiento genético del ganado bovino, lo que permite la distribución masiva de material genético de alto valor, mejorando la eficiencia reproductiva de los rebaños ganaderos (Cabrera & Pantoja, 2012; Muiño et al., 2020).

Entre las técnicas más utilizadas, el uso de semen criopreservado se ha convertido en un estándar debido a su capacidad para conservar la funcionalidad espermática durante largos periodos, demostrando ser efectivos para mitigar los efectos adversos de la criopreservación mejorando la supervivencia espermática post-descongelación (Jiménez & Vargas, 2022). Sin embargo, el proceso de criopreservación introduce desafíos, como la generación de estrés térmico durante la descongelación, que puede afectar la viabilidad y calidad espermática (Rodríguez-Martínez et al., 2021; Hidalgo et al., 2020). Asimismo, el desarrollo de análisis proteómicos ha permitido identificar proteínas específicas involucradas en la resistencia al estrés térmico, proporcionando nuevas perspectivas para optimizar las técnicas de criopreservación (Santos et al., 2023). Esto no solo mejora la calidad del semen post-descongelación, sino que también abre nuevas oportunidades para la personalización de los protocolos según las necesidades específicas de cada sistema de producción.

Los estudios recientes han demostrado que las temperaturas de descongelación desempeñan un papel crucial en la preservación de las características funcionales del semen. Donde destacan la importancia de identificar las condiciones ideales para la descongelación del semen en función de parámetros como la raza, la edad del toro y los métodos de conservación (Fernández, López-Pérez, Torres, 2023; Martínez-Bernal et al., 2021). Temperaturas demasiado altas pueden generar daños en la membrana plasmática, mientras que temperaturas bajas pueden ralentizar los procesos metabólicos necesarios para la motilidad progresiva (Martínez et al., 2020; Muiño et al., 2019). Asimismo, el tiempo transcurrido post-descongelación se ha identificado como un factor determinante en la viabilidad de los espermatozoides, dado que su exposición prolongada a condiciones subóptimas puede comprometer significativamente su capacidad de fertilización (Hidalgo et al., 2020).

Para garantizar el éxito de la inseminación artificial, es fundamental evaluar no solo la motilidad y morfología espermática, sino también otros parámetros avanzados, como la integridad de la membrana plasmática y la funcionalidad mitocondrial, que son indicadores clave de la calidad post-descongelación (Rodríguez-Martínez et al., 2021; Cabrera & Pantoja,

2012). Las tecnologías actuales, como el uso de fluorocromos y sistemas computarizados de evaluación seminal, han permitido mejorar la precisión de estas mediciones, ofreciendo una visión integral del estado del semen descongelado (Gómez-Cuetara, 2021; Martínez et al., 2020).

En este contexto, la presente investigación se planteó la hipótesis; el material seminal bovino criocongelado mantiene una motilidad individual del 30% después de 90'' de descongelado a 38°C y 40°C, manteniendo dichas temperaturas en un termo de descongelado. Comparando la motilidad en tiempos de 30'' y 60 '' minutos. El objetivo general es evaluar semen bovino descongelado a diferentes temperaturas y su viabilidad en el tiempo post descongelado, mientras que los objetivos específicos incluyen; *(i)* evaluar la motilidad individual seminal post descongelado a temperaturas de 38°C y 40°C, *(ii)* determinar la motilidad mínima del 30% de semen bovino y su viabilidad en el tiempo (midiendo a 30, 60 y 90 minutos), y *(iii)* comparar la motilidad individual post descongelado en el tiempo. Los hallazgos esperados podrían contribuir al desarrollo de protocolos estandarizados que optimicen el uso de semen criopreservado, promoviendo prácticas más eficientes en la reproducción bovina y asegurando la sostenibilidad de la industria ganadera.

4. Marco Teórico

4.1. Generalidades

La reproducción bovina es un aspecto esencial en la producción ganadera, ya que de ella depende la eficiencia en la obtención de productos como carne y leche. Este proceso puede realizarse de forma natural o mediante técnicas de reproducción asistida, como la inseminación artificial, que ha cobrado relevancia en las últimas décadas debido a sus beneficios para mejorar la genética y la productividad del hato (Toribio, 2013).

La inseminación artificial es una herramienta crucial en la mejora de la genética del ganado bovino. Este procedimiento depende significativamente de la calidad del semen utilizado, el cual está influido por factores como el proceso de congelación-descongelación, las condiciones de almacenamiento y el manejo posterior.

En este contexto, la calidad del semen utilizado es un factor determinante para el éxito de los programas de reproducción asistida, siendo una herramienta crucial en la mejora de la genética del ganado bovino. Este procedimiento depende significativamente de la calidad del semen utilizado, la viabilidad, motilidad y concentración espermática son parámetros cruciales para evaluar su capacidad fertilizante, los cuales pueden verse afectados por diversos factores como el proceso de congelación-descongelación, las condiciones de almacenamiento y el manejo posterior. (Saieh, Álvarez, & Bernal, 2024).

4.2. Reproducción Bovina

Es un proceso biológico fundamental en la producción ganadera, que involucra el apareamiento y la gestación de vacas para producir terneros, este proceso puede ocurrir de manera natural o mediante técnicas asistidas, como la inseminación artificial (Toribio, 2013). La reproducción eficiente es crucial para la productividad y rentabilidad de las explotaciones ganaderas, ya que afecta la producción de leche y carne.

Para optimizar la reproducción, se utilizan prácticas de manejo, como la selección genética, el control del ciclo estral y la mejora de la nutrición, la reproducción bovina también enfrenta desafíos como enfermedades reproductivas y problemas de fertilidad, que requieren una gestión cuidadosa (Saieh, Álvarez, & Bernal, 2024).

4.3. Impacto de la Reproducción Eficiente en la Producción de Carne y Leche.

La producción eficiente de carne y leche aumenta la productividad al optimizar recursos y reducir costos, lo que beneficia a consumidores con precios competitivos, promueve la sostenibilidad al disminuir el impacto ambiental y mejorar el bienestar animal (van der Hoek et al., 2021).

La calidad del producto también se eleva, garantizando mayor seguridad alimentaria, económicamente, genera empleo y estabilidad en el mercado, la adopción de tecnologías avanzadas impulsa la innovación en el sector (FAO et al., 2023).

4.4. Semen Bovino

4.4.1. Biología del Semen Bovino

El semen bovino está compuesto por espermatozoides suspendidos en un fluido seminal que proporciona nutrientes y protección. Los espermatozoides son células altamente especializadas cuya funcionalidad depende de su integridad estructural y metabólica. Factores como la motilidad, la viabilidad y la capacidad para fertilizar un óvulo se ven afectados por el manejo térmico durante y después de la descongelación (Watson, 2000).

4.4.2. Composición Espermática Bovina

El semen está compuesto por espermatozoides, pero también se constituye con un 75% de agua, junto con iones orgánicos e inorgánicos. Contiene minerales como sodio (Na^+) y potasio (K^+), y en menores cantidades, zinc (Zn^{++}) que actúa como antimicrobiano, así como calcio (Ca^{++}), cobre (Cu^{++}), y hierro (Fe^{++}), incluye compuestos como fructosa, sorbitol, ácido cítrico, ácido ascórbico, péptidos, proteínas, lípidos, ácidos grasos, aminoácidos, inmunoglobulinas como IgA, hormonas, y diversas enzimas (Zini, Lamirande, & Gagnon, 1993).

4.4.3. Características

Las características seminales representan parámetros clave para evaluar la calidad y el potencial reproductivo del material seminal bovino. Estos atributos, que incluyen aspectos físicos y funcionales, son fundamentales para garantizar la eficacia de los programas de inseminación artificial. A continuación, se detallan las características seminales más relevantes en la Tabla 1, junto con su importancia respectiva.

Tabla 1.*Características espermáticas bovinas*

| Característica | Importancia |
|-----------------------------|--|
| Color y consistencia | El semen bovino es típicamente blanco o ligeramente amarillento, con una consistencia viscosa. |
| Volumen | El volumen promedio por eyaculado varía, generalmente entre 3 y 8 mililitros. |
| Concentración | La concentración de espermatozoides en el eyaculado puede variar de 800 millones a 1.2 mil millones de espermatozoides por mililitro, dependiendo del toro y de factores como la alimentación y el manejo. |

Nota. (Díaz, 2012)

4.4.4. Parámetro de Calidad d.el Semen

La calidad del semen bovino se determina a partir de parámetros que reflejan su capacidad para lograr una fertilización exitosa. Estos indicadores, como la motilidad, morfología, viabilidad, concentración e integridad de la membrana, son esenciales para evaluar el potencial reproductivo del semen y diseñar estrategias eficaces en programas de inseminación artificial. La Tabla 2 detalla cada uno de estos parámetros junto con su importancia en la evaluación seminal.

Tabla 2.*Parámetros de calidad*

| Parámetro | Indicador |
|---|---|
| Motilidad Capacidad de los espermatozoides para moverse activamente y de manera progresiva. | La motilidad es un indicador crítico de la viabilidad del semen y su capacidad para fertilizar un óvulo. Se mide en porcentaje de espermatozoides móviles en una muestra. |
| Morfología Evaluación de la estructura y forma de los espermatozoides. | Los espermatozoides con morfología anormal pueden tener menor capacidad para fertilizar. La evaluación morfológica identifica defectos |

| | |
|--|---|
| | en la cabeza, cola o pieza intermedia de los espermatozoides. |
| Viabilidad | La viabilidad se evalúa utilizando colorantes vitales que diferencian entre espermatozoides vivos y muertos, siendo esencial para predecir la capacidad fertilizante del semen. |
| Proporción de espermatozoides vivos en la muestra. | |
| Concentración | Una alta concentración es indicativa de una buena calidad de semen, pero debe evaluarse en conjunto con la motilidad y morfología para una valoración completa. |
| Número de espermatozoides por mililitro de semen. | |
| Integridad de la Membrana | Una membrana intacta es crucial para la función celular y la fertilización, evaluada mediante pruebas de estrés osmótico o tinciones específicas. |
| Evalúa la condición de la membrana celular de los espermatozoides. | |

Nota. Parámetros de calidad seminal (Hidalgo, Tamargo, & Diez, 2005).

4.5. Conservación y Criopreservación del Semen

Son técnicas esenciales para la reproducción asistida en la ganadería, la conservación a corto plazo implica refrigerar el semen entre 4°C y 5°C, usando diluyentes que preservan su viabilidad para usos inmediatos.

La criopreservación permite almacenar el semen a largo plazo mediante congelación en nitrógeno líquido a -196°C, utilizando crioprotectores para proteger los espermatozoides, esta técnica facilita la distribución global del material genético y la diversificación genética, aunque presenta desafíos como la posible pérdida de viabilidad durante la descongelación. Optimizar estos procesos es crucial para mantener la eficiencia reproductiva.

4.5.1. Ventajas de la Criopreservación sobre otros Métodos de Conservación.

La criopreservación del semen ofrece ventajas significativas sobre otros métodos de conservación, como la refrigeración a corto plazo, permite almacenar el semen durante años sin pérdida de calidad, facilitando la preservación de material genético valioso, permite la distribución global del semen, lo que es clave para los programas de reproducción asistida. esta técnica minimiza el riesgo de transmisión de enfermedades y

mejora la eficiencia de la inseminación artificial al permitir una mejor sincronización con los ciclos reproductivos, también optimiza la gestión de recursos al reducir la necesidad de mantener un gran número de toros reproductores, mejorando la rentabilidad ganadera (Medina-Robles et al., 2007).

4.5.2. Factores que Afectan la Motilidad y Viabilidad del Semen Descongelado

Diversos factores afectan la calidad del semen durante y después de la descongelación:

1. **Temperatura:** Variaciones en la temperatura de descongelación pueden dañar la estructura celular, afectando la motilidad y viabilidad (Zini et al., 1993).
2. **Crioprotectores:** Sustancias como el glicerol ayudan a proteger los espermatozoides durante la congelación, pero su concentración excesiva puede ser tóxica (Hidalgo et al., 2005).
3. **Tiempo de almacenamiento:** Períodos prolongados de almacenamiento en nitrógeno líquido pueden reducir la calidad espermática, aunque este efecto es mitigado si las condiciones de conservación son óptimas (Medina-Robles et al., 2007).

4.5.3. Aplicaciones Prácticas en la Reproducción Ganadera

La descongelación controlada del semen es una herramienta clave para mejorar la eficiencia de los programas de reproducción asistida. Al garantizar una motilidad y viabilidad adecuadas, se optimiza el éxito de la inseminación artificial, promoviendo la mejora genética y la productividad ganadera. Además, estos procedimientos son fundamentales para la conservación de razas bovinas de alto valor genético, facilitando su distribución global y reduciendo riesgos asociados a enfermedades reproductivas (van der Hoek et al., 2021).

4.6. Efecto de las Temperaturas de Descongelación

4.6.1. Descongelación Rápida (60 °C):

- Reduce la formación de cristales de hielo secundarios, lo que disminuye el daño celular.
- Puede aumentar la viabilidad y motilidad de los espermatozoides (Mortimer, 2000).
- El exceso de calor puede provocar desnaturalización proteica si no se controla adecuadamente (Graham & Moce, 2005).

4.6.2. Descongelación Lenta (37 °C):

- Permite una recuperación gradual, pero prolonga el tiempo de exposición a temperaturas intermedias donde los cristales de hielo pueden reorganizarse y causar daños.
- Puede ser menos efectiva en mantener la motilidad espermática comparada con la descongelación rápida (Mazur, 1984).

4.7. Viabilidad Post-Descongelación

La capacidad de los espermatozoides para mantener su viabilidad y funcionalidad tras la descongelación es crucial para el éxito de la inseminación artificial. Factores que afectan la viabilidad incluyen:

- **Tiempo post-descongelación:** A medida que transcurre el tiempo, la motilidad y la capacidad de fertilización disminuyen debido a la pérdida de integridad de la membrana y la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Bilodeau et al., 2000).
- **Condiciones de almacenamiento:** La exposición a temperaturas fluctuantes después de la descongelación puede agravar el daño celular.

4.8. Impacto de Diluyentes en la Criopreservación

Los diluyentes utilizados durante la criopreservación juegan un papel clave en la protección de los espermatozoides contra los daños inducidos por el congelamiento y descongelamiento. Estos diluyentes contienen crioprotectores como el glicerol, que previenen la formación de cristales de hielo y estabilizan las membranas celulares (Gilmore et al., 1998). La eficacia del diluyente también puede depender de la especie animal y las condiciones de almacenamiento (Purdy, 2006).

4.9. Factores Fisiológicos del Toro

La calidad del semen está influenciada por factores inherentes al toro, como la edad, la dieta y el estado de salud general. Estudios han mostrado que toros más jóvenes tienden a producir espermatozoides con mayor resistencia al congelamiento, mientras que factores como enfermedades pueden reducir la calidad seminal (Barth & Waldner, 2002).

4.10. Importancia de la Evaluación

Evaluar las temperaturas de descongelación y su impacto en la calidad del semen post-descongelación permite optimizar los protocolos de inseminación artificial. Estudios

previos han demostrado que adaptar las condiciones de manejo térmico puede aumentar significativamente las tasas de concepción (Watson, 2000; Mortimer, 2000).

4.11. Estudios Relacionados

- Smith et al. (2020): Compararon los efectos de la descongelación a 37 °C y 60 °C, encontrando mayores tasas de motilidad en la descongelación rápida.
- González et al. (2018): Evaluaron la viabilidad espermática hasta 4 horas post-descongelación, indicando una disminución significativa en las primeras dos horas.
- Martínez-Pastor et al. (2005): Analizaron el impacto de especies reactivas de oxígeno y antioxidantes en la calidad del semen congelado.
- Maxwell & Watson (1996): Investigaron los efectos de diferentes crioprotectores en la integridad de las membranas espermáticas.
- Sánchez, R. (2015): Este trabajo analiza métodos integrados para evaluar la calidad seminal en bovinos, enfocándose en técnicas avanzadas que combinan parámetros tradicionales (motilidad, viabilidad y morfología) con nuevas herramientas moleculares y bioquímicas. Los resultados resaltan la importancia de aplicar evaluaciones más completas para predecir con mayor precisión el potencial fertilizante del semen criopreservado y mejorar los protocolos de reproducción asistida.

5. Materiales y Métodos

5.1. Área de estudio

El estudio se realizó en los Laboratorios de Reproducción Animal del Centro de Biotecnología, de la Universidad Nacional de Loja, ubicada al sur occidente de la ciudad de Loja en las Coordenadas -4.040239, -79.210149, con una altitud de 2150 msnm con una temperatura promedio anual de 16,5°C y precipitación 750 mm anuales y una humedad relativa 75 %.

Fuente: Google Earth

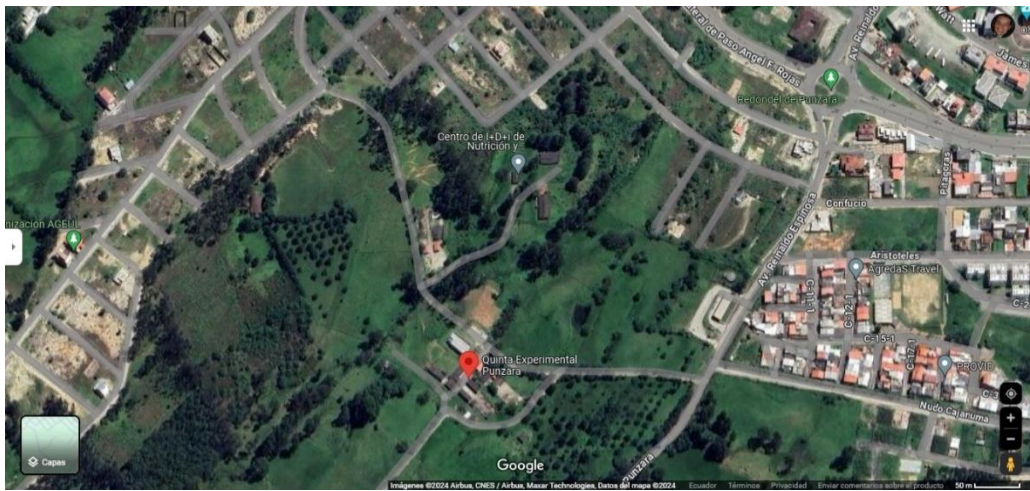


Figura 1. Mapa Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja

5.2. Procedimiento

5.2.1. Enfoque Metodológico

Al medir la motilidad seminal individual como porcentaje se realizó un enfoque cuantitativo, el mismo que se midió a diferentes temperaturas de descongelación y diferentes intervalos de tiempo post descongelación.

5.2.2. Diseño de la Investigación

El diseño de la investigación se basó en la recolección y análisis de datos numéricos relacionados con la motilidad y viabilidad del semen bovino. Las mediciones de motilidad y viabilidad se expresarán en valores cuantitativos: porcentajes de motilidad, números de espermatozoides vivos vs. muertos.

5.2.3. *Tamaño de la Muestra y Tipo de Muestreo*

El presente estudio se realizó con pajuelas de la casa comercial GENEX, el semen que se analizó pertenece al toro NICODEMUS – ET de la raza Holstein. Se necesitaron 18 pajuelas para el análisis.

5.2.4. *Técnicas*

Para obtener los datos del presente estudio la motilidad total se midió mediante el siguiente procedimiento, se extrajo la pajuela crio preservada del termo de nitrógeno líquido he inmediatamente se pasó al baño termostático o baño maría.

En el baño maría permaneció las pajuelas a 38°C y 40°C y se mantuvieron por 30, 60 y 90 minutos.

Una vez cumplido el tiempo de estudio se procedió a secar la pajuela del baño maría, con papel absorbente se secó y se pasó a la platina térmica la misma que permanece a 38°C de temperatura. El semen de las pajuelas fue vaciado en los tubos eppendorf manteniéndolos en la platina térmica. Seguido se procedió a colocar una muestra en el portaobjetos y cubrimos con un cubre objetos de 18mm.

Para medir la motilidad total del semen se colocó el portaobjetos en el equipo Androscope MINITUBE CASA (Computer Assistem Semen Analysis) en el cual se realizó el análisis del semen de la siguiente manera: se tomó una captura de 5 capas de cada muestra, el equipo sacó un promedio de las capas analizadas. El programa CASA arrojó un informe con los parámetros de motilidad de cada pajuela.

5.2.5. *Variables de Estudio*

Se evaluó la motilidad individual del semen y la viabilidad espermática en función de las temperaturas y los tiempos, se utilizó el equipo Androscope MINITUBE CASA (Computer Assistem Semen Analysis) el mismo que permitió determinar cómo afecto la temperatura de descongelación y el tiempo a la calidad del semen bovino medido en motilidad.

Los grupos para el desarrollo de la investigación fueron las siguientes variables:

Temperaturas: T1 – 38 grados centígrados; T2 – 40 grados centígrados

Intervalos post – descongelación: I1 (30 minutos); I2 (60 minutos); I3 (90 minutos).

Tabla 3.*Variables del estudio*

| Grupo | Temperatura | Intervalo post – descongelación | Numero de Pajuelas |
|-------|-------------|------------------------------------|-----------------------|
| T1I1 | T1 | I1 | 3 |
| T1I2 | T1 | I2 | 3 |
| T1I3 | T1 | I3 | 3 |
| T2I1 | T2 | I1 | 3 |
| T2I2 | T2 | I2 | 3 |
| T2I3 | T2 | I3 | 3 |

5.2.6. *Procesamiento y Análisis de la Información*

Con los datos obtenidos de las diferentes variables estudiadas se realizó el análisis de varianza (ANOVA) y adicionalmente la prueba de Turkey para identificar la diferencia estadística entre las diferentes temperaturas y los tiempos utilizados en los protocolos.

6. Resultados

6.1. Evaluar la Motilidad Individual Seminal Post Descongelado a Temperaturas de 38°C y 40°C.

Al ser evaluado la motilidad individual a dos temperaturas de 38° y 40°, en escalas de 30, 60 y 90 minutos cada pajuela con 3 repeticiones de cada tiempo, no hubo diferencia estadística, por lo que la post descongelación en las dos temperaturas aparentemente no influye en la calidad del semen (Tabla 3).

Tabla 4.

Porcentaje de motilidad a temperatura de 38° y 40° Celsius

| TEMPERATURA °C | MOTILIDAD TOTAL |
|----------------|-----------------|
| 40 | 56.30% |
| 38 | 66.08% |

No fue encontrada diferencia estadística ($p \geq 0,05$)

6.2. Determinar la Motilidad Mínima del 30% de Semen Bovino y su Viabilidad en el Tiempo, Midiendo a 30, 60 y 90 Minutos.

Analizando la motilidad mínima de 18 pajuelas en 3 tiempos de 30, 60 y 90 minutos, a dos temperaturas de 38 y 40 grados Celsius (Tabla 4), no hubo diferencia significativa por lo que la temperatura no influye en la motilidad, por ende, la calidad del semen no se ve afectada post descongelación.

Tabla 5.

Porcentaje de motilidad a 30, 60 y 90 minutos post descongelado

| TIEMPO MIN | MOTILIDAD TOTAL |
|------------|-----------------|
| 60 | 54.78% |
| 90 | 60.56% |
| 30 | 68.22% |

No fue encontrada diferencia estadística ($p \geq 0,05$)

6.3. Comparar la Motilidad Individual Post Descongelado en el Tiempo.

Al ser evaluado tres parámetros, temperatura, tiempo mínimo y motilidad total post descongelación (Tabla 5), no hubo diferencia estadística, sin embargo, con temperatura de 38° C y mayor tiempo (90 minutos) la motilidad es mayor, por el contrario, a temperaturas de 38° C y tiempo medio (60 minutos) la motilidad se reduce a la mitad.

Tabla 6.

Porcentaje de motilidad a 38° y 40° en 30, 60 y 90 minutos post descongelado

| TEMPERATURA °C | TIEMPO MIN | MOTILIDAD TOTAL |
|-----------------------|-------------------|------------------------|
| 40 | 60 | 52.33% |
| 40 | 90 | 53.16% |
| 38 | 60 | 52.23% |
| 40 | 30 | 63.42% |
| 38 | 90 | 97.97% |
| 38 | 30 | 73.03% |

No fue encontrada diferencia estadística ($p \geq 0,05$)

7. Discusión

7.1. Evaluar la Motilidad Individual Seminal Post Descongelado a Temperaturas de 38°C y 40°C.

Los resultados obtenidos en la presente investigación señalan que la motilidad total a 38°C superó el promedio (66.08%) en comparación con la motilidad registrada a 40°C (56.30%). A pesar de esta diferencia en valores absolutos, el análisis estadístico no mostró significancia, lo que indica que el aumento de temperatura en este rango no influye significativamente en la motilidad post descongelada. Dichos resultados mencionados concuerdan con los hallazgos obtenidos por Andrabi (2007), quien sostuvo que la motilidad espermática post descongelación puede verse afectada por variaciones de temperatura entre 50% y el 70%, pero estas deben ser considerablemente mayores para generar diferencias significativas.

De esta manera, Graham (2022) encontró motilidades de hasta un 65% en condiciones de 38°C, muy similares a lo observado en el presente estudio, por lo que destaca que, aunque temperaturas cercanas a 40°C podrían inducir estrés térmico en las células espermáticas, los protocolos de descongelación bien controlados suelen mitigar este impacto. En contraste, Vishwanath y Shannon (2020) registraron una reducción del 10% en la motilidad al contrastar temperaturas de 38°C y 40°C, hallazgos que concuerdan con los datos mostrados. En estudios que se realizaron en España, Cebrián-Pérez et al. (2020) encontraron que el promedio de motilidad post descongelación para bovinos en condiciones ideales era del 60%, lo que coincide con los valores obtenidos en este experimento.

Además, para que la motilidad individual no se vea afectada y no cause daños a la estructura del espermatozoide y muerte celular, debe presentar una motilidad superior al 60% (Rivera, 2018), por lo que, es fundamental que se considere la tasa óptima de temperatura post descongelación, de esta manera Monroy (2024), evaluó el semen a temperatura de 38,5°C donde la motilidad individual superó el 60 y 80%. Asumiendo así que a menor temperatura post descongelación la motilidad individual es mayor, reduciendo los riesgos de porcentajes de preñez.

7.2. Determinar la Motilidad Mínima del 30% de Semen Bovino y su Viabilidad en el Tiempo, Midiendo a 30, 60 y 90 Minutos.

Al analizar los tiempos de 30, 60 y 90 minutos post descongelado, se observó que la motilidad disminuyó con el tiempo, siendo mayor a los 30 minutos (68.23%) y menor a los 60 minutos (54.79%). Este patrón coincide con los hallazgos de Watson (2016), quien observó una reducción promedio del 15-20% en la motilidad durante los primeros 90 minutos post descongelación, con valores iniciales entre 60% y 70%; observó que, la viabilidad espermática tiende a disminuir progresivamente tras la descongelación debido a daños en la membrana celular. Bailey et al. (2021) reportaron motilidades superiores al 65% a los 30 minutos, pero estas cayeron por debajo del 50% a los 90 minutos en condiciones similares, por lo que mencionan que la preservación de la motilidad tras descongelación puede depender también de factores como la calidad del diluyente y las condiciones de almacenamiento previas. Sin embargo, al igual que en el caso anterior, el análisis estadístico no mostró diferencias significativas.

Esto respalda lo afirmado por Holt y Van Look (2019), quienes documentaron que motilidades por encima del 30% son suficientes para mantener la viabilidad reproductiva, incluso cuando las diferencias no son estadísticamente significativas, los sistemas de evaluación automatizados como CASA pueden detectar variaciones sutiles en la motilidad que no necesariamente reflejan diferencias biológicas relevantes. De igual manera, Gutiérrez-Pérez y Rodríguez-Sánchez (2019) documentaron una motilidad inicial del 70%, la cual disminuyó a un 55% en 60 minutos post descongelación, corroborando los patrones observados aquí.

Además, no hubo una diferencia estadística entre los diferentes tiempos y la viabilidad espermática, sin embargo, los resultados obtenidos están dentro de los parámetros de crio preservación del semen bovino, como lo manifiesta Ochoa (2023), sin embargo esto difiere con Anchatuña (2017), quien manifiesta que hay mayor motilidad en 2 y 4 horas post descongelación, lo que puede deberse a diferentes factores de raza, ubicación geográfica e incluso al constante metabolismo de nutrientes de los espermatozoides.

7.3. Comparar la Motilidad Individual Post Descongelado en el Tiempo.

En la comparación entre tiempo y temperatura, los resultados muestran una mayor motilidad en los tiempos iniciales a 38°C (73.03% a los 30 minutos) en

comparación con 40°C (63.42% a los 30 minutos). Sin embargo, a 90 minutos, la motilidad a 38°C (97.97%) supera considerablemente a la de 40°C (53.16%). Esta discrepancia podría explicarse por la resistencia diferencial de las membranas espermáticas a distintas temperaturas, como señalan Leahy y Gadella (2018), quienes reportaron motilidades entre 60% y 80% en condiciones similares.

Por otro lado, la motilidad individual en el presente estudio varía desde el 50 al 90%, mientras que un estudio realizado por Crespo (2020) en la provincia de Morona Santiago, la motilidad va desde el 59 al 80% en el tiempo de 0 y 2 horas, presentando mayor motilidad en la hora 0, sin embargo, en el presente estudio se presenta mayor motilidad con temperaturas menores y en lapsos de tiempo mayores (90 minutos), por lo que se podría influenciar por la ubicación geográfica del estudio.

Adicionalmente, Andrabi (2019) observó que temperaturas menores a 40°C permitían una recuperación funcional con motilidades de hasta 75% en tiempos cortos, mientras que temperaturas superiores reducían la motilidad a menos del 50% tras 90 minutos de incubación. Estos hallazgos son coincidentes con Salamon y Maxwell (2020), quienes informaron que la motilidad post descongelación se ve influenciada no solo por la temperatura, sino también por el tiempo de incubación, con caídas de hasta 25% en periodos prolongados.

En investigaciones realizadas en Argentina, Martínez et al. (2021) concluyeron que las temperaturas superiores a 38°C reducen la motilidad post descongelación en un 15-20% tras 60 minutos, lo que se alinea con los resultados de este estudio.

8. Conclusiones

- La motilidad individual del semen post descongelación no se ve afectada a temperaturas de 38°C y 40°C, por lo que la calidad del mismo se mantiene intacta en el tiempo.
- La viabilidad del semen en diferentes tiempos de 30, 60 y 90 minutos post descongelación, no interfiere en la motilidad, es decir los espermatozoides mantienen su habilidad de moverse espontanea e independientemente.
- El tiempo evaluado no interfiere en la motilidad individual del semen post descongelación, con lo que las oportunidades de mantener un semen de alta calidad son numerosas.

9. Recomendaciones

- Uso de mayor número de pajuelas para ser evaluadas en diferentes curvas de temperatura, para analizar aspectos como motilidad, movilidad, concentración espermática y morfología.
- Evaluar diferentes rangos de temperatura, para establecer a campo la mejor opción e incluso utilizar en investigaciones para la recongelación de semen, considerando la motilidad superior al 60%.
- Analizar el semen post descongelado, con rangos de tiempo mayores a los analizados para descartar problemas, así mismo considerar factores geográficos y raza.

10. Bibliografía

- Anchatuña, Q.C.A. 2017. Efecto de distintos tiempos de equilibrio sobre la calidad espermática pre y post congelación de semen bovino de toros reproductores Holstein friesian. Tesis Licenciatura. Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador, p. 32-78.
- Andrabi, S. M. H. (2007). Factors affecting the quality of cryopreserved buffalo (*Bubalus bubalis*) bull spermatozoa. *Reproduction in Domestic Animals*, 42(2), 372-375.
- Andrabi, S. M. H. (2019). Advances in cryopreservation of bull spermatozoa. *Biotechnology Advances*, 27(4), 442-452.
- Bailey, J. L., Bilodeau, J. F., & Cormier, N. (2021). Semen cryopreservation in domestic animals: A damaging and capacitating phenomenon. *Journal of Andrology*, 21(1), 1-7. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2000.tb03268.x>
- Barth, A. D., & Waldner, C. L. (2002). Factors affecting breeding soundness classification of beef bulls examined at the Western College of Veterinary Medicine. *Canadian Veterinary Journal*, 43(4), 274-284.
- Bilodeau, J. F., Chatterjee, S., Sirard, M. A., & Gagnon, C. (2000). Reactive oxygen species-induced activation of apoptosis in human spermatozoa: implications for IVF. *Molecular Human Reproduction*, 6(3), 213-219.
- Cabrera, M., & Pantoja, R. (2012). *Evaluación microscópica y parámetros del semen bovino. Revista de Ciencias Animales.*
- Cebrián-Pérez, J. A., Muiño-Blanco, T., & Martínez-Pastor, F. (2020). Advances in the study of sperm cryopreservation in bovine species. *Revista Iberoamericana de Reproducción Animal*, 36(1), 45-58.
- Díaz, T. d. (2012). Evaluación de las Características Seminales de Sementales Bovinos mediante el Analizador Seminal Computarizado (CASA). https://saber.ucv.ve/bitstream/10872/3292/1/T026800002626-0-Tesis_Final_Gloria_Aguero-000.pdf
- FAO, FIDA, OPS, WFP, & UNICEF. (2023). Panorama de la seguridad alimentaria y nutricional en América Latina y el Caribe.
- Fernández, J., López-Pérez, A., & Torres, M. (2023). *Evaluación de métodos de descongelación en diferentes razas bovinas. Animal Science Advances.*

- Gilmore, J. A., Liu, J., Gao, D. Y., & Critser, J. K. (1998). Determination of optimal cryoprotectants and procedures for their addition and removal for human spermatozoa. *Human Reproduction*, 13(6), 1404-1411.
- Graham, J. K. (2022). Assessment of sperm quality: A flow cytometric approach. *Animal Reproduction Science*, 68(3-4), 239-247.
- Graham, J. K., & Moce, E. (2005). Fertility evaluation of frozen/thawed semen. *Theriogenology*, 64(3), 492-504.
- Gómez-Cuetara, C. (2021). Métodos actualizados para la evaluación seminal en bovinos. *Journal of Animal Reproduction*.
- Gutiérrez-Pérez, O., & Rodríguez-Sánchez, J. A. (2019). Evaluación de la viabilidad del semen bovino post descongelación. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 20(2), 123-130.
- Hidalgo, C., Tamargo, C., & Diez, C. (2005). Análisis del semen bovino.
- Hidalgo, M., Tamargo, J., & Diez, J. (2005). Parámetros de calidad seminal en bovinos. *Revista de Ganadería*. <https://www.redalyc.org/journal/437/43755165018/html/>
- Hidalgo, C., et al. (2020). *Análisis de la funcionalidad mitocondrial en espermatozoides bovinos descongelados*. *Acta Biológica Colombiana*
- Holt, W. V., & Van Look, K. J. (2019). Concepts in sperm heterogeneity, sperm selection and sperm competition as biological foundations for laboratory tests of semen quality. *Reproduction*, 127(5), 527-535.
- Jiménez, L., & Vargas, P. (2022). Uso de aditivos crioprotectores en la preservación de semen bovino. *Journal of Veterinary Research*.
- Leahy, T., & Gadella, B. M. (2018). Sperm surface changes and physiological consequences induced by sperm handling and storage. *Reproduction*, 142(6), 759-778.
- Martínez, R., Sánchez, E., & Guzmán, L. (2021). Criopreservación de semen bovino en condiciones comerciales. *Revista Argentina de Producción Animal*, 37(4), 215-225.
- Martínez-Bernal, R., Gómez, S., & Ruiz, A. (2021). *Factores que influyen en la motilidad espermática post-descongelación*. *Reproduction Biology Journal*.

- Maxwell, W. M. C., & Watson, P. F. (1996). Recent progress in the preservation of ram semen. *Animal Reproduction Science*, 42(1-4), 55-65.
- Mazur, P. (1984). Freezing of living cells: mechanisms and implications. *American Journal of Physiology*, 247(3 Pt 1), C125-C142.
- Medina-Robles, V., Sánchez, M., & Castillo, R. (2007). Técnicas de criopreservación: Avances y aplicaciones en ganadería. *Journal of Veterinary Reproduction*.
- Monroy, C. L., Hincapié, J. J., & Matamoros, I. A. (2024). Efecto de la recongelación sobre la membrana plasmática, morfología, viabilidad y motilidad individual en los espermatozoides bovinos. *Archivos de zootecnia*, 73(282), 52-59
- Mortimer, S. T. (2000). CASA--practical aspects. *Journal of Andrology*, 21(4), 515-524.
- Muñoz Otero, R. (2008). Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino mediante el uso de sistemas CASA y citometría de flujo, identificación de subpoblaciones espermáticas.
https://www.researchgate.net/publication/334599104_Evaluation_of_the_Spermatozoa_Quality_of_Cattle_Semen_Through_the_use_of_Conventional_Seminal_Evaluation_Systems_and_Casa_System
- Ochoa, N. A. L. (2023). Protocolos de criopreservación espermática para la conservación ex situ de bovinos (*Bos taurus*) localmente adaptados en Huajuapán de León, Oaxaca.
- Purdy, P. H. (2006). A review on goat sperm cryopreservation. *Small Ruminant Research*, 63(3), 215-225.
- Rivera, M. (2018). Congelación de semen bovino. *Revista Genética Bovina*
- Rodríguez-Martínez, H., et al. (2021). Innovaciones en la evaluación de semen bovino criopreservado. *Frontiers in Veterinary Science*.
- Saieh, J. C., Álvarez, V., & Bernal, N. (2024). Sistema de Información para la Gestión Ganadera.
- Salamon, S., & Maxwell, W. M. C. (2020). Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science*, 62(1-3), 77-111.
- Sánchez, R. (2015). Nuevos métodos integrados de evaluación de la calidad seminal en vacuno [Tesis de máster, Universitat Politècnica de València]. Repositorio Institucional UPV.
<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/66376/S%C3%81NCHEZ%20->

[%20Nuevos%20m%C3%A9todos%20integrados%20de%20evaluaci%C3%B3n%20de%20la%20calidad%20seminal%20en%20vacuno.pdf?sequence=1](#)

- Santos, D., Oliveira, R., & Méndez, F. (2023). *Aplicaciones de la proteómica en la criopreservación de semen bovino. Frontiers in Veterinary Science.*
- Toribio, L. (2013). Compendio sobre reproducción animal. https://repository.ucc.edu.co/bitstream/20.500.12494/20473/1/2020_evaluacion_aptitud_reproductiva.pdf
- van der Hoek, R., Mena, M., Rodríguez, J., García, A., Enciso, K., Díaz, M., & Burkart, S. (2021). Amenazas, impactos del cambio climático y opciones de adaptación para los sistemas de ganadería bovina en Nicaragua. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20210000647>
- Vishwanath, R., & Shannon, P. (2020). Storage of bovine semen in liquid and frozen state. *Animal Reproduction Science*, 62(1-3), 23-53.
- Watson, P. F. (2000). The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science*, 60-61, 481-492.
- Watson, P. F. (2016). The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science*, 60-61(1-2), 481-492.
- Zini, A., Lamirande, E., & Gagnon, C. (1993). Reactive oxygen species in semen of infertile patients: levels of superoxide dismutase and catalase like activities in seminal plasma and spermatozoa. *International Journal of Andrology*, 16(3), 183–188.

11. Anexos

Anexo 1. Certificado de traducción de resumen del Trabajo de Integración Curricular



unl

Universidad
Nacional
de Loja

Loja, 27 de febrero de 2025

Magister

KARINA CELI JARAMILLO

CATEDRÁTICA DE LA CARRERA DE PEDAGOGÍA DE LOS IDIOMAS
NACIONALES YEXTRANJEROS - UNL

CERTIFICADO:

Que el resumen del Trabajo de Integración Curricular de la aspirante Pablo Andres Villavicencio Celi, C.I: 1104333370, con el tema: **Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino a distintas temperaturas de descongelación y a diferentes intervalos de tiempo post- descongelación** perteneciente al Programa de **Maestría en Reproducción Animal con Mención Rumiantes**; traducido al inglés cumple con las características propias del idioma extranjero.

Resumen

El uso de semen crio preservado, es una herramienta clave para el éxito en las biotecnologías reproductivas, debido a la capacidad para conservar la funcionalidad espermática durante largos periodos, demostrando ser efectivos para mitigar los efectos adversos de la crio preservación mejorando la supervivencia espermática post-descongelación. Este estudio tuvo como objetivo evaluar semen bovino descongelado a diferentes temperaturas y su viabilidad en el tiempo post descongelado. Se utilizaron 18 pajuelas de la casa comercial GENEX, el semen que se analizó pertenece al toro NICODEMUS – ET de la raza Holstein. Se extrajo la pajuela y se evaluaron en baño maría a 38°C y 40°C y se mantuvieron por 30, 60 y 90 minutos; luego fueron evaluados en un portaobjetos sobre la platina térmica en el equipo Androscope, se tomaron 5 capas de cada muestra y el programa CASA arroja un informe de cada pajuela. Al ser evaluado la motilidad individual y la motilidad mínima del 30% a dos temperaturas de 38° y 40°, en escalas de 30, 60 y 90 minutos cada pajuela, no hubo diferencia estadística, por lo que la post descongelación en las dos temperaturas aparentemente no influye en la calidad del semen. Además, al evaluar temperatura, tiempo mínimo y motilidad total, no hubo diferencia estadística, sin embargo, con temperatura de 38° C y mayor tiempo (90 minutos) la motilidad es mayor, por el contrario, a temperaturas de 38° C y tiempo medio (60 minutos) la motilidad se reduce a la mitad. La motilidad y viabilidad del semen post descongelación no se ve afectada a temperaturas de 38°C y 40°C, por lo que la calidad del mismo se mantiene intacta en el tiempo.

Palabras clave: motilidad, supervivencia espermática, crio preservación, calidad seminal.



UNL

Universidad
Nacional
de Loja

Abstract

Cryopreserved semen is a key tool for success in reproductive biotechnologies, due to its ability to preserve sperm functionality for long periods, proving to be effective in mitigating the adverse effects of cryopreservation by improving post-thawing sperm survival. This study aimed to evaluate bovine semen thawed at different temperatures and its viability in the post-thawing time. 18 straws from the GENEX commercial company were used, the semen that was analyzed belongs to the NICODEMUS – ET bull of the Holstein breed. The straw was removed and evaluated in a water bath at 38°C and 40°C and kept for 30, 60, and 90 minutes; then they were evaluated on a slide on the thermal plate in the Androscope equipment, 5 layers of each sample were taken and the CASA program provided a report for each straw. When individual motility and minimum motility of 30% were evaluated at two temperatures of 38° and 40°, in scales of 30, 60, and 90 minutes for each straw, there was no statistical difference, so post-thawing at the two temperatures does not influence semen quality. In addition, when evaluating temperature, minimum time, and total motility, there was no statistical difference, however, with a temperature of 38° C and a longer time (90 minutes) the motility is greater, on the contrary, at temperatures of 38° C and a medium time (60 minutes) the motility is reduced by half. The motility and viability of semen post-thawing are not affected at temperatures of 38°C and 40°C, so the quality of the semen remains intact over time.

Keywords: motility, sperm survival, cryopreservation, semen quality.

Lo certifico.



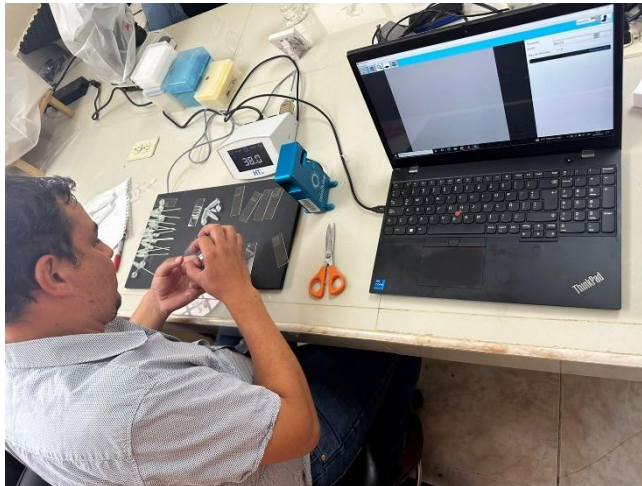
KARINA CELI JARAMILLO M.Ed.

CATEDRÁTICA DE LA CARRERA DE PEDAGOGÍA DE LOS IDIOMAS
NACIONALES YEXTRANJEROS - UNL

Anexo 2. Pajuelas em platina térmica a 38° C




Anexo 3. Ubicación de semen en portaobjetos



Anexo 4. Datos de programa CASA



Anexo 5. Resultados Análisis CASA



minitube

MODELO DE INFORME

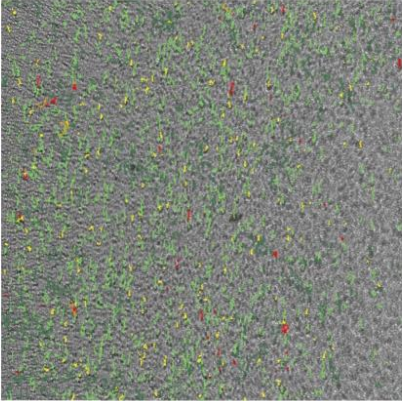
Minitube International
 Hauptstrasse 41
 84184 Tiefenbach
 Deutschland

Teléfono: +49 8709 9229 0
 Fax: +49 8709 9229 39
 Email: minitube@minitube.de
 Página web: www.minitube.com

Donante: T1 30 MINUTOS R2
ID: 001HO15576

Especie: Toro
Raza: HOSTEIN

Motilidad y concentración



Análisis de muestra

Fecha del análisis: 28/11/2024

Número total de espermios analizados: 3027

Número de campos: 5

Tasa de dilución: 1+0

Concentración: [10⁶/ml] 71.59

Motilidad total: [%] 80.40

Motilidad progresiva: [%] 57.53

- **Motilidad rápida:** [%] 15.26
- **Motilidad lenta:** [%] 42.12
- **Motilidad circular:** [%] 0.16
- **Motilidad local:** [%] 22.87
- **Inmóviles:** [%] 19.60

| Promedio cinemático | VCL [µm/s] | VSL [µm/s] | VAP [µm/s] | DCL [µm] | DSL [µm] | DAP [µm] | ALH [µm] | BCF [Hz] | HAC [rad] | LIN [VSL/VCL] | STR [VSL/VAP] |
|---------------------------------|---------------|---------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|------------------|------------------|
| Motilidad total [=] | 65.69 | 24.71 | 31.30 | 22.18 | 8.16 | 10.56 | 1.59 | 11.45 | 0.34 | 0.42 | 0.78 |
| [σ] | 36.93 | 18.05 | 18.73 | 14.34 | 6.15 | 6.94 | 0.98 | 7.54 | 0.22 | 0.27 | 0.28 |
| Motilidad progresiva [=] | 77.05 | 28.65 | 36.35 | 25.69 | 9.31 | 12.09 | 1.85 | 12.63 | 0.37 | 0.41 | 0.77 |
| [σ] | 39.26 | 20.40 | 20.66 | 15.57 | 6.94 | 7.69 | 1.06 | 8.06 | 0.24 | 0.29 | 0.31 |
| Motilidad rápida [=] | 116.37 | 33.86 | 47.49 | 36.60 | 10.02 | 14.79 | 2.88 | 12.91 | 0.49 | 0.29 | 0.69 |
| [σ] | 23.49 | 21.01 | 18.90 | 15.00 | 6.22 | 7.31 | 0.74 | 6.89 | 0.19 | 0.16 | 0.23 |
| Motilidad lenta [=] | 61.56 | 26.42 | 31.79 | 21.40 | 8.98 | 10.98 | 1.45 | 12.52 | 0.33 | 0.46 | 0.81 |
| [σ] | 14.82 | 12.35 | 10.72 | 9.30 | 5.24 | 5.37 | 0.55 | 6.44 | 0.18 | 0.25 | 0.20 |
| Motilidad circular [=] | 132.08 | 79.95 | 92.43 | 39.46 | 22.83 | 27.31 | 3.40 | 12.46 | 0.48 | 0.61 | 0.86 |
| [σ] | 138.24 | 130.36 | 102.74 | 40.52 | 17.59 | 19.39 | 3.69 | 23.78 | 0.98 | 0.69 | 0.80 |
| Motilidad local [=] | 33.69 | 13.63 | 17.10 | 12.29 | 4.92 | 6.24 | 0.86 | 8.12 | 0.23 | 0.43 | 0.79 |
| [σ] | 8.76 | 5.63 | 5.51 | 5.16 | 2.63 | 2.91 | 0.29 | 5.48 | 0.14 | 0.19 | 0.17 |

AndroScope sample report - minitube.com