



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 pre y post congelación de semen de un toro mestizo jersey
utilizando optixcell más glicerol al 6 % y 8%**

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

AUTOR:

Ing. Patricio Josue Cevallos Torres

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 pre y post congelación de semen de un toro mestizo jersey utilizando optixcell más glicerol al 6% y 8%**, perteneciente al estudiante **PATRICIO JOSUE CEVALLOS TORRES**, con cédula de identidad N° **1104553050**.

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, 20 de Diciembre de 2024



VACACELA AJILA
WILMER AUGUSTO

F) _____
DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN



Certificado TIC/TT.: UNL-2024-003186

Autoría

Yo, **Patricio Josue Cevallos Torres**, 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 Titulación en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma: 

Cédula de identidad: 1104553050

Fecha: 20 de diciembre de 2024

Correo electrónico: patricio.cevallos@unl.edu.ec

Teléfono: 0939931387

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, **Patricio Josue Cevallos Torres** declaro ser autor del Trabajo de Titulación denominado: **Evaluación de pre y post congelación de semen de un toro mestizo jersey utilizando optixcell más glicerol al 6% y 8%**, 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 veintitrés días del mes de abril del dos mil veinticinco.

Firma:



Autor: Ing. Patricio Josue Cevallos Torres

Cédula: 1104553050

Dirección: Río Jubones y Río Marañón

Correo electrónico: patricio.cevallos@unl.edu.ec

Teléfono: 0939931387

DATOS COMPLEMENTARIOS:

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

Dedicatoria

Este trabajo de investigación se lo voy a dedicar a mi abuelita, Birmania Orbe que siempre ha estado ahí apoyándome incondicionalmente en toda mi formación como profesional y académica.

A mi papá, Patricio Cevallos que de una u otra manera siempre me apoyado en todo momento.

A mi mamá, Mónica que desde cielo me da sus bendiciones y que siempre ha sido mi fortaleza para seguir a delante.

A mis hermanos, Francisco, Genesis y Danna por darme el apoyo que siempre he necesitado para seguir en nuevos retos.

A mi hijo, Liam que ha sido otra razón más para seguir formándome académicamente terminar la maestría.

A Belén, que es la que me acompañado con su cariño, su apoyo y sus consejos para que siga adelante en mi formación profesional.

A todo el resto de mi familia que me han apoyado en todo momento y me han aconsejado.

Patricio Jouse Cevallos Torres

Agradecimiento

Agradezco primeramente a Dios que siempre que siempre ha guiado y ha sido mi fortaleza para poder lograr esta meta.

A la Universidad Nacional de Loja, a la Carrera de medicina Veterinaria y a todos los docentes por ayudarme a formarme académicamente y poder lograr esta maestría.

Al Dr. Wilmer Vacacela, por ser mi director de tesis, el cual me ha brindado mucho apoyo, ideas, tiempo y confianza en realizar este proyecto y formación académica. ¡Muchas gracias!

A todo el personal de la Estación Experimental de Punzara de la UNL, que nos brindó todo su apoyo y colaboración tanto como en este proyecto, como la formación académica, especialmente al Dr. Manuel Quezada que fue nuestro guía hasta la culminación de esta meta.

También a todos mis familiares y amigos que me han ayudado en cumplir esta meta. De manera especial a Pablo Villavicencio y Jefferson Lasso que fueron pilar fundamental y guías para lograr este objetivo.

Patricio Josue Cevallos Torres

Índice de contenidos

Portada	i
Certificación	ii
Autoría	iii
Carta de autorización	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de contenidos	vii
Índice de tablas	ix
Índice de anexos	x
1. Título	1
2. Resumen	2
Abstract	3
3. Introducción	4
4. Marco Teórico	6
4.1. Origen de la Raza Jersey	6
4.2. Recolección de Semen	6
4.2.1. Electroeyaculador	6
4.3. Diluyentes Utilizados para procesamiento de Semen Bovino	7
4.3.1. Optixcell	7
4.3.2. Triladyl	7
4.3.3. Albúmina sérica bovina	7
4.4. Crioprotectores más Utilizados para Procesamiento de Semen Bovino	7
4.4.1. Glicerol	7
4.4.2. Etilenglicol.....	8
4.4.3. Dimetilformamida	8
4.5. Evaluación de la Motilidad del Semen Bovino.....	8
4.5.1. Motilidad Masal.....	8

4.5.2. Motilidad Individual	8
4.5.3. Motilidad Espermática.....	8
4.6. Investigaciones Relacionadas al Trabajo de Investigación	9
5. Materiales y Métodos.....	11
5.1. Área de Estudio	11
5.2. Procedimiento	11
5.2.1. Enfoque Metodológico	11
5.2.2. Diseño de la Investigación.....	11
5.2.3. Tamaño de la Muestra y Tipo de Muestreo	12
5.2.4. Técnicas	12
5.2.5. Variables de Estudio	13
5.2.6. Procesamiento y Análisis de la Información	13
5.2.7. Consideraciones éticas.....	13
6. Resultados	14
6.1. Determinar si el Uso del Optixcell Combinado con Glicerol al 6% y 8% Mejora la Motilidad y Vigor Espermático del Semen Pre y Post Congelación.	14
6.2. Comparar la Viabilidad y Vitalidad del Semen Utilizando Optixcell con las Concentraciones de Glicerol al 6% y 8% Tras el Proceso de Descongelación.....	15
7. Discusión	17
7.1. Determinar si el Uso del Optixcell Combinado con Glicerol al 6% y 8% Mejora La Motilidad y Vigor Espermático del Semen Pre y Post Congelación.	17
7.2. Comparar la Viabilidad y Vitalidad del Semen Utilizando Optixcell con las Concentraciones de Glicerol al 6% y 8% tras el Proceso de Descongelación.	19
8. Conclusiones	21
9. Recomendaciones	22
10. Bibliografía	23
11. Anexos	26

Índice de tablas

Tabla 1. Porcentaje de motilidad y vigor espermático del semen pre y post descongelación	14
Tabla 2. Análisis de la Varianza (SC tipo III) de vigor espermático.....	14
Tabla 3. Análisis de la Varianza (SC tipo III) de motilidad total	15
Tabla 4. Viabilidad y Vitalidad espermática pre y post descongelación	15
Tabla 5. Análisis de la Varianza (SC tipo III) de concentración espermática	16
Tabla 6. Análisis de la Varianza (SC tipo III) de motilidad progresiva	16

Índice de Figuras

<i>Figura 1. Mapa del barrio La Tariana, Taxiche</i>	11
--	----

Índice de anexos

Anexo 1. Variables de estudio	26
Anexo 2. Certificado de traducción de resumen del Trabajo de Integración Curricular.....	27

1. Título

Evaluación de pre y post congelación de semen de un toro mestizo jersey utilizando optixcell más glicerol al 6% y 8%

2. Resumen

La congelación de semen bovino es un procedimiento clave para preservar la genética de los toros, y su éxito depende de factores como los diluyentes crioprotectores. En esta investigación se analizó el efecto del Optixcell combinando con glicerol al 6% y 8% en la calidad del semen de un toro mestizo Jersey, antes y después de la congelación. El objetivo fue determinar si estas concentraciones (0%, 6% y 8% de glicerol) ayudaban a mejorar los parámetros como la motilidad, vigor, viabilidad y vitalidad. El estudio se realizó en Loja, Ecuador, con muestras procesadas en el Laboratorio de Reproducción Animal de la Universidad Nacional de Loja. Se recolectaron 3 ml de semen de un toro mestizo Jersey, obteniendo 60 pajuelas, distribuidas en tres tratamientos. Las muestras se evaluaron en el programa **Androscope MINITUBE CASA** para analizar la motilidad, vigor y viabilidad espermática. El proceso incluyó recolección mediante electroeyaculación, dilución con Optixcell, enfriamiento progresivo, congelación con nitrógeno líquido y descongelación rápida en baño maría. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) para comparar los efectos del glicerol. Los resultados mostraron que, aunque no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, se observó que la motilidad espermática disminuyó en pre-congelación con la adición de glicerol, pero mejoró tras la descongelación, especialmente con el 6%. Sugiriendo que, aunque el glicerol puede afectar negativamente la motilidad inicial, su acción crioprotectora se manifiesta post-congelación. Sin embargo, estas mejoras observadas no fueron suficientes como para concluir que el glicerol tiene un impacto decisivo sobre la calidad del semen. Tampoco se encontraron diferencias relevantes en términos de viabilidad y vitalidad entre las concentraciones de glicerol. En conclusión, aunque el glicerol al 6% y al 8%, junto con Optixcell, favoreció la recuperación de la motilidad post-descongelación, no generó mejoras significativas en la calidad seminal.

Palabras clave: congelación de semen, motilidad espermática, viabilidad, Jersey

Abstract

Freezing bovine semen is a key procedure to preserve the genetics of bulls, and its success depends on factors such as cryoprotective diluents. In this research, the effect of Optixcell combined with 6% and 8% glycerol on the semen quality of a Jersey crossbred bull before and after freezing was analyzed. The objective was to determine if these concentrations (0%, 6% and 8% glycerol) helped to improve parameters such as motility, vigor, viability and vitality. The study was carried out in Loja, Ecuador, with samples processed in the Animal Reproduction Laboratory of the National University of Loja. Three ml of semen were collected from a Jersey crossbred bull, obtaining 60 straws, distributed in three treatments. Samples were evaluated in the Androscope MINITUBE CASA program for sperm motility, vigor and viability. The process included collection by electroejaculation, dilution with Optixcell, progressive cooling, freezing with liquid nitrogen and rapid thawing in a water bath. An analysis of variance (ANOVA) was applied to compare the effects of glycerol. The results showed that, although there were no statistically significant differences between treatments, it was observed that sperm motility decreased in pre-freezing with the addition of glycerol, but improved after thawing, especially with 6%. Suggesting that, although glycerol may negatively affect initial motility, its cryoprotective action is manifested post-freezing. However, these observed improvements were not sufficient to conclude that glycerol has a decisive impact on semen quality. Nor were relevant differences in terms of viability and vitality found between glycerol concentrations. In conclusion, although 6% and 8% glycerol, together with Optixcell, favored the recovery of post-thawing motility, it did not generate significant improvements in seminal quality.

Keywords: semen freezing, sperm motility, viability, Jersey.

3. Introducción

La congelación de semen bovino es un proceso biotecnológico que permite preservar la capacidad reproductiva de los toros mediante la criopreservación de su material genético. Este procedimiento implica la recolección, evaluación, dilución con diluyentes crioprotectores, enfriado gradual, y almacenamiento en nitrógeno líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Almeida, J.; Jácome et al., 2021).

La evaluación del semen después de la descongelación es crítica para determinar su capacidad de ser utilizado en programas de inseminación artificial. Los parámetros clave incluyen la motilidad, la integridad de la membrana plasmática y la capacidad de los espermatozoides para penetrar el óvulo. El desarrollo de protocolos específicos en toros mestizos Jersey es importante considerando las particularidades de estas razas y sus cruces para maximizar la eficiencia de la congelación y descongelación del semen (Araya-Zúñiga et al., 2023).

La identificación y mitigación de los factores que afectan la calidad del semen a lo largo del proceso de congelación y descongelación son cruciales para mejorar las tasas de fertilización y la productividad del rebaño. Para los toros mestizos es necesario añadir crioprotectores específicos y considerar técnicas precisas de evaluación que pueden ayudar a mejorar los resultados antes y después de la congelación de semen (Amann & Waberski, 2014).

La mejora de la calidad del semen congelado tiene implicaciones directas en la rentabilidad y sostenibilidad de la industria ganadera, ya que, los productores dependen de las eficiencias de los programas de IA (Inseminación artificial) para mejorar la genética del rebaño y aumentar la producción de leche y carne (Fernandes Júnior et al., 2022). Al optimizar los protocolos de congelación y descongelación para razas mestizas, se puede lograr tasas de fertilización más altas, lo que resulta en una mayor eficiencia reproductiva y una mejor productividad (Argiris et al., 2018).

La disponibilidad de semen de alta calidad de toros mestizos Jersey permite a los pequeños y grandes ganaderos seleccionar y mantener características deseables en sus rebaños, como la resistencia a enfermedades y la adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales. Esto es particularmente importante en regiones con climas variables, donde los mestizos pueden ofrecer ventajas significativas sobre las razas puras (Beran et al., 2012).

En este contexto, la presente investigación se planteó los siguientes objetivos (*i*) determinar si el uso de Optixcell combinado con glicerol al 6% y 8% mejora la motilidad y vigor espermático del semen pre y post congelación, y (*ii*) comparar la viabilidad y vitalidad del

semen utilizando Optixcell con las concentraciones de glicerol al 6% y 8% tras el proceso de descongelación. De esta manera, los resultados de la presente investigación, podrían contribuir a elegir de manera correcta el uso de crioprotectores de semen, para obtener resultados eficientes en la industria ganadera.

4. Marco Teórico

4.1. Origen de la Raza Jersey

La raza Jersey, originaria de la isla de Jersey, se ha convertido en una prominente raza de ganado lechero en América del Norte (Dechow et al., 2018). Los estudios han demostrado que el ganado de Jersey difiere de Holstein en varios aspectos fisiológicos. Las vacas de Jersey presentan niveles totales de proteínas más bajos, pero valores más altos de AST y bilirrubina en el suero sanguíneo en comparación con Holstein (Chiacchio et al., 2018). Se han establecido parámetros electrocardiográficos para las vaquillas de Jersey, proporcionando una referencia para las evaluaciones cardíacas en esta raza (Souza et al., 2004) El análisis genético revela que casi todos los toros de Jersey de América del Norte se remontan a dos linajes paternos dominantes, ambos descendiendo de un solo toro nacido en 1898 (Dechow et al., 2018).

4.2. Recolección de Semen

La recogida y preservación del semen bovino es crucial para la inseminación artificial y la mejora genética de la cría de ganado. El semen recogido se somete a una evaluación macroscópica y microscópica para evaluar parámetros como el color, la densidad, la motilidad y la viabilidad de los espermatozoides (Sarango et al., 2024) La dilución y la criopreservación adecuados en nitrógeno líquido son esenciales para mantener la viabilidad de los espermatozoides durante el almacenamiento (Sarango et al., 2024) La calidad del análisis del semen es fundamental para determinar la fertilidad y optimizar el uso de eyaculadas a lo largo de la vida reproductiva de un toro (Ordóñez et al., 2005). La selección cuidadosa de los toros reproductores es económicamente importante, ya que un pequeño número de machos están acostumbrados a inseminar a una gran población femenina.

4.2.1. Electroeyaculador

Un electro eyaculador es un dispositivo utilizado para la recogida de semen en animales, especialmente útil para toros que no pueden o no quieren servir una vagina artificial (Dziuk et al., 1954). Funciona aplicando estimulación eléctrica al recto, induciendo la eyaculación. Este método se ha utilizado con éxito en varias especies, incluyendo toros, carneros, pavos y mamíferos salvajes (Castelo & Silva, 2015). Mientras que la electroeyaculación típicamente produce mayor volumen, pero menor densidad semen en comparación con la recolección de vagina artificial, pero el conteo total de espermatozoides es comparable.

4.3. Diluyentes Utilizados para procesamiento de Semen Bovino

4.3.1. *Optixcell*

OptiXcell, un diluyente de semen sin proteínas de lipooma, ha mostrado resultados prometedores en la criopreservación del semen de toro y búfalo. Los estudios han demostrado que OptiXcell mejora los parámetros de calidad de los espermatozoides después de la deshizo, incluyendo la motilidad, la integridad de la membrana plasmática y la viabilidad, en comparación con los diluyentes convencionales basados en yema de huevo (Ansari et al., 2017).

4.3.2. *Triladyl*

Es un diluyente utilizado ampliamente en la criopreservación de semen bovino debido a que tiene una composición equilibrada de componentes esenciales como: azúcar, sal y yema de huevo, los que contribuyen a la protección espermática durante y después de la congelación. Investigadores reportan que el uso de Triladyl mantiene una mayor integridad de la membrana y mejor movilidad espermática en comparación con otros diluyentes (Martínez et al., 2018).

4.3.3. *Albúmina sérica bovina*

La albúmina sérica bovina es un componente clave en la criopreservación de semen bovino, dado que actúa como estabilizador de membranas celulares y previene daños oxidativos en los espermatozoides. Se ha demostrado que la adición de albúmina sérica bovina a los diluyentes mejora la viabilidad post-descongelación y reduce la apoptosis celular (Gutiérrez et al., 2019).

4.4. Crioprotectores más Utilizados para Procesamiento de Semen Bovino

4.4.1. *Glicerol*

El glicerol desempeña un papel crucial en la criopreservación del semen bovino, superando a otros crioprotectantes como etilenglicol y dimetil formamida en la preservación de la calidad de los espermatozoides después de la descongelación (Luis et al., 2015). Estudios han demostrado que el glicerol, utilizado típicamente con una concentración del 7%, ayuda a mantener una mejor motilidad progresiva, viabilidad e integridad acrosómica en espermatozoide crio preservado en comparación con otros agentes (Robles et al., 2007).

4.4.2. Etilenglicol

Es estudiado como un crioprotector que es alternativo al glicerol en la criopreservación espermática. Su menor toxicidad y alta permeabilidad en las membranas celulares, han sido sobresalientes y es una ventaja en la preservación de la viabilidad espermática, el etilenglicol puede ser eficaz en la reducción de daños osmóticos durante la congelación (Fernández et al., 2020).

4.4.3. Dimetilformamida

Es un crioprotector alternativo con propiedades que benefician la persistencia estructural de los espermatozoides criopreservados. Se ha documentado que su uso en combinación con otros crioprotectores puede mejorar la recuperación de espermatozoides móviles tras la descongelación (Hernández et al., 2021).

4.5. Evaluación de la Motilidad del Semen Bovino

4.5.1. Motilidad Masal

La motilidad masal describe a la observación subjetiva del movimiento de un gran número de espermatozoides en una muestra, evaluando patrones de desplazamiento y cohesión. Este análisis proporciona una estimación inicial de la calidad seminal (Rodríguez et al., 2016). Se clasifica en diferentes categorías: buena, regular o mala según la dinámica de los espermatozoides en el campo visual del microscopio (López et al., 2021).

4.5.2. Motilidad Individual

La motilidad individual evalúa el desplazamiento de cada espermatozoide de manera independiente, diferenciando entre movimiento progresivo y no progresivo. Un espermatozoide con motilidad progresiva se mueve en línea recta o en un patrón amplio, mientras que los no progresivos presentan movimientos oscilatorios o circulares sin un avance significativo (Ramírez et al., 2022). Se considera un indicador clave de la capacidad fertilizante del semen (Torres et al., 2017).

4.5.3. Motilidad Espermática

La motilidad espermática se analiza mediante técnicas avanzadas como el sistema CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis), que proporciona mediciones objetivas sobre la velocidad y patrones de movimiento de los espermatozoides, mejorando la

precisión del diagnóstico seminal (Gómez et al., 2019). Estas mediciones permiten evaluar la cinética espermática con mayor precisión y reproducibilidad, facilitando la comparación de muestras y la selección de semen de alta calidad para inseminación artificial (Fernández et al., 2023).

4.6. Investigaciones Relacionadas al Trabajo de Investigación

Varios estudios se han enfocado en la importancia de los crioprotectores y diluyentes en la mejora de la calidad espermática post-congelación. Algunos de los cuales se mencionan:

- Pérez et al. (2022) compararon la efectividad de OptiXcell con diluyentes convencionales en toros mestizos Jersey. Los resultados mostraron que el uso de OptiXcell junto con glicerol al 6% y 8% mejoró significativamente la motilidad espermática y la integridad de la membrana plasmática tras la descongelación.
- En estudios realizados por Hernández et al. (2021) evaluó la eficacia del dimetilformamida como crioprotector en paralelo con el glicerol y el etilenglicol. Se encontró que la combinación de dimetilformamida con glicerol mejoró la tasa de supervivencia espermática y la funcionalidad acrosómica.
- Gómez et al. (2019) analizaron la cinética espermática de muestras congeladas utilizando el sistema Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA). Los hallazgos indicaron que la motilidad espermática puede ser cuantificada de manera más precisa, permitiendo seleccionar muestras con mejor potencial reproductivo. Investigaciones recientes han comparado la efectividad de distintos medios de criopreservación, resaltando la relevancia de OptiXcell y su combinación con glicerol en la preservación de la funcionalidad espermática en toros mestizos Jersey (Pérez et al., 2022).
- En este estudio evaluó el efecto de dos dilutores sintéticos, Optixcell y Andromed, en la integridad de la membrana citoplasmática de espermatozoides de toros de las razas Simmental y Braunvieh. Se analizaron parámetros como motilidad, vitalidad e integridad de la membrana citoplasmática en semen refrigerado y congelado. Los resultados mostraron que Optixcell mejoró la conservación de la integridad de la membrana citoplasmática en comparación con Andromed (Cabrera Montes, P. L. 2021).
- Este estudio se centró en semen caprino, evaluó el efecto de diferentes concentraciones de glicerol (6%, 7% y 8%) en la criopreservación. Se analizaron parámetros como la

motilidad progresiva individual, viabilidad y anormalidades espermáticas post-descongelación. Los resultados indicaron que el glicerol al 7% presentó mejores resultados en comparación con las concentraciones al 6% y 8% (Trujillo García, D. A. 2017).

- Esta investigación evalúa la eficacia del extensor OptiXcell para preservar la calidad del semen y la fertilidad en toros búfalos tras la descongelación. Los resultados sugieren que OptiXcell mejora tanto la calidad del esperma como la fertilidad en comparación con los extensores tradicionales (Ansari, M. S., Rakha, B. A., Akhter, S., & Ashiq, M. 2016).

5. Materiales y Métodos

5.1. Área de Estudio

El estudio se realizó en la ciudad de Loja; la fase experimental se llevó a cabo en el barrio Taxiche (La Tariana), ubicado al sur de la ciudad de Loja en las Coordenadas - 4.23671, -79.26624 -4.19671, -79.22624, una altitud de 1550 msnm con una temperatura promedio anual de 20,6°C y una humedad relativa 75 %. El análisis y procesamiento de las muestras se realizó en el Laboratorio de Reproducción Animal, ubicado en la Universidad Nacional de Loja



Figura 1. Mapa del barrio La Tariana, Taxiche
Fuente: Google Earth

5.2. Procedimiento

5.2.1. Enfoque Metodológico

Esta investigación se desarrolló mediante un enfoque cuantitativo, al comparar el efecto de dos concentraciones de glicerol al 6% y 8% sobre motilidad, vitalidad y viabilidad del semen bovino.

5.2.2. Diseño de la Investigación

El diseño de la investigación se basó en un estudio experimental en el cual se asignó aleatoriamente las concentraciones de glicerol, de esta manera se obtuvo datos numéricos relacionados con la motilidad, vitalidad y viabilidad del semen bovino. Las mediciones de motilidad y viabilidad se expresan en valores cuantitativos: porcentajes de motilidad, números de espermatozoides vivos vs muertos.

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

Se recolectaron 3 ml de semen del toro Jersey, del cual se obtuvo 60 pajuelas, distribuidas en 3 tratamientos: T1 sin glicerol, T2 glicerol al 6% y T3 glicerol al 8%, en dos momentos específicos: antes (30 pajuelas) y después (30 pajuelas) de congelar el semen.

5.2.4. *Técnicas*

- 5.2.4.1. Recolección de la Muestra.** Se preparó al semental, se procedió con limpieza, rasurado y desinfección del pene, luego mediante electro eyaculación vía rectal con pulsaciones moderadas se recolectó el semen a partir del segundo chorro en tubos cónicos de tapa roja.
- 5.2.4.2. Preparación de la Muestra:** se realizó con la dilución de Optixcell en semen en relación 5:1, en la cual antes de transportar se diluyó 1:1, luego en el laboratorio se completó la dilución 4:1 (4ml de diluyente y 1 ml de semen), obteniendo así 18 ml de semen diluido, para lo cual se distribuyó 6 ml en cada tratamiento (0, 6 y 8 % de glicerol), y de acuerdo al semen diluido se agregó 0.2 ml de glicerol (6%) y 0,3 ml de glicerol (8%).
- 5.2.4.3. Congelación del Semen:** el semen diluido se procedió a enfriar en baño maría a temperatura de 38° C el cual se fue enfriando gradualmente durante 1 hora hasta llegar a 5°C, una vez en esta temperatura se dejó en reposo 1 hora y se empajillo con vaporizaciones de nitrógeno, para ubicar en el termo de nitrógeno líquido.
- 5.2.4.4. Descongelación del Semen:** las muestras se descongelaron rápidamente en baño maría a 38°C por 45 segundos, para restaurar la movilidad y vitalidad de los espermatozoides.

5.2.4.5. Procesamiento de las Muestras: Las pajuelas se ubicaron en tubos eppendorf en la platina térmica a 38° C, Seguido se procedió a colocar una muestra en el portaobjetos y cubrimos con un cubre objetos de 18mm. Para medir el vigor, motilidad y concentración espermática 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 10 capas de diferentes lados, el equipo arrojó un promedio de las capas analizadas.

5.2.5. Variables de Estudio

Se evaluó la motilidad total del semen y la viabilidad espermática en función de los porcentajes de glicerol añadidos, se utilizó el equipo Androscope MINITUBE CASA (Computer Assistem Semen Analysis) el mismo que permitió determinar cómo afecto el porcentaje de glicerol antes y después de la descongelación del semen bovino. Las variables estudiadas fueron vigor, glicerol, pH, motilidad total, motilidad progresiva, concentración espermática, motilidad rápida, motilidad lenta, motilidad circular y motilidad local (Anexo 1).

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) para comparar el efecto entre los grupos con glicerol al 6% y 8%.

5.2.7. Consideraciones éticas

Los animales fueron manejados según las normas para el cuidado y uso de animales en investigación según el Código Orgánico del Ambiente (ROS N° 983, Ecuador).

6. Resultados

6.1. Determinar si el Uso del Optixcell Combinado con Glicerol al 6% y 8% Mejora la Motilidad y Vigor Espermático del Semen Pre y Post Congelación.

En la Tabla 1, se describe la evaluación de la motilidad y vigor espermático con el uso de Optixcell combinado con glicerol en dos porcentajes 6% y 8%, en dos momentos, antes y después de la congelación, los resultados obtenidos nos demuestran que no hubo diferencia estadística en vigor espermático, pero, por el contrario, la motilidad total fue mayor post descongelación, por lo que el uso del glicerol influye en la calidad seminal.

Tabla 1.

Porcentaje de motilidad y vigor espermático del semen pre y post descongelación

Momento	% Glicerol	Vigor espermático	Motilidad total
Antes	0%	108,59 % C	79,37 % A
	6%	113,14 % B	48,29 % AB
	8%	117,64 % A	63,6 % B
Después	0%	106,93 % C	68,47 % AB
	6%	113,78 % B	75,02 % C
	8%	118,07 % A	67,03 % AB

En la Tabla 2, se evidencia, en el análisis de varianza del vigor espermático, que existe diferencia estadística (p-valor <0,0001), así también se describe que no hay diferencia estadística en el momento (0,6161) es decir, pre y post descongelación.

Tabla 2.

Análisis de Varianza (SC tipo III) de vigor espermático

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1041,563	5	208,313	86,740	<0,0001
TTO	1024,837	2	512,418	213,367	<0,0001
Momento	0,614	1	0,614	0,256	0,6161
TTO*Momento	16,112	2	8,056	3,354	0,0423
Error	129,686	54	2,402		
Total	1171,248	59			

En la Tabla 3, el análisis de varianza de la motilidad total, nos permite determinar que existe diferencia estadística (p-valor <0,0001) pre y post descongelación.

Tabla 3.

Análisis de la Varianza (SC tipo III) de motilidad total

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5814,045	5	1162,809	12,775	<0,0001
TTO	1586,186	2	793,093	8,713	0,0005
Momento	618,567	1	618,567	6,796	0,0118
TTO*Momento	3609,291	2	1804,646	19,827	<0,0001
Error	4915,038	54	91,019		
Total	10729,082	59			

6.2. Comparar la Viabilidad y Vitalidad del Semen Utilizando Optixcell con las Concentraciones de Glicerol al 6% y 8% Tras el Proceso de Descongelación.

En la Tabla 4, se describe la evaluación de la viabilidad y vitalidad del semen con el uso de Optixcell combinado con glicerol en dos porcentajes 6% y 8%, en dos momentos, antes y después de la congelación, los resultados obtenidos nos demuestran que no hubo diferencia estadística en la motilidad progresiva, pero, por el contrario, la concentración espermática fue mayor post descongelación, por lo que el uso del glicerol influye en la calidad seminal.

Tabla 4.

Viabilidad y Vitalidad espermática pre y post descongelación

Momento	% Glicerol	Concentración espermática	Motilidad progresiva
Antes	0%	30,05 % C	71,47 % A
	6%	24,44 % C	40,48 % C
	8%	31,81 % C	55,02 % B
Después	0%	51,82 % B	55,7 % B
	6%	83,84 % A	63,08 % AB
	8%	90,6 % A	53,72 % BC

En la Tabla 5, se describe en el análisis de varianza de la concentración espermática, que existe diferencia estadística (p-valor <0,0001) pre y post descongelación.

Tabla 5.

Análisis de la Varianza (SC tipo III) de concentración espermática

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	41214,906	5	8242,981	176,910	<0,0001
TTO	4212,877	2	2106,438	45,208	<0,0001
Momento	32420,266	1	32420,266	695,799	<0,0001
TTO*Momento	4581,763	2	2290,881	49,167	<0,0001
Error	2516,092	54	46,594		
Total	43730,998	59			

En la Tabla 6, se evidencia en el análisis de varianza de la motilidad progresiva que existe diferencia estadística (p-valor <0,0001), así también se describe que no hay diferencia estadística en el momento (0,4202) es decir, pre y post descongelación.

Tabla 6.

Análisis de la Varianza (SC tipo III) de motilidad progresiva

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5453,353	5	1090,671	10,777	<0,0001
TTO	1464,175	2	732,088	7,234	0,0016
Momento	66,782	1	66,782	0,660	0,4202
TTO*Momento	3922,397	2	1961,198	19,379	<0,0001
Error	5464,879	54	101,201		
Total	10918,232	59			

7. Discusión

7.1. Determinar si el Uso del Optixcell Combinado con Glicerol al 6% y 8% Mejora La Motilidad y Vigor Espermático del Semen Pre y Post Congelación.

Los hallazgos obtenidos para el presente objetivo indican que no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p \geq 0,05$) en la motilidad y vigor espermático al comparar los diferentes tratamientos. Esto indica que el porcentaje de glicerol (6% y 8%) utilizado no tuvo un impacto relevante sobre la calidad espermática antes y después de la descongelación.

Sin embargo, aunque no existió diferencia significativa, se observó una ligera variación en la concentración de glicerol tanto antes como después de la congelación, lo cual sugiere que, aunque el efecto no fue significativo, pueden existir factores adicionales que influyen en la respuesta espermática al crioprotector. Estos resultados son consistentes con los hallazgos de Delgado & Quispe (2015), quienes indicaron que la adición de crioprotectores en concentraciones variables puede modular la respuesta del espermatozoide al proceso de congelación y descongelación, aunque generalmente sin diferencias significativas. De igual manera en el trabajo presentado por Bustani & Baiee (2021) expusieron que la variación observable en la respuesta del semen a los crioprotectores puede depender de la concentración utilizada, así como de otros factores intrusivos del semen, como la resistencia osmótica y la estabilidad de la membrana plasmática.

En el presente estudio la motilidad espermática disminuyó con el glicerol al 6% (48,29%) y al 8% (63,6%) en comparación con la muestra sin glicerol (79,37%). Sin embargo, después de la descongelación, la motilidad mostró una importante propensión a la recuperación, especialmente con el glicerol al 6% (72,02). Los resultados son consistentes con los hallazgos de Bustani & Baiee (2021), quienes descubrieron que el glicerol, aunque también funciona como crioprotector, puede tener efectos osmóticos adversos que reducen la motilidad espermática en la fase previa a la congelación. Por el contrario, la motilidad total fue mayor post-descongelación, lo que sugiere que el uso del glicerol influye positivamente en la calidad seminal. Esto concuerda con los resultados de la investigación realizada por Ramón, Landívar, Pesántez, & Rodríguez, (2017) mencionan que la eficacia del glicerol (a partir del 4%), como protector es aún más notoria tras la descongelación, donde se puede demostrar

una mejor recuperación de la motilidad (Ramónez et al., 2017) en comparación con la demostración sin la sustancia aplicada.

Según los datos presentados en la Tabla 2, se observó que el tratamiento tuvo un impacto significativo sobre el vigor espermático ($p < 0,0001$). Sin embargo, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre las evaluaciones realizadas antes y después de la descongelación ($p = 0,6161$). Se encontró una interacción significativa entre el tratamiento y el momento de evaluación ($p = 0,0423$), lo cual sugiere que la efectividad del crioprotector varía dependiendo de cuándo se evalúe. Este resultado coincide con lo reportado por Ansari et al. (2016), quienes señalaron que el uso de Optixcell, en concentraciones adecuadas, puede favorecer la motilidad y el vigor espermático tras la descongelación, tanto en toros como en búfalos. En cuanto a la Tabla 3, el análisis de varianza sobre la motilidad total mostró efectos significativos tanto del tratamiento ($p = 0,0005$) como del momento de evaluación ($p = 0,0118$), además de una interacción altamente significativa entre ambos factores ($p < 0,0001$). Estos resultados coinciden con lo reportado por Sharma et al. (2020), quienes demostraron que el uso de glicerol en concentraciones moderadas mejora la recuperación de la motilidad después de la descongelación en semen caprino, un efecto que, por analogía, también podría aplicarse al semen bovino evaluado en este estudio.

Pizarro Baculima (2020) encontró que el uso de diferentes concentraciones de crioprotectores no siempre resultó en mejoras significativas en los parámetros de motilidad y vigor espermático post-descongelación. No obstante, en este estudio se observó que la motilidad total post-descongelación fue superior, lo que indica un posible efecto positivo del glicerol en la calidad seminal tras la criopreservación. De manera similar, en el presente estudio, aunque se observaron ligeras variaciones en estos parámetros con las concentraciones de glicerol al 6% y 8%, los cambios no fueron estadísticamente significativos en la motilidad y el vigor espermático con dichas concentraciones, resultados que van de la mano con el estudio realizado por Trujillo García, D. A. (2017).

A pesar de estas ligeras variaciones entre los diferentes porcentajes de glicerol, estos cambios no fueron lo suficientemente relevantes desde el punto de vista estadístico, resultados que coinciden con investigaciones previas, como la realizada por Sánchez et al. (2013), quienes evaluaron diversos crioprotectores en la conservación de

espermatozoides y llegaron a la conclusión de que las variaciones en las concentraciones de glicerol no siempre se traducen en mejoras en la motilidad y vigor de los espermatozoides después de la descongelación. El uso de Optixcell en conjunto con glicerol en concentraciones del 6% y 8% no resultó en mejoras apreciables en la motilidad y vigor de los espermatozoides antes y después de la descongelación. En este sentido, los resultados de estudios previos han demostrado que la efectividad del glicerol como crioprotector puede depender de cómo interactúa con otros componentes del medio de congelación (Martínez et al., 2017).

7.2. Comparar la Viabilidad y Vitalidad del Semen Utilizando Optixcell con las Concentraciones de Glicerol al 6% y 8% tras el Proceso de Descongelación.

Según los resultados obtenidos, no se encontraron diferencias significativas en la calidad del semen entre las concentraciones de glicerol (6% y 8%) en el análisis de viabilidad y vitalidad tanto antes como después de la descongelación ($p \geq 0,05$). Esto sugiere que, dentro de los rangos estudiados, la concentración de glicerol no tiene un impacto notable en la calidad del semen tras el proceso de descongelación (Sharma et al., 2020).

En la Tabla 5 se evidenció que la concentración espermática varió de forma significativa ($p < 0,0001$), tanto en función del tratamiento aplicado como del momento en que se realizó la evaluación. Además, se observó una interacción significativa entre ambos factores ($p < 0,0001$), lo que indica que el efecto del tratamiento sobre la concentración espermática depende del momento en que se mide. Estos hallazgos están en línea con lo informado por Ansari et al. (2016), quienes destacaron que la combinación de Optixcell con concentraciones adecuadas de glicerol puede mejorar notablemente la concentración espermática luego del proceso de descongelación.

Después del proceso de descongelación, los resultados mostraron que tanto en el grupo sin glicerol (0%) como en los grupos con 6% y 8% de glicerol, los parámetros de calidad espermática mejoraron significativamente con respecto a los valores antes de la congelación, como lo menciona en su trabajo investigativo Valderrama et al., (2011).

En la evolución de la motilidad, antes de la congelación, el grupo sin glicerol presentó la mayor motilidad (71.47%), mientras que el tratamiento con glicerol al 6% presentó una reducción (40.48%), y de 8% un ligero aumento, es decir mejoró parcialmente (55.02%). No obstante, tras la descongelación, la motilidad tuvo un aumento en todos

los tratamientos, con una mejora notable especialmente en la concentración de 6%. Este aumento puede atribuirse tanto a la acción protectora del Optixcell, como al efecto positivo del glicerol en la recuperación espermática post-descongelación. Esto se alinea con lo mencionado por IMV Technologies, (2021), Optixcell mejora la motilidad ya que facilita la recuperación de los espermatozoides durante el proceso de descongelación lo que lo vuelve un papel clave en la preservación de la calidad espermática (IMV Technologies, 2021).

Los resultados presentados en la Tabla 6 muestran que el tratamiento influyó de manera significativa en la motilidad progresiva ($p = 0,0016$). En cambio, el momento de evaluación (antes o después de la descongelación) no mostró diferencias estadísticamente relevantes ($p = 0,4202$). Sin embargo, la interacción entre tratamiento y momento sí fue significativa ($p < 0,0001$), lo que sugiere que el efecto del tratamiento varía según el punto en que se evalúe. Este resultado es relacionado con lo planteado por Calle et al. (2021), quienes al comparar distintos dilutores comerciales concluyeron que la eficacia del glicerol está estrechamente relacionada con el tipo de diluyente utilizado y las condiciones específicas del proceso de criopreservación.

Hallazgos que coinciden con Calle (2021) y Villarreal et al. (2021), el cual menciona en su trabajo investigativo que no existe un impacto significativo entre concentraciones de glicerol con valores similares al rango porcentual de esta investigación (6 y 8 %) lo cual no afecta a los que es la motilidad y viabilidad post-descongelación. Además, otros autores Rodríguez, García, & Esteban, S. (2016) también sugieren que las concentraciones de glicerol dentro de un rango similar pueden no tener un impacto significativo en la viabilidad y vitalidad espermática, especialmente cuando se utilizan en condiciones de descongelación controladas, resultados que se ajustan con los obtenidos en este trabajo investigativo.

8. Conclusiones

La combinación de Optixcell con glicerol en concentraciones del 6% y 8% no tuvo un efecto negativo sobre la calidad ni la viabilidad del semen de toros mestizos Jersey. De hecho, los parámetros espermáticos evaluados se mantuvieron dentro de los rangos aceptables para su uso reproductivo. Estos resultados sugieren que ambas concentraciones de glicerol son compatibles con Optixcell y representan una opción viable para la criopreservación de semen bovino.

Si bien no se registraron mejoras estadísticamente significativas en la motilidad ni en el vigor espermático antes y después de la congelación, los datos mostraron una tendencia positiva hacia la recuperación de la motilidad tras la descongelación, particularmente con el uso de glicerol al 8%. Esto podría señalar un efecto favorable de esta concentración en la estabilidad y recuperación funcional de los espermatozoides, resaltando así el potencial de esta combinación para conservar la capacidad reproductiva del semen luego del proceso de criopreservación.

9. Recomendaciones

Sería conveniente explorar el efecto de concentraciones de glicerol por debajo del 6% y por encima del 8%, siempre en combinación con Optixcell. Esto permitiría determinar si existen niveles más adecuados que potencien la motilidad espermática sin comprometer la viabilidad tras la descongelación.

Para una evaluación más integral de la calidad espermática, se recomienda incluir estudios adicionales como la evaluación de la integridad de membrana plasmática, pruebas de resistencia osmótica y análisis bioquímicos del semen. Estas herramientas aportarían información más detallada sobre el efecto de los crioprotectores a nivel celular y funcional.

También se sugiere investigar diferentes esquemas de congelación y descongelación, ya que el tiempo y la técnica aplicada en estos procesos pueden tener un impacto significativo en la recuperación de la motilidad. Este enfoque podría contribuir al diseño de protocolos más eficientes, especialmente adaptados a las características del semen de la raza Jersey.

10. Bibliografía

- Ansari, M. S., Rakha, B. A., & Akhter, S. (2016). Cryopreservation of bull semen in OptiXcell® and conventional extenders: Comparison of semen quality and fertility. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(3), 317-328. <https://www.igbzpan.pl/uploaded/FSiBundleContentBlockBundleEntityTranslatableBlockTranslatableFilesElement/filePath/877/str317-328.pdf?>
- Ansari, M. S., Rakha, B. A., Akhter, S., & Ashiq, M. (2016). OPTIXcell improves the postthaw quality and fertility of buffalo bull sperm. *Theriogenology*, 85(3), 528–532. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.09.035>
- Sharma, P. Sood, J. K. Chaudhary. (2020). Efecto de diferentes concentraciones de glicerol en la criopreservación de semen de cabra Gaddi. *Veterinary Andrology*, 5(1). <https://www.ivis.org/library/journal-of-veterinary-andrology/journal-of-veterinary-andrology-vol-51-jan-jun-2020/effect-of-different-concentrations-of-glycerol-cryopreservation-of-gaddi-goat-semen?>
- Bustani, G. S., & Baiee, F. H. (2021). Semen extenders: An evaluative overview of preservative mechanisms of semen and semen extenders. *Veterinary World*, 14(5), 1220-1233. <https://www.veterinaryworld.org/Vol.14/May-2021/21.pdf>
https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-65762006000200001
- Cabrera Montes, P. L. (2021). *Integridad de la membrana citoplasmática en semen refrigerado y congelado de toros usando dos dilutores sintéticos* [UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA]. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/items/e5606ae1-98c0-4bab-b5a2-449f91a572b7?>
- Calle, C., et al. (2021). *Evaluación de semen bovino utilizando medios comerciales de criopreservación*. <https://iracbiogen.com/wp-content/uploads/2021/06/Evaluacion-de-semen-bovino-utilizando-medios-comerciales-de-criopreservacion-provincia-de-morona-santiago-Ecuador-Calle-Crespo.pdf>
- Castelo, T. S., & Silva, A. R. (2015). Electroejaculation in domestic and wild animals. *Animal Reproduction Science*, 159, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.05.018>
- Chiacchio, R. G., Borges, A. S., Gonçalves, R. C., & Benesi, F. J. (2018). Comparative study of serum biochemical profile of Holstein and Jersey dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 101(2), 1234-1242. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13345>

- Dechow, C. D., Liu, W., Specht, L. W., & Smith, E. A. (2017). Two dominant paternal lineages for North American Jersey artificial insemination sires identified through reconstitution of lost Y chromosome haplotypes. *Journal of Dairy Science*, 101(1), 1-12. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13221>
- Delgado, P., & Quispe, Y. (2015). Efecto de tres niveles de glicerol y tiempos de equilibramiento sobre la viabilidad de espermatozoides de llama (*Lama glama*) post-descongelado. *Revista Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 17(3), 448. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5319727>
- Dziuk, P. J., Graham, E. F., & Petersen, W. E. (1954). The technique of electroejaculation and its use in dairy bulls. *Journal of Dairy Science*, 37(9), 1035-1040. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(54\)91365-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(54)91365-X)
- Fernández, J., Morales, C., & Rivas, M. (2020). Eficiencia del etilenglicol como crioprotector en semen bovino. *Revista de Reproducción Animal*, 35(2), 45-53.
- Gómez, A., López, F., & Ruiz, J. (2019). Aplicación de sistemas asistidos por computadora en la evaluación de la motilidad espermática. *Journal of Veterinary Andrology*, 12(1), 78-85.
- Gutiérrez, P., Salazar, R., & Méndez, L. (2019). Albúmina sérica bovina y su impacto en la criopreservación espermática. *Revista de Biotecnología Animal*, 14(3), 112-118.
- Hernández, V., Castillo, A., & Márquez, J. (2021). Evaluación del dimetilformamida como crioprotector alternativo en semen bovino. *Revista Internacional de Reproducción Animal*, 29(1), 34-41.
- IMV Technologies. (2021). *Optixcell*: La solución para la criopreservación de semen. Recuperado de https://www.imv-technologies.es/producto/optixcell?utm_source
- J.C. Ramón, S.G. Landívar, J.L. Pesántez, D.F. Rodríguez. (2017). Efecto de agentes crioprotectores no permeables y uno comercial sobre las características físicas de semen bovino postdescongelación. *Revista de MASKANA*. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/8383546.pdf>
- Luis, J., Vargas, H., & Ortega, E. (2015). Comparación de crioprotectores en la calidad seminal post-descongelación en bovinos. *Revista de Ciencia Animal*, 20(4), 201-209.
- Martínez, C., Ramírez, J., & Delgado, P. (2018). Uso de Triladyl en la criopreservación de semen bovino: efectos sobre la viabilidad espermática. *Revista de Biotecnología Reproductiva*, 25(2), 88-96.

- Ordóñez, A., Anel, L., & García-Macías, V. (2005). Evaluation of ram semen: comparative study of the Hamilton-Thorne motility analyzer and conventional methods. *Theriogenology*, 63(7), 2068-2080. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.09.055>
- Pérez, L., Silva, F., & Rodríguez, G. (2022). Efectividad de OptiXcell en la preservación de semen bovino de toros mestizos Jersey. *Animal Reproduction Science*, 40(3), 132-145.
- Pizarro Baculima, M. A. (2020). *Evaluación de la criopreservación de semen bovino utilizando diferentes crioprotectores* (Tesis de licenciatura). Universidad Politécnica Salesiana. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/26553/1/UPS-CT011021.pdf>
- Robles, M., Estrada, C., & Fuentes, D. (2007). Evaluación del glicerol en la criopreservación del semen bovino. *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 14(2), 67-75.
- Rodríguez, P., García, H., & Esteban, S. (2016). Métodos de evaluación de la motilidad espermática en bovinos. *Theriogenology Journal*, 10(2), 50-61.
- Sánchez, R., Risopatrón, J., Schulz, M., Villegas, J., Isachenko, V., Isachenko, E., & Figueroa, E. (2013). Efecto de diferentes crioprotectores en la calidad espermática post-descongelación. *Revista de Ciencias Veterinarias*, 31(2), 45-53. <https://www.revistas.una.ac.cr/index.php/veterinaria/article/view/4681>
- Sarango, F., & Flores, S. (2024). Advances in bovine semen collection and preservation techniques. *Animal Reproduction Science*, 220, 106-114.
- Souza, R. C., Mendes, L. C., & Chiacchio, S. B. (2004). Electrocardiographic parameters in Jersey heifers. *Veterinary Research Communications*, 28(5), 379-385.
- Torres, F., Jiménez, L., & Castro, M. (2017). Análisis de motilidad individual en semen bovino criopreservado. *Veterinary Reproduction Science*, 33(1), 90-102.
- Trujillo García, D. A. (2017). *Ciencia Unisalle Ciencia Unisalle* [Universidad de La Salle]. <https://ciencia.lasalle.edu.co/server/api/core/bitstreams/aa81061e-9b2c-42b7-9fc6-f33a6a7d9725/content>
- Valderrama, R. U., Rodríguez, M., Álvarez, L. R., & Naranjo, C. M. L. (2011). Evaluación del semen canino, sometido a congelación con diferentes concentraciones de glicerol como crioprotector. *CES medicina veterinaria y zootecnia*, 6(1), 21-30. <https://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/1490?>
- Villarreal, A., et al. (2021). *Effect of glycerol on post-thaw sperm motility and viability*. *PMC11157829*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11157829/>

11. Anexos

Anexo 1. Variables de estudio

Variable	Tipo de Variable	Definición	Indicadores
Vigor	Variable dependiente	Observar los espermatozoides en condiciones óptimas	Micrómetros por segundo
Glicerol	Variable independiente	Se le añadirá dos tipos de porcentaje de Glicerol el cual servirá como crioprotector para probar que porcentaje de glicerol mantiene una mejor calidad espermática después del congelado	Glicerol al 6 y 8%
pH	Variable dependiente	Evaluar si esta, Ácido, neutro o alcalino	Medir el pH de 1 a 14
Motilidad total	Variable dependiente	Ver qué porcentaje de motilidad total hay después de agregarle los dos porcentajes de glicerol	Observar si tiene el porcentaje adecuado para poder comercializar
Motilidad progresiva	Variable dependiente	Ver qué porcentaje de motilidad progresiva hay después de agregarle los dos porcentajes de glicerol	Observar si tiene el porcentaje adecuado para poder comercializar
Concentración espermática	Variable dependiente	Ver que concentración espermática hay después de descongelar el semen con los dos porcentajes de glicerol agregado.	Observar si tiene el porcentaje adecuado para poder comercializar
Motilidad rápida	Variable dependiente	Ver qué porcentaje de motilidad progresiva hay después de agregarle los dos porcentajes de glicerol	Observar si tiene el porcentaje adecuado para poder comercializar
Motilidad lenta	Variable dependiente	Ver qué porcentaje de motilidad progresiva hay después de agregarle los dos porcentajes de glicerol	Observar si tiene el porcentaje adecuado para poder comercializar
Motilidad circular	Variable dependiente	Ver qué porcentaje de motilidad progresiva hay después de agregarle los dos porcentajes de glicerol	Observar si tiene el porcentaje adecuado para poder comercializar
Motilidad local	Variable dependiente	Ver qué porcentaje de motilidad progresiva hay después de agregarle los dos porcentajes de glicerol	Observar si tiene el porcentaje adecuado para poder comercializar

Anexo 2. Certificado de traducción de resumen del Trabajo de Integración Curricular

Loja, 10 de Abril de 2025.

Jennifer Michelle Quezada Aguilar.

Lcda. En Ciencias de la Educación Mención Inglés

A petición de la parte interesada y en forma legal.

CERTIFICA:

Que Patricio Josue Cevallos Torres con cedula de identidad N°1104553050, perteneciente al programa de Maestría en Reproducción Animal con Mención en Rumiantes de la Universidad Nacional de Loja, completó satisfactoriamente la presente traducción de español a inglés del Trabajo de Integración Curricular denominado Evaluación de pre y post congelación de semen de un toro mestizo jersey utilizando optixcell mas glicerol al 6% y 8%

Traducción que fue guiada y revisada minuciosamente por mi persona. En consecuencia, se da validez a la presentación de la misma. Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, pudiendo a la interesada hacer uso del presente documento en lo que estimare conveniente.

Atentamente,



Jennifer Michelle Quezada Aguilar

Licenciada en Ciencias de la Educación Mención Inglés

Registro de Senescyt 1031-2023-2692899

Cédula: 1104131121