

 Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña - Colombia Virgilio W. Rodríguez	UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER OCAÑA			
	Documento	Código	Fecha	Revisión
	FORMATO HOJA DE RESUMEN PARA TRABAJO DE GRADO	F-AC-DBL-007	08-07-2021	B
	Dependencia	Aprobado		Pág.
DIVISIÓN DE BIBLIOTECA	SUBDIRECTOR ACADEMICO		1(61)	

RESUMEN – TRABAJO DE GRADO

AUTORES	Alejandra Garzón Roldan		
FACULTAD	Ciencias Agrarias y del Ambiente		
PLAN DE ESTUDIOS	Zootecnia		
DIRECTOR	Naudin Alejandro Hurtado Lugo		
TÍTULO DE LA TESIS	Efectos de los diluyentes alternativos en la calidad del semen refrigerado bovino		
TITULO EN INGLES	Effects of alternative extenders on the quality of chilled bovine semen		
RESUMEN			
Se han implementado estrategias en mejoramiento de índices reproductivos, con la adopción de biotecnologías, este proceso demanda de diluyentes que son sustancias que nos permiten amplificar el volumen del eyaculado, brindar un medio donde puedan sobrevivir y finalmente que tengan el poder de fecundación El correspondiente documento ejecutado bajo revisión bibliográfica, describe los parámetros de calidad espermática, diluyentes alternativos de preservación del semen, posibilitando economía, amigables al ambiente y eficiencia reproductiva.			
RESUMEN EN INGLES			
Strategies have been implemented to improve reproductive indices, with the adoption of biotechnologies. This process requires diluents, which are substances that allow us to amplify the volume of the ejaculate, provide a medium where they can survive and finally have the power of fertilization. The corresponding document, executed under bibliographic review, describes the parameters of sperm quality, alternative diluents for semen preservation, enabling economy, environmental friendliness and reproductive efficiency.			
PALABRAS CLAVES	Diluyente, calidad seminal, espermatozoide, alternativa, fecundación.		
PALABRAS CLAVES EN INGLES	Diluent, semen quality, sperm, alternative, fertilization.		
CARACTERÍSTICAS			
PÁGINAS: 60	PLANOS:	ILUSTRACIONES:	CD-ROM:

Efectos de los diluyentes alternativos en la calidad del semen refrigerado bovino

Alejandra Garzón Roldan

**Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente Universidad Francisco de Paula Santander
Ocaña**

Zootecnia

DR. Naudin Alejandro Hurtado Lugo

06 Mayo del 2024

Dedicatoria

Dedico este trabajo de grado primero que todo a Dios quien fue mi guía en mi etapa universitaria, mis padres Olga Roldan y Daniel Garzón, quienes con su amor, apoyo incondicional y sacrificio hicieron posible que llegara hasta este punto. A mi hermana Jharlen Garzón, por ser mi inspiración, luchar por lo que anhelaba y ser mi fuente de fortaleza en cada paso del camino. A mis amigos, por su aliento y compañía en los momentos difíciles y alegres. A mis profesores, por ser guías expertos de enseñanzas valiosas que han enriquecido mi formación académica. Y a todas las personas que de una forma u otra contribuyeron a hacer realidad esta meta.

Agradecimientos

A Dios por ser mi guía en cada paso durante mi carrera universitaria

Agradezco a mis padres y hermana, por su apoyo constante y sacrificio, su confianza fueron mi mayor motivación.

Expreso mi gratitud a la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña y al programa académico Zootecnia, por brindarme los recursos y el espacio necesario para llevar a cabo esta meta.

Al docente Naudin Hurtado por su orientación experta, paciencia, consejos y retroalimentación fueron fundamentales para el desarrollo y éxito de este trabajo.

A mis amigos, quienes estuvieron presentes en cada etapa de este camino, animándome y motivándome para alcanzar mis metas.

Contenido

Introducción	9
Resumen.....	10
Abstract	10
Metodología	11
Planteamiento del problema.....	13
Formulación del problema	13
Objetivos.....	14
Objetivo general	14
Objetivos específicos.....	14
Justificación	15
Capítulo 1. Evaluación de los parámetros espermáticos.....	16
1.1 Semen bovino	16
1.2 Componente del espermatozoide	17
1.3 Recolección del semen	17
1.4 Características macroscópicas.....	18
1.5 Características microscópicas	20
1.6 Evaluación de calidad.....	24
Capítulo 2. Dilución y preservación del semen bovino	26
2.1 Principios de la preservación del semen	26

2.2	Dilución espermática.....	27
2.3	Diluyentes.....	28
2.4	Componentes básicos de los diluyentes	29
2.5	Tipo de diluyentes comerciales	33
2.5.1	Sin adición de yema de huevo	34
2.5.2	Un solo paso sin adición	35
2.5.3	Dos pasos adición de yema de huevo o antibióticos.....	35
2.5.4	Preparación con yema de huevo	35
2.5.5	Tris	36
Capítulo 3. Diluyentes alternativos.....		37
3.1	Leche entera	37
3.2	Yema de huevo.....	38
3.3	Leche descremada	38
3.4	Extracto de granos de polen de dátiles	39
3.5	Agua de coco.....	39
3.6	Sabila.....	40
3.7	Tomate (Geto)	41
3.8	Té verde (<i>Camelia Sinensis</i>)	41
3.9	Piña – Pepino.....	42
3.10	Manzana – Naranja.....	42

Estudios realizados y consideraciones relevantes	44
Conclusiones	47
Recomendaciones	48
Referencias.....	49

Lista de figuras

Figura 1 Numero de referencias por año	11
Figura 2 Idioma de los artículos.....	12
Figura 3 Número de páginas web visitadas	12
Figura 4 Parámetros de color – densidad seminal. (Selles y Morales, 2021).	20
Figura 5 Parámetros aceptables de motilidad seminal. (Hernández, 2020).	21

Lista de tablas

Tabla 1 Motilidad masal parámetros. (Cabrera Montes, 2021).	21
Tabla 2 Rangos de espermatozoides vivos. (Cabrera Montes, 2021).	22
Tabla 3 Anomalías espermáticas. (Cabrera Montes, 2021).	23
Tabla 4 Parámetros establecidos de calidad espermática. (Varela, et al., 2019).....	25

Introducción

Una de las tácticas empleadas en las fincas ganaderas es mejorar los índices reproductivos mediante el uso de técnicas como la inseminación artificial (IA). Para llevar a cabo este procedimiento, es necesario conservar los espermatozoides, lo cual requiere el uso de diluyentes. El volumen final del eyaculado bovino es permisible aumentarlo gracias a los extensores, como también mantener en supervivencia a los espermatozoides y garantizar su capacidad de procreación (Giraldo, 2019).

En la actualidad, existen diversos diluyentes en el mercado para la conservación del semen, los cuales presentan distintas ventajas que influyen en la evaluación del precio y su adquisición. A raíz de esto, se han llevado a cabo investigaciones sobre sustancias alternativas de diluyentes elaboradas en el campo con materias primas de origen animal o vegetal, las cuales han demostrado ofrecer buenos resultados, mayor economía y menor tiempo (Moreno Ávalos, 2021).

Se ha elaborado la presente monografía con el propósito de exponer los efectos causantes de los diluyentes alternativos de productos vegetales y animales en el semen bovino, bajo los parámetros de calidad de semen, con el fin de preservar la eficacia espermática. Lo anterior bajo el concepto referido por Castro Carrasco (2022), que a pesar de la existencia de diversos diluyentes comerciales con estudios de calidad y factibilidad, también es posible elaborar diluyentes de bajo costo, disponibles y naturales para el medio ambiente.

Resumen

Se han implementado estrategias en mejoramiento de índices reproductivos, con la adopción de biotecnologías, este proceso demanda de diluyentes que son sustancias que nos permiten amplificar el volumen del eyaculado, brindar un medio donde puedan sobrevivir y finalmente que tengan el poder de fecundación

El correspondiente documento ejecutado bajo revisión bibliográfica, describe los parámetros de calidad espermática, diluyentes alternativos de preservación del semen, posibilitando economía, amigables al ambiente y eficiencia reproductiva.

Palabras clave: Diluyente, calidad seminal, espermatozoide, alternativa, fecundación.

Abstract

Strategies have been implemented to improve reproductive indices, with the adoption of biotechnologies. This process requires diluents, which are substances that allow us to amplify the volume of the ejaculate, provide a medium where they can survive and finally have the power of fertilization.

The corresponding document, executed under bibliographic review, describes the parameters of sperm quality, alternative diluents for semen preservation, enabling economy, environmental friendliness and reproductive efficiency.

Keywords: Diluent, semen quality, sperm, alternative, fertilization.

Metodología

La siguiente monografía se llevó a cabo bajo el método de investigación teórico-descriptiva concreta, donde se tracto de un tema específico (diluyentes) y se desarrolló mediante la indagación, recopilación, organización, interpretación y análisis de información sobre el tema descrito (diluyentes alternativos en semen bovino), en diferentes referentes bibliográficos buscados en datos científicos, artículos, revistas y repositorios universitarios y de buscadores con confiabilidad como lo fue la base de datos de la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña y Google académico, cuyo resultado final fue un total de 65 referencias bibliográficas que en su mayoría está dentro de los 5 años recientes, 7 de estos artículos en idioma ingles y finalmente la visita de 20 páginas web lanzadas por buscadores autorizados como Google académico en su mayoría.

Figura 1

Numero de referencias por año

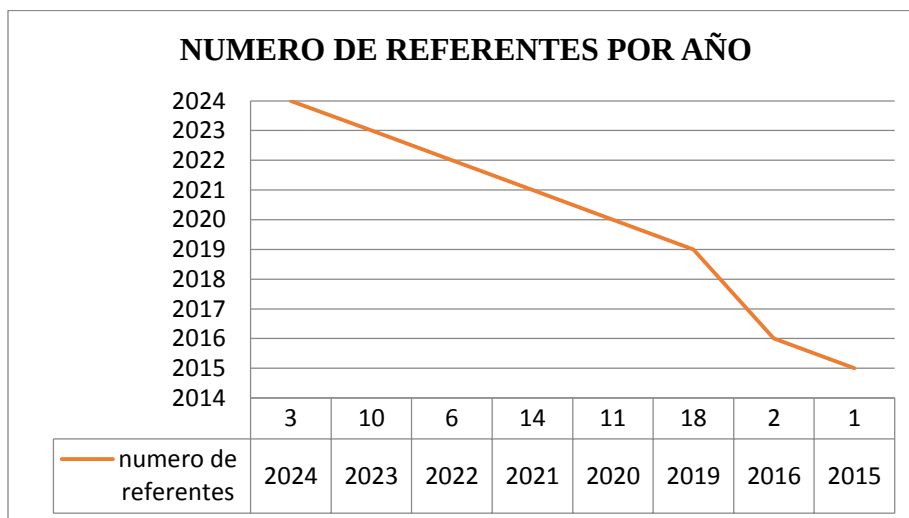
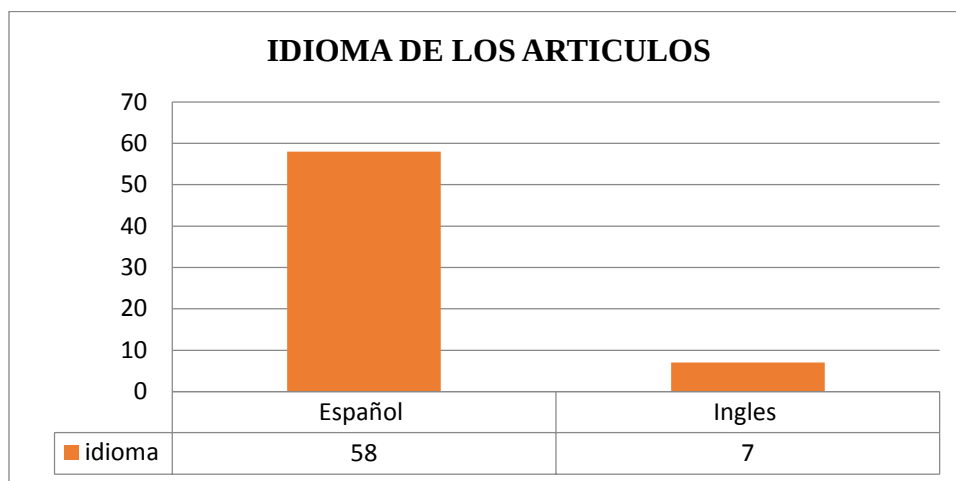
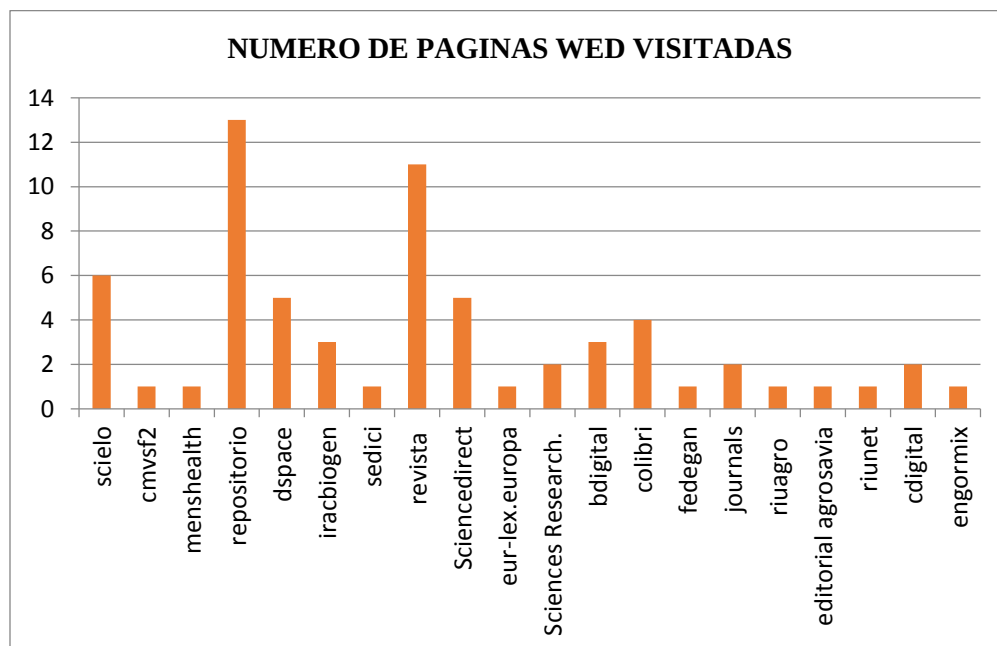


Figura 2*Idioma de los artículos***Figura 3***Número de páginas web visitadas*

Planteamiento del problema

En la creciente necesidad de manejar eficiencia y rendimiento económico en nuestros sistemas de producción, se ha desarrollado innovadoras tecnologías en el campo reproductivo que permite un perfeccionamiento en el mecanismo fisiológico y anatómicos, Colombia dentro de las producciones pecuarias la ganadería es la más activa con un 53% del desarrollo, generando empleos para el sector rural de alrededor del 7%, de lo anterior nace en afán de generar calidad de costo beneficio (Fedegán, 2019).

Unas de las estrategias en los hatos ganaderos es aumentar los índices reproductivos, donde utilizan biotecnologías como la inseminación artificial (IA) lo que nos permite avances más genéticos, para ello se requiere de la conservación de los espermatozoides y se considera como diluyente de semen bovino a sustancias que tengan la capacidad de proteger las células espermáticas, amortiguar y nutrir (Pérez Sánchez, 2019).

Por ellos el correspondiente trabajo de revisión bibliográfica pretende hacer informar en amplitud de diferentes investigaciones los diluyentes alternativos vegetales o de materia prima animales y con ello tener conocimiento del comportamiento de los espermatozoides bajo estos extensores para un posible uso en campo y que nos brinden sobrevivencia, vitalidad y fecundación.

Formulación del problema

¿Los diluyentes alternativos de subproductos vegetales y animales en el semen bovino, bajo los parámetros de calidad seminal, generarían eficacia espermática y economía rentable?

Objetivos

Objetivo gen eral

Identificar los efectos de los diluyentes alternativos en la calidad del semen refrigerado bovino.

Objetivos específicos

- Detallar la evolución de los parámetros espermáticos.
- Analizar los diluyentes comerciales en la preservación espermática.
- Reconocer los diferentes diluyentes alternativos para la conservación seminal.

Justificación

La presente investigación está orientada en facilitar hacer en inseminación artificial (IA) en campo, mediante diluyentes espermáticos de recursos fáciles de conseguir, ya que se considera como una de las prácticas más demandadas, mediante el manejo del semen colectado con valor genético, haciendo una inversión del productor más preciso mejorando la parte productiva y reproductiva de un hato (Allende y Arisnabarreta, 2021).

Para lo anterior se han estudian diluyentes de origen animal como puede ser la leche, en la actualidad no son muy recomendados ya que son disolventes que presentan endotoxinas que lo que producen en el semen es una reducción en la fertilidad final como también del manejo inadecuado, lo que nos lleva a que contenga cargas de virus (Parada Guerrero y Ariza Fernández 2019).

Este trabajo nos permite demostrar que a pesar de que ya existen diferentes diluyentes comerciales y con estudios de calidad y factibilidad, también podemos realizar diluyentes con bajos costos, disponibles y naturales al ambiente.

Capítulo 1. Evaluación de los parámetros espermáticos

1.1 Semen bovino

Martínez-Guerra, et al., (2020) describe que los espermatozoides y el plasma del semen son los dos componente primordiales que clasifican el semen.

El fluido seminal es una combinación de líquidos secretados por varias glándulas sexuales, como las vesículas seminales y los conductos deferentes, entre otras. Su funcionamiento se divide en tres principios: en primer lugar, actúa como medio de transporte para los espermatozoides, facilitando su movimiento desde el sistema reproductor masculino durante la eyaculación. En segundo lugar, funciona como un agente activador para los espermatozoides, que inicialmente carecen de movilidad. Por último, proporciona un entorno abundante en nutrientes y con un pH equilibrado, para favorecer la viabilidad de los espermatozoides después de ser liberados, rumbo al sistema reproductor femenino (Figuerola, 2019).

En los animales, el espermatozoide es una célula haploide encargada de ser el gameto masculino. Dentro de los conductos testiculares, se encuentran las espermatogonias que dan origen a las células haploides llamadas espermátidas, donde las mismas experimentan una transformación que finalmente las convierte en espermatozoides (Moreno y Lucero, 2019).

1.2 Componente del espermatozoide

Londoño Correa (2022) explica que la cabeza del espermatozoide tiene una forma aplanada y contiene el núcleo, mientras que la cola alberga las estructuras necesarias para la movilidad celular. La célula espermática está envuelta por la membrana plasmática. Según Monroy (2019), el núcleo del extremo central del espermatozoide está resguardado en una estructura denominada acrosoma. Esta es una membrana de doble capa que se une firmemente al núcleo durante las etapas finales que se dan en los testículos para el desarrollo espermatozoide. El acrosoma, que tiene forma de casquete, alberga una variedad de enzimas que desempeñan un papel fundamental en el transcurso de una fecundación efectiva. También señala que el espermatozoide exhibe una unión entre su cabeza y su cola, compuesta por segmentos medio, principal y caudal en la cola.

1.3 Recolección del semen

El procedimiento de obtención de esperma puede llevarse a cabo a través de dos técnicas, la vagina artificial y el electro eyaculador. Independientemente del método seleccionado para recolectar el esperma bovino, es esencial mantener la limpieza para evitar la contaminación del esperma, un manejo adecuado que incluya la recolección, preparación sexual y estimulación sexual contribuirá a desarrollar una cantidad proporcional y calidad aceptable del esperma obtenido (Gamarra Carlis y Moraes Beninca, 2023).

La vagina artificial adaptada está compuesta por un cilindro de PVC con una longitud promedio de 20cm y el diámetro de 4cm. En su interior, se encuentra aire a presión y agua caliente, cuya temperatura debe mantenerse entre 38 y 40 °C para garantizar una temperatura

constante. El uso de esta vagina artificial resulta más natural y confiable, ya que proporciona una muestra de semen más fisiológica (Crespo, 2020).

El electroeyaculador se emplea a través de un dispositivo con forma de bala, el cual se inserta por vía rectal en el macho y emite unos suaves y oscilantes choques eléctricos al sistema reproductivo del toro con el fin de obtener el semen. Una de sus ventajas es que facilita la recolección en toros poco dóciles o agresivos (Araya-Zúñiga, et al., 2023).

Ramos Flores (2019) aseguró que una vez recolectadas las muestras, estas son analizadas mediante un espermograma, en el cual se realiza una evaluación macroscópica para observar el color, volumen, densidad del líquido, pH, olor y apariencia.

1.4 Características macroscópicas

Volumen: El semen está mayormente constituido por secreciones vesiculares del semen y las glándulas prostáticas, la cantidad de líquido seminal es fundamental para determinar la cifra sistémica de los espermatozoides como la presencia de otras células no espermáticas en la eyaculación (Rojas et al., 2023).

Rojas, et al. (2023) señalan que el volumen del eyaculado puede variar entre 2 y 12 centímetros cúbicos, con un promedio que suele situarse entre 4 y 6 centímetros cúbicos. La medición de este volumen se realiza utilizando un tubo colector graduado y su variación está influenciada por diversos factores fisiológicos, como la edad, la raza, la preparación sexual, el tamaño del testículo, la frecuencia y el método de recolección.

PH: el semen se mantiene generalmente en un rango estrecho, que va desde 7,2 hasta 8,0, y es poco común que experimente cambios, se ha planteado que un aumento en el pH por encima de 8, cuando se presenta junto con otros signos y síntomas sospechosos, podría indicar la

presencia de una infección en el semen. Por otro lado, una disminución del pH por debajo de 7,2 suele observarse en casos de disfunción de las vesículas seminales, especialmente en toros que sufren el algún síndrome como el no contener canales de eyaculación. (Mora Yepez, 2023)

Densidad: se define como la concentración de espermatozoides a la cantidad de los mismos presentes en un milímetro cúbico o centímetro cúbico. En el caso del ganado bovino, la concentración normal oscila entre 500 y 1500 millones de espermatozoides por milímetro cúbico, lo que equivale a 0,5 y 1,5 millones por milímetro cúbico (Varela, el al., 2019).

Color: El tono del semen está vinculado a la cantidad de riboflavina presente y generalmente varía desde un color blanco marfil hasta un tono amarillento. Si se observa un tono rojizo, podría indicar una posible mezcla con sangre fresca, mientras que un tono más marrón sugiere la presencia de sangre más antigua (Selles y Morales, 2021). Estos dos casos se conocen en conjunto como hemospermia, si el semen tiene un color gris, generalmente indica contaminación. Por otro lado, los eyaculados sin espermatozoides tienden a tener un tono amarillo-verdoso y una apariencia más acuosa, cuando se detecta pus en el semen, es común ver pequeños grumos, lo cual se llama piospermia (Selles y Morales, 2021).

Figura 4

Parámetros de color – densidad seminal

Muy buena (MB):	Semen cremoso, granular con 750 a 1,000 millones de espermatozoides/ml o más.
Buena (B):	Semen lechoso con 400 a 750 millones de espermatozoides/ml
Suficiente (S):	Semen semejante a leche descremada con 250 a 400 millones de espermatozoides/ml
Pobre (P):	Semen translúcido con menos de 250 millones de espermatozoides/ml

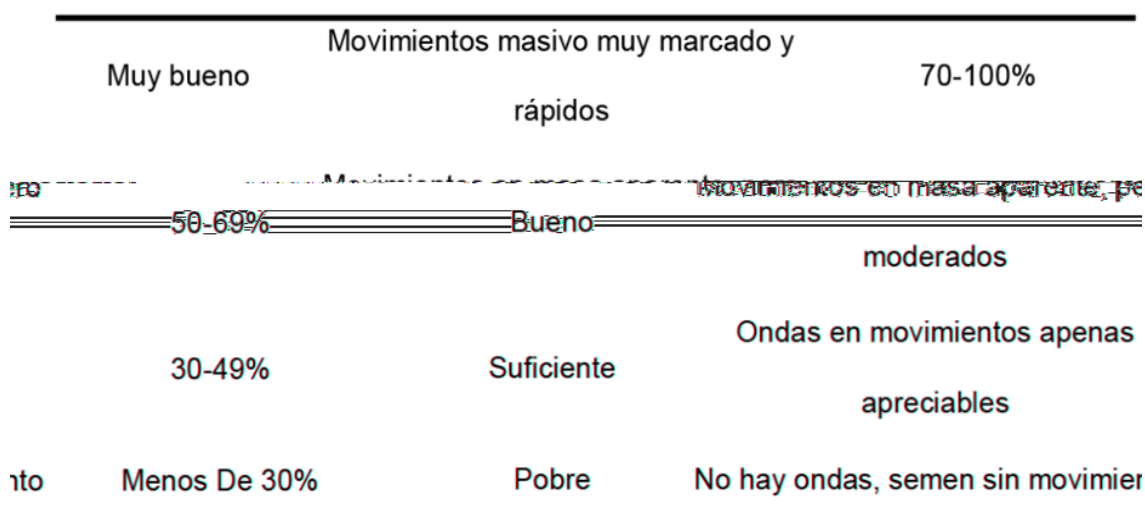
Nota. Correspondientes características tanto de color como densidad del semen de muy buena (MB) a pobre (P). (Selles y Morales, 2021).

1.5 Características microscópicas

Motilidad: La evaluación de la motilidad espermática comprende dos aspectos: uno de carácter cuantitativo, que se relación al número total para espermatozoides que exhiben una tendencia, y el otro corresponde al carácter cualitativo, que se refiere a la velocidad y dirección en la que se desplazan los espermatozoides. La motilidad masal se lleva a cabo mediante la observación del tubo de recolección para determinar si los espermatozoides presentan movimiento en bloque o en forma de remolinos. Este proceso se clasifica como positivo o negativo (Hernández, 2020).

Figura 5

Parámetros aceptables de motilidad seminal



Nota. Clasificación de muy bueno a pobre según el porcentaje de los rangos aceptables de motilidad seminal en toros. (Hernández, 2020).

Tabla 1

Motilidad masal parámetros

CÓDIGO	CLASIFICACIÓN	DESCRIPCIÓN
0	Muy pobre	Sin movimientos
+	Pobre	Algunos grupos de espermatozoides se mueven
++	Aceptable	Presencias nítidas de ondas
+++	Bueno	Intensos movimientos de ondas bien marcadas
+++	Muy bueno	Movimientos formados a letra

Nota. La motilidad masal se da su clasificación por códigos que finalmente son descriptos por parámetros seminales. (Cabrera Montes, 2021).

Vitalidad: La técnica utilizada es la Tinción Eosina-Nigrosina, la cual es una técnica vital para distinguir entre espermatozoides vivos y muertos, mediante esta técnica, los espermatozoides muertos se tiñen de color rojo o rosado debido a su membrana altamente permeable, lo que facilita la diferenciación entre el extremo de la cabeza de los espermatozoides y la cola. Detalladamente, la coloración de Eosina penetra a través de la membrana de los espermatozoides muertos, otorgándoles un tono rosa, a diferencia de los espermatozoides vivos que se mantienen incoloros. En contraste, la Nigrosina se emplea para resaltar el contorno de los espermatozoides vivos, tiñéndolos de azul oscuro (Cabrera Montes, 2021).

Tabla 2

Rangos de espermatozoides vivos

PORCENTAJE DE ESPERMATOZOIDES VIVOS	CLASIFICACIÓN EN GRADOS (1 A 5)
100 a 80% de vivos	5
80 a 60% de vivos	4
60 a 40% de vivos	3
40 a 20% de vivos	2
20 a 10% de vivos	1

Nota. El número en porcentaje de espermatozoides vivos que clasifican en parámetros de calidad seminal. (Cabrera Montes, 2021).

Morfología: El estudio de la morfología del semen consiste en analizar la forma de los espermatozoides, determinando el porcentaje de espermatozoides con morfología normal y anormal, clasificando estas anomalías como primarias o secundarias. La clasificación depende de si el defecto en la forma del espermatozoide se produce durante su formación en la

espermatogénesis en los testículos, en su desarrollo en el epidídimo o posteriormente en el laboratorio (Mallma-Marca, et al., 2021).

En el artículo de Mallma-Marca, et al. (2021) describe la múltiples categorizaciones para explicar las irregularidades en la morfología de los espermatozoides, tomando en cuenta distintos criterios.

-Ya sea que las anomalías se generen durante el proceso de formación en los testículos (llamadas anomalías mayores) o que se desarrollen para el movimiento epididimal o en una eyaculación después esto se conoce con el nombre de anomalías menores.

-ya si es positivo el encuentro se asocia con problemas de infertilidad (clasificadas como primarias) o si no influyen directamente en la fertilidad (clasificadas como secundarias)

Tabla 3

Anomalías espermáticas

ANORMALIDADES ESPERMÁTICAS PRIMARIAS	ANORMALIDADES ESPERMÁTICAS SECUNDARIAS
Subdesarrolladas	Cabezas pequeñas normales
Formas dobles	Cabezas anchas pequeñas y gigantes
Defectos acromales	Cabezas anormales libres
Cabezas angostas	Membrana acromosales sueltas, plegadas, desprendidas
Defecto de forma de pera	Implantación abaxial
Contorno anormal	Gotas distales
Cabeza pequeñas anormales	Flagelo doblado simple
Cabezas sueltas anormales	Terminación de flagelo plegado
Piezas medias anormales	
gotas proximales	

Nota. Anomalías primarias y secundarias en el semen de toro. (Cabrera Montes, 2021).

1.6 Evaluación de calidad

En la guía de manejo escrita por Gómez López, et al. (2023) Indican que los criterios de aceptación a la hora de hacerse una evaluación macroscópica y microscópica de muestra de semen bovino, para dar inicio y entender en gran medida que se necesita para que un toro entre como aceptable en la calidad seminal se revisa macroscópicamente lo que podemos detallar a simple vista para llevar una idea en la evaluación y microscópica de la calidad espermática del mismo. Una vez demos por aceptado la muestra y siguiendo los parámetros de calidad espermática podemos llevar la muestra a un proceso de dilución del material seminal para obtener o llegar al objetivo deseado para la correspondiente realización de pajillas. Ahora bien se reitera el concepto descrito por Gamarra Carlis y Moraes Beninca (2023) que es importante resaltar que todos los parámetros que se siguen para llevar calidad seminal; debe evaluarse conjuntamente, es decir tener en cuenta desde la manera en que nosotros obtenemos la muestra ya sea por vagina artificial o electroeyaculado.

Para lo anterior en el artículo Vir (2019) describe, que en bovinos el volumen del eyaculado debe oscilar entre 5 a 6 ml mediante el método de vagina artificial, ya para el método con electroeyaculador se puede obtener 15 ml, pero el autor detalla que este método tiene desventajas ya que de esos 15ml es más el volumen de otras glándulas accesorias y es muy mínimo el concentrado espermático. Se debe tener en cuenta cuando usamos el método de electroeyaculador, donde la concentración debe estar arriba de los 300 millones, 65 % de motilidad, vigor por arriba de 3, y la patología no debe superar el 30 %, esto nos puede llevar a concluir que el toro en estudio es apto para la reproducción. Para lo anterior se da importancia al concepto de Varela, et al. (2019) donde reitera que lo importante a la hora de seguir los parámetros de evolución de calidad espermática es que tan concentrado está el eyaculado más

patologías espermáticas, mientras que el volumen es una revisión de principio que nos puede llevar a dar una idea de la condición del toro.

Tabla 4

Parámetros establecidos de calidad espermática

CARACTERÍSTICAS	RANGOS ACEPTABLES
COLOR	Leche descremada -blanco cremoso
MOTILIDAD MASAL	> ++ en ondas
VITALIDAD	> 70%
MOTILIDAD INDIVIDUAL	> 60%
CÉLULAS NORMALES	>70%
ANOMALÍAS PRIMARIAS	< 20%
ANOMALÍAS SECUNDARIAS	< 25%
VOLUMEN	3 - 15 ml
CONCENTRACIÓN	0,5 - 1,5 mill/ml

Nota. Parámetros de calidad seminal establecidos por características y sus rangos de aceptabilidad. (Varela, et al., 2019).

Capítulo 2. Dilución y preservación del semen bovino

2.1 Principios de la preservación del semen

Para dar en resumen como durante los años se llegó a la preservación del semen se debe hacer una línea de tiempo donde podemos remontar con la Inseminación Artificial (I.A) Jacob para el tiempo pastoril, fue la primera persona que dio inicio a fecundar ovejas cambiando el método de la monta natural. Ya para el siglo XIV un árabe tomo en una esponja semen de un semental de gran valor económico para los árabes, de ahí introdujo esta esponja en una yegua de su propiedad dando como resultado la fecundación de la misma (HE Lombana Portes, 2021).

En el 1776 Lazzaro Spallanzani observa que el semen a temperaturas de enfriado en la nieve, se volvían inactivos pero bajo calor se podían reactivar nuevamente lo que lo llevo a evaluar como prolongar la vida del espermatozoide manejando bien las temperaturas en las que se expone el espermatozoide (Siguencia, 2023).

Ya para los comienzos del siglo XX, el ruso Ivanov observo, evaluó y llevo a practica la inseminación y con ello el resultado de mediante el método de inseminación fecundar a de 500 yeguas, al no ser suficiente en 1913, descubrió como poder mediante la temperatura conservar por mayor tiempo el semen de animales de gran valor económico, a partir de ellos inicio toda una investigación y búsqueda que le permitirá desarrollar con mayor éxito metodos específicos de inseminación y conservación del semen (Rodriguez, 2022).

Durante el año 1930 se conoció la palabra y el uso de diluyentes conocido como fosfato sódico para semen lo cual daba como resultado final la larga vida del semen durante determinados periodos y ya para el año 1952 se perfecciona los métodos anterior mencionados logrando así congelar y descongelar manteniendo vivos los espermatozoides con temperaturas ya

específicas, para lo que el semen de toro ya se podía alargar su vida y transporte y fecundación en otras áreas de material genético deseado (Rosete Fernández, et al., 2021).

2.2 Dilución espermática.

La Dilución proceso en el cual mediante diferentes sustancias favorecen el metabolismo de una célula como ejemplo el metabolismo espermático, esto con el fin de buscar preservar todas las condiciones fisiológicas de una célula que conllevan la óptima vitalidad en condiciones ambientales en un mayor tiempo. Para el caso de los espermatozoides el proceso de dilución permite ampliar el total de la muestra o en su caso el volumen permitiendo manipular la concentración deseada espermática con el benéfico de una elaboración más numerosa en cantidad seminal por eyaculado (Condori-Cruz, et al., 2020).

Los diluyentes para su óptimo funcionamiento están compuestos por sustancias iónica y no iónica con el poder de mantener la osmolaridad, lipoproteínas que ayudan a proteger los espermatozoides con el encuentro térmico, crioprotectores minimiza los efectos dañinos por congelación y descongelación protegiéndolos del estrés osmótico, alteraciones en su fluidez y choque térmico, antioxidantes que mejoran la concentración de vitalidad y movilidad espermática protegiendo el ADN espermático como es el ejemplo de la vitamina E que ayuda en estos procesos de dilución y finalmente los antibióticos que tienen el fin de controlar la multiplicación de microorganismos (Chalé Kantún, 2021).

Igualmente el autor Ramírez López (2019) señala que no solo los diluyente cumplen los anteriores requerimientos, sino también en conjugación deben dar un aporte de nutrientes al metabolismo espermático, protección en el proceso de congelación, evitar cambios de pH en la formación del el ácido láctico, balance de electrolitos, impedir daños espermáticos y con ellos es mantener los espermatozoides en vitalidad para su requerimiento.

Explica Segura Portocarrero, et al. (2023) que para el proceso de dilución los pasos a seguir es que antes de coleccionar se debe revisar que el diluyente en su preparación debe ser llevado a 32 a 34 °C de temperatura para su correcto funcionamiento y vitalidad de los espermatozoides. Para realizar la dilución principalmente podemos realizar una primera muestra de 1:1 uno de semen y una de diluyente esto para observar el comportamiento espermático y parámetros espermáticos, ya con los datos descriptos y la concentración espermática obtenida podemos a partir de ello proporcionar el diluyente con el semen ya sea 1 o 2 porciones más el diluyente, de manera que sea 1:2 o 1:3.

Posteriormente ya eche la dilución, la muestra se lleva a una temperatura de 32 a 34°C y se refrigera para a la hora observar que la temperatura descienda de 2 a 8 °C, la muestra debe mantenerse en esta temperatura hasta su posterior uso o indicaciones dependiente el diluyente como el proceso a realizarse. Para el caso de pajillas se debe seguir agregando diluyente dependiendo la concentración requerida para el numero de pajillas deseadas, que las mismas se llenan y se sellan, y finalmente seguir la curva de frío mediante un congelador de semen (Segura Portocarrero, et al., 2023).

2.3 Diluyentes

Los diluyentes en el caso de la preservación del semen son necesarios si queremos realizar procedimientos de inseminación artificial o en gran medida genéticamente criopreservación, al colocar el semen con el componente diluido nos da como resultado proveer al semen de nutrientes, energía, prevenir daños, proteger las células espermáticas por choque térmico, asegurar que actúen en contra de los cambios del pH., obteniendo así que el diluyente nos arroje una curva pausada y controlada para el frío, permitiendo la supervivencia y viabilidad del espermatozoide (López Aguirre, 2020).

Allende y Arisnabarreta (2021) definen, que los diluyentes de semen principalmente deben mantener la función vital de las células espermáticas y con ello es no perder la motilidad de los mismos por choque térmico, el autor pone énfasis en la motilidad ya con ese análisis determinamos su viabilidad en periodos. Pero sin embargo concluye que la motilidad un reflejo de acción flagelar pero no certifica que la célula sea 100 % fértil. Por lo anterior se debe evaluar que el diluyente mantenga la integridad general de la célula con material genético logrando así preservarlo para un éxito en el desarrollo del embrión

Para Gomez Proto (2020), concluye que los diluyentes principalmente se hicieron por la demanda de concentración de semen por eyaculado de un solo toro, que se realiza en una sola monta, con los diluyentes posibilita ser usado esta cantidad de semen para inseminar un número considerable de vacas. La extensión del semen tiene como objetivo en el ganadero obtenga las dosis de semen deseadas, con el número de espermatozoides de conveniencia de un semental de calidad genética con ello un preñes más acertada y sin desaprovechar espermatozoides.

2.4 Componentes básicos de los diluyentes

Agua Destilad actúa como solvente para los componentes seminales. Para el agente crioprotectores se función se despliega a nivel extracelular, el glicerol es un infiltrable que actúa de manera tóxica generando espermatozoides muertos que son fuente de aminoácido oxidasa, produciendo H₂O₂, el total de glicerol como agente crioprotector es de una concentración óptima y máxima del 7%, en medios muy diluidos, decae su motilidad, llamado efecto de dilución por perdida de componentes del espermatozoide. El semen debe ser diluido adecuadamente con el diluyente deseado. Sin embargo, ciertos agentes protectores presentes en productos naturales, como la yema de huevo o la leche, podrían disminuir o eliminar este efecto (Quispe Palomino, 2019).

-Sustancias Buffer (aquellas que se contraponen a los cambios de pH) actúa como un sustancia tampón, que sostiene un pH entre 6,9 y 7,1 se disuelven para mantener la osmolalidad y el pH del medio; se toma como ejemplo es el citrato de sodio que se usa como antioxidante y la preservación de los alimentos, también encontramos el TRIS que aporta capacidad tamponante efectiva en el pH por su bajo costo, lo hace uno de los componentes más usados en diluciones y el Glutamato monosódico que se encuentra en alimentos como tomates, hongos, verduras, y proteínas (Cayrus Tolstoy, et al., 2019).

Diferentes buffers los encontramos como una combinación de soluciones salinas a base de leche, que protegen a los espermatozoides de autointoxicación por efectos ácidos emanados de su metabolismo, la yema de huevo como la leche auxilian a la conservación de la motilidad, fertilidad y pH neutro (Lepe Anasagasti, 2019).

Para lo anterior Sara Pinilla (2020) sugiere tener en cuenta que los espermatozoides se comportan según la tonicidad (capacidad que tiene para hacer que el agua ingrese o emerja de una célula por ósmosis) de la solución y son capaces de transformar el tamaño si la tonicidad del medio es irregular, dando presencia de colas dobladas en el espermatozoide, y morir. La autora reitera que los espermatozoides toleran una variación media de tonicidad sin perder fertilidad. Los diluyentes del ahora están elaborados para preservar el semen y sus contenido es ser isotónicos y no causar daños morfológicos o funcionales en los espermatozoides.

-componente orgánico: previene el shock térmico por temperaturas bajas para este caso es usual utilizar yema de huevo que en forma extandar para diluir semen de toro es máximo el 20% del mismo, también se encuentra como extensor la leche; en el tema de productos de origen animal una de las grandes desventajas son las medidas sanitarias que para el caso de la yema de huevo de impide su uso como alternativa de diluyente a la hora de ser distribuido en otros países,

ya que para esos países se ha puesto como alternativa el uso de lectina de soja como extensor natural (Barrera Barrera, 2020). Lo anterior se expone en diferentes artículos donde mencionan que la yema de huevo produce contaminación microbiana en las muestras independientemente de los beneficios que conlleva la misma en la vitalidad espermática (Pérez Sánchez, 2019).

Filipiak Neumark (2021) considera la yema de huevo expone microorganismo bacterianos como los mesófilos y coliformes que contienen una sustancia que provoca la inactividad respiratoria de los espermatozoides, y con ello disminuyendo su motilidad al punto de morir. El mismo autor expuso los beneficios de la yema de huevo gracias a que contiene proteínas que preservan durante la congelación-descongelación el espermatozoide.

Se han ejecutado trabajos, donde purifican la yema de huevo por ultracentrifugación lo que se obtiene se denomina "Low-Density Lipoprotein" (LDL), a partir de ello se reportó un vitalidad y motilidad del semen, por lo que bajo este sistema se puede conservar semen sin antibióticos. En cuanto a los niveles de concentración recomendable, se obtiene los mejores resultados de motilidad incluyendo el LDL al 8% (Chirillano, 2019).

La leche ya se entera o descremada, actúa es como caseína responsable para la protección hacia el shock por congelación. Se recomienda que a la hora de hacer diluyente alternativo de leche se debe calentar por encima del punto de pasteurización 92-95 °C por 10 minutos y se repite una sola vez el proceso dejándolo enfriar, esto para eliminar la lactenina que es espermicida, igualmente el mismo proceso para la leche en polvo (Parada, 2019).

-Azúcares: para generar energía en espermatozoide se requiere glucosa y fructosa para sus procesos vitales. El requerimiento de energía para los espermatozoides principalmente se da para mantener la motilidad, y el sostenimiento celular, para lo anterior se describe que los

espermatozoides tienen la posibilidad de manejar el metabolismo aeróbico de movimiento repetido como anaeróbico movimientos laudados para vitalizar su fuerza (Quinteros, 2024).

La adición de fructosa o glucosa protege el almacenamientos intracelular del semen el autor explica que en ausencia de un sustrato de energía los espermatozoides empezaran a oxidar siendo nocivo y llevándolos a la muerte y pone como ejemplo los productos animales como vegetales que contienen glucosa y otros elementos que se deben utilizar para diluir semen bovino Fuente y Alonso, 2019).

-Aditivos su mismo nombre lo describe es un adicional al diluyente que a su vez se puede usar como también no utilizar adictivos, diferentes autores mencionan la importancia de la B-amilasa ya que aumenta la fecundidad del esperma en condiciones de congelación y descongelación, en la actualidad se está estudiando adictivos alternativos como lo son las vitaminas (R Allende y E. Arisnabarreta 2021).

-Antibióticos: en las normas para sanidad animal se exigen que el semen importado deba ir inducido con antibióticos. Se expone la Normativa Europea (84/407) modificada en 2021 por el reglamento Europea 2016/429 que básicamente son las exigencias sanitarias de la importación de semen bovino que deben tener en cuenta en los intercambios en Europa; en las dos habla de la exigencia de tratar con antibiótico el semen de bovinos, a partir de lo anterior entra en debate la yema de huevo, como otros métodos alternativos de dilución y vitalidad espermática, pero que a su vez es dañino llegando a infectar tanto los espermias como a la vaca en proceso (Directiva 88/407/CEE 2021)

En diferentes estudios indican que los antibióticos en los diluyentes es un benéfico para control bacteriológico, como también el agregado de estos en el semen de toros con una baja

fertilidad se veían mejoras en su tasa de concepción para un 10-15%, ya que se reducía los niveles bacterianos y se podían ver mayor vitalidad de los espermatozoides (Moreta Mangui, 2023).

-Antioxidantes: Se mejora la movilidad y la integridad del acrosoma del espermatozoide mediante la adición de antioxidantes solubles, ya que el daño oxidativo durante su almacenamiento es una causa de la disminución en la movilidad y la fertilidad. Esto se realiza con el fin de proteger la movilidad del espermatozoide. Donde podemos encontrar antioxidantes naturales como son las vitaminas de frutas y productos animales con la leche, entre moléculas antioxidantes como melatonina encontrada en grandes cantidades en las cerezas, estimulando enzimas de antioxidantes. La mezcla de la vitamina E, con la vitamina C, muestra un efecto protector, mejorando así los parámetros de calidad en el semen (Barragán, et al., 2022).

2.5 Tipo de diluyentes comerciales

Se estima que a nivel mundial hay innumerables medios para la preservación de los espermatozoides, el avance más significativo para los diluyentes de semen se da en 1939 con el hallazgo de la yema de huevo, y para 1949 con el glicerol se descubrió la congelación de semen. Mediante estas fórmulas y ensayos elaboradas se da paso a una gran variedad de extensores efectivos, cada laboratorio saca al mercado diluyentes con condiciones específicas, eficiencia reproductiva, fácil manejo y confiabilidad del producto, para ello el precio del diluyente va por la condición que este maneja mediante su preparación y materiales, en consideración la yema de huevo y el TRIS son extensores que a la final nos dan resultados positivos en calidad seminal, altos índices de concepción y últimamente fácil obtención a estos productos y economía en el campo (Moreno, y Lucero 2019).

2.5.1 Sin adición de yema de huevo

AndroMed®: compuesto por Tris, fosfolípidos en protección de la membrana, ácido cítrico, antioxidante en su caso glicerina, antibióticos según lo requerido por la norma 88/407 y azúcar, libre de yema de huevo por lo que es nula la proliferación de microorganismos mientras se maneje con protocolos de sanidad, contiene 200ml para una extensión de 1.000ml, trae como objetivo bioseguridad bacteriana, la congelación es óptima con altos índices a la hora de la fertilidad en cada una de sus diluciones y se le suma una mayor claridad a la hora de realizar pruebas de laboratorio con un tiempo mínimo y sin esfuerzo de preparación (Pérez Sánchez, 2019).

BoviFree: diluyente de alta innovación sin de yema de huevo contiene como característica principal antioxidantes junto con los preservadores de la membrana espermática, así como también un tampón que suministra la protección de los espermatozoides durante el enfriamiento y el deshielo, lleva también parámetros mejorados para el post-descongelación del semen, debido a que su consistencia es homogénea y con baja viscosidad se obtiene imágenes más nítidas. Compuesto por 200 ml, para disponer 1000 ml de preparación diluida (Riwu, et al., 2023).

-Bioxcell®: diluyente comercial que no contiene en sus componentes yema de huevo o en sus caso leche, libre de proteínas de origen animal por ende trae la ventaja de disminuir la colonización de microorganismos, él es objetivo el favorecer la motilidad del semen antes y después del enfriamiento las unidades son de 100ml para obtener 500 ml de la dilución, es entonces que se sugiere que para la botella de 100 ml se extiende en 400 ml de agua para así llegar a obtener 500 ml de diluyente (Bernilla Carrillo, 2024).

2.5.2 *Un solo paso sin adición*

Triladyl®: diluyente con adicción de yema de huevo con una concentración de 250g permiten la preparación de 1250 ml de diluyente. Su composición es Tris, tampones, ácido cítrico, glicerina, antibióticos y finalmente azúcares, para preparar se le adiciona agua destilada con patrones de dilución de 1:8, es uno de los extensores que ha permanecido décadas, por su éxito óptimo que ayuda en casos de baja concentración con alta fertilidad (Quispe Palomino, 2019).

2.5.3 *Dos pasos adición de yema de huevo o antibióticos*

BILADYL®: compuesto por TRIS, ácido cítrico, glucosa, opción de adicionar máximo del 20% yema de huevo, un 7% en glicerol, finalmente lleva agua y antibióticos. Tiene como objetivo una concentración de espermatozoides más alta, protector del choque térmico contra de la membrana del semen, presentando igualmente alta duración espermática. Se registra en dos presentaciones de 49g para diluir 500g y 250 para preparar 750 g en dilución (Corrales Mafla, y Bedoya Arcila, 2020).

2.5.4 *Preparación con yema de huevo*

Steridyl Steridyl: es una combinación con el diluyente Triladyl® con la adición de yema de huevo ya esterilizada, más un tampón, TRIS, ácido cítrico, azúcar, agua filtrada y glicerina, con el objetivo de brindar congelación más constante y se recomienda ser utilizado por su éxito cuando se presenta una baja concentración, y eyaculados bovinos de densidades muy bajas, la presentación del contenido viene de 500 ml, para disponer 1250 ml del extensor (Gomez Vargas, 2019).

2.5.5 Tris

Uno de los componentes más usados en la actualidad, tanto en la realización de otros diluyentes como manejo individual como extensor tiene una alta capacidad de protección buffer y duración osmótica, y se destaca por nivel bajo de toxicidad en concentraciones muy elevadas. Es muy afín y tiene mayor éxito cuando se combina con la yema de huevo (Gomez Vargas, 2019).

Capítulo 3. Diluyentes alternativos

Actualmente en los mercados existen una variedad amplia de extensores cada uno con características específicas dependiendo sus cantidades y componentes, con ello también cada diluyente es específico según la especie de animal con que trabajemos. Los diluyentes se componen de proteínas animal como fuentes de energía, como también los podemos encontrar sintéticos o como es el caso naturales hechos de productos vegetales (López Aguirre, 2020).

3.1 Leche entera

Los extensores a base de leche, se originan a partir que los mismos proporcionan en el semen un medio isotónico, mantiene en el espermatozoide la viabilidad y dio inicio como diluyentes más presente en semen bovino. La leche al ser un líquido orgánico de origen animal, es decir proteína animal, descrita por varias investigaciones que contiene innumerables propiedades biológicas, lo que la lleva a que las utilice para la adecuada conservación de semen, su unión crea una capacidad amortiguadora, una viscosidad proporcionada, al ser la leche abundante en carbohidratos brinda a los espermatozoides suficiente energía, junto a esto la lactosa concede el papel de componente crioprotector brindando al espermatozoide que no sufra por los choques de temperatura por congelación y deshielo, se recomienda un uso de 7ml (Robin, 2020).

Barrera Barrera (2020) confirma lo anterior descrito ya que reitera que la leche contiene micelas provenientes de las caseínas y la lactosa, que para los espermatozoides es de gran importancia ya que en conjunto reducen los daños por frío y manipulación a temperatura ambiente, ayudando a que el espermatozoide no muera por la pérdida de colesterol y fosfolípidos.

3.2 Yema de huevo

Es uno de los extensores más trabajados en la actualidad para funciones de refrigeración y congelación del semen de numerosas especies, la yema de huevo se caracteriza principalmente por dos factores dinámicos, el proteger frente a el daño por enfriamiento y mantiene la viabilidad, la cantidad sugerida es de 2ml (Ramírez López, 2019).

La aditamento de la yema de huevo como diluyente mejora los porcentaje de motilidad, con la particularidad luego de generarse un alígero por enfriamiento del semen llegado a temperaturas de 10 y 5 °C, se le reitera esta acción a las lipoproteínas de baja densidad que intervienen como componente crioprotectores contribuyendo con dos factores ya mencionados en el shock de frio generando resistencia, y el mantenimiento después del shock llevando a una alta viabilidad, motilidad, la integridad tanto acrosomica y mitocondrial de la membrana espermática, junto a ello se reitera el origen del componente de buffer osmotico generando así un importante factor de conservación (Barrera Barrera, 2020).

3.3 Leche descremada

En la leche descremada es más notoria la lactosa y micelas de las caseínas y la lactosa. Encargadas reducir los deterioros por refrigeración y frigidez, esto gracias que ya que se retiene las proteínas del plasma seminal que tras la eyaculación ya que por lo anterior se pierde considerablemente fosfolipidos de las membranas plasmáticas y su cantidad sugerida es de 5ml (Pérez, et al., 2021).

El diluyente alternativo de leche descremada se considera natural y su composición en azucares, minerales, grasa, proteínas y aminoácidos generan vitalidad, viabilidad de fecundación, motilidad reiterada, aportes energéticos, la caseína produce un aumento en la función cinética del

semen, ofrece en los espermatozoides el efecto de amortiguador de pH y genera una persistencia de membrana gracias a los lípidos y la viscosidad de la leche descremada, en algunos estudios se le atribuye efectos antisépticos, sin embargo, las demandas de contagio de semen por microorganismos pone a leche descremada y los extensores de origen animal en una situación de contaminantes por lo que se sugiere adicionar antibióticos. Finalmente el autor señala que a fertilidad del semen extendido y solidificado a partir de la leche descremada arroja altas tasas de preñez de un 90% siempre y cuando manejando protocolos de sanidad (Pérez, et al., 2021).

3.4 Extracto de granos de polen de dátiles

Se menciona como extensor alternativo en diluyente bovino gracias a su fácil obtención y por las diferentes investigaciones que exponen sus beneficios en el semen, principalmente a tendió su impacto reproductivo en la especie de conejos ya que el extracto acuoso de dátiles en este semen genera actividad antioxidante segura, gracias a los compuestos fenólicos en los dátiles, con una concentración sugerida de 0.15g (Reda, 2016).

Bragado, (2021) refiere que en el hombre este extracto aumenta y facilita el cálculo de espermatozoides, morfología, motilidad, eficacia en el ADN y contribuye o hace efecto en el peso del testículo y epidídimo con ello se disparan los niveles de testosterona y lo anterior mencionado se le retribuye a que las partículas de polen de la palmera datilera son ricos en flavonoides que se les asocia con disminuir el riesgo de mortalidad espermática.

3.5 Agua de coco

El agua de coco referido como endospermo líquido, se encuentra en el interior de la fruta, en una mínima cantidad, logrando un volumen máximo dependiendo de la especie de 300 a 600 ml como alternativa de dilución espermática se le atribuye en su condición biológica donde la

conservación seminal respecto a la vitalidad en estudios realizados arroja buenos resultados, y junto a esto el costo beneficio en comparación a diluyentes comerciales es económicamente más rentable y fácil de conseguir, nos recomiendan usarla en cantidades de 3.7ml (Parada Guerrero, y Ariza Fernández, 2019).

Los componentes que atribuyen el l agua de coco corresponde a un 25% de la fruta, y su 95.5 % corresponde a agua, 4% contenidos en carbohidratos, 0,1% grasa, 0,02% del total en calcio, el fosforo entra en rango no inferiores a 0,01%, e igualmente el 0,5 % sin superar en de hierro, contenido también por aminoácidos, vitamina C, B y minerales que si se asocia a los requerimientos de extensores cumple con mantener vitales a los espermatozoides gracias a su composición (Barrera Barrera, 2020).

3.6 Sabila

También llamada Aloe vera por propiedades como ser surfactante es decir genera tensión entre sustancias al contacto, en estudios ya se ha incluido esta propiedad surfactantes en extensores comerciales para la criopreservación del semen; como resultado se presentó la disminución de mortalidad espermática pero el autor pide más investigaciones sobre la propiedades de la sábila ya que no está muy no es claro su modo de acción o trabajo en los espermatozoides, pero reitera que los surfactantes pueden aumentar esa permeabilidad cuando se pone en contacto con las propiedades espermáticas tornando porosa la membrana y con ello se evidencia que evita ser destruida (Samara Jeronimo, 2021).

3.7 Tomate (Geto)

El tomate dentro de los extensores alternativos esta como un componente antioxidante para alargar la vida del espermatozoide al someterse a procesos refrigeración ya que tiene la capacidad de salvar la movilidad del esperma por componente no radicales del tomate y criopreservación y nos recomiendan utilizarla en un 2ml . El autor Dewi Safitri (2024) con base a lo anterior descrito en su investigación sugieren que el diluyente del jugo de tomate de debe preparar un día y poner en refrigeración y no dejar de pasar más 20 horas al día siguiente para su uso. Se sugiere incorporar yema de huevo al 20% y glicerol al 10% al extracto de jugo de tomate al 20%. Según esto, el autor tomó esta recomendación y llegó a la conclusión en su investigación de que la adición de un 20% de jugo de tomate con un diluyente que contiene yema de huevo tuvo un impacto significativo en la motilidad y viabilidad de los espermatozoides bovinos.

3.8 Té verde (*Camelia Sinensis*)

Como diluyente hace efecto en los espermatozoides de manera que puede reducir el nivel de estrés oxidativo, gracias a su alta actividad de antioxidante el complemento del té verde al semen demostró que en el proceso de congelación redujo el ROS (movilidad del esperma) este antioxidante pone nulo el efecto de peroxidación para inhabilitar el daño causado a la membrana y conservar la viabilidad de los congelados semen, con una recomendación de 3% (Giyanita Rahma y Nur Ducha 2023).

3.9 Piña – Pepino

Para el autor Daramola, y Adekunle, (2015), puso en estudio el efecto del juego de piña y pepino como alternativa de diluyente contra la extensión de yema de huevo con Tris, cada uno a 2,5, 5, 7,5 y 10 ml/100 ml respectivamente, y concluye que los resultados mostraron una motilidad apropiada integridad acrosómica superando las 48 horas del semen en proceso, los diluyentes suplementados con jugos de piña y pepino tuvieron una integridad acrosómica consistentemente mayor hasta 48 horas después del enfriamiento en comparación con el control. Se obtuvo una mayor integridad los mejores resultados de mejoramiento de membrana, nula en anomalías y viabilidad fue con las cantidades de 2,5% de piña, 2,5% y 5% de pepino enfriados y almacenado a 5°C. Esto superando el control de yema de huevo con tris, correspondiendo en que el estudio se hizo por igualdad de medidas, a lo que corresponde que sus componentes vitamínicos como de antioxidantes son vitales para el funcionamiento del espermatozoide.

3.10 Manzana – Naranja

Los antioxidantes presentes en la mayoría de las frutas son uno de los elementos que los espermatozoides toleran mejor. Estos antioxidantes tienen la función de proteger las células del daño causado por los radicales libres, lo que proporciona viabilidad y motilidad a los espermatozoides, incluso cuando están sometidos a procesos de congelación en el concepto anterior descrito por Odeyemi, et al. (2020) el mismo hace un estudio donde trabajo con dos alternativas de diluyentes manzana y naranja con el objetivo de que ayuden en la peroxidación lipídica (LPO), junto con la viabilidad del semen de cabro de raza rojas del Kalahari (KRG).

El control del estudio fue el no incluir las nuevas alternativas, y de 0.0 se hizo una extensión de leche como base más tris y el suplemento antioxidante de manzana y naranja en

porciones iguales cada uno de 2,5%, 5,0%, 7,5% y 10,0%. Evaluado en un periodo de en 24 horas hasta 216hr con el fin de analizar la motilidad, integridad del acrosoma y la membrana, y por ultimo anomalías de los espermatozoides durante este periodo (Odeyemi, el al., 2020).

El autor Odeyemi, el al. (2020) en sus resultados destaca la motilidad progresiva que fue alta y el no daño agronómico con un nivel de inclusión del 2,5% de diluyente alternativo con jugo de manzana (93,00%) en las 24hr. Donde la naranja en porcentajes de 2,5% y 5,0% sus resultados fueron más favorables con respecto a la integridad acrosómica en las horas de 24 y 216hr después del enfriamiento, por lo que se puede concluir en este estudio que la alternativa del extracto de manzana y naranja como componente antioxidantes utilizados tuvo un resultado preventivo sobre la viabilidad de los espermatozoides.

Estudios realizados y consideraciones relevantes

El propósito de esta investigación hecha por El-Sheshtawy (2016), fue explorar una perspectiva innovadora para emplear extracto o infusión acuosa de granos de polen de palmera datilera (DPPG) en la preservación del semen de búfalos, tanto refrigerado como congelado. El semen de búfalo tuvo como control un diluyente combinado con yema de huevo Tris-citrato-fructosa (TCFY) contra las diferentes concentraciones de granos de polen remojados en Tris de 50, 100, 150, 200. y 250 mg de DPPG/5 ml. Ahora bien teniendo en cuenta lo anterior se puede determinar que la extensión control mantuvo y conservo adecuadamente en todas las concentraciones destacándose por su motilidad, en los resultados de alternativa de polen se obtuvo resultados de conservación y respuesta positiva ante el frío en concentraciones de 50 y 150 mientras que en concentraciones de 250 demostró que después de la descongelación la motilidad estaba alta y como principal los espermatozoides expresaban fertilidad a comparación del Tris que conlleva variedad de componentes.

El autor Bintara, et al. (2022) pone como contexto los problemas a la hora de cruzar ganado local (hembras) con ganado azul belga puro (reproductor) ya que este cruzamiento en ocasiones trae como desventaja grandes tamaños en las crías y por ende la dificultad al nacer. Explica que actualmente se usan ganado local pero se cruzan con azul belga mixto, para dar desarrollo a este proyecto se está estudiando como primordial la calidad del semen de los azul belga mixtos, donde el autor tomó como ventaja analizar una alternativa de diluyente con extracto de tomate (*Solanum lycopersicum*) almacenado a 5 °C.

El autor utilizó como grupo de control un diluyente a base de yema de huevo, mientras que en los otros grupos diluyó con yema de huevo más un 4%, 6% y 8% de extracto de tomate. Los resultados indicaron que el mejor porcentaje de adición de jugo de tomate fue del 8%, ya que

la motilidad alcanzó el 46.8% y la viabilidad el 74.3%. Estos valores se encuentran dentro de los estándares aceptados de calidad espermática, lo que sugiere la necesidad de llevar a cabo investigaciones más extensas sobre el uso del extracto de tomate como alternativa o componente de diluyentes, dado que mejora tanto la motilidad como la viabilidad de los espermatozoides en conjugación con otros componentes dando como resultado un diluyente que proporcione vitalidad a largo plazo (Bintara et al., 2022).

Para este estudio en autor Giyanita Rahma y Nur Ducha (2023) tomo como referencia el daño que causa el choque de temperaturas en los espermatozoides y más al pasar a temperaturas bajas, el autor explica que este comportamiento dispone a problemas de membrana lipídica en los espermatozoides. Para lo anterior el autor realizó un estudio como alternativa de un componente antioxidante para diluyente con el extracto de té verde (*Camelia sinensis*) en cantidades de 1%, 2%, 3% y 4% contra el control de diluyente Tris con yema de huevo, esto como objetivo principal de la calidad espermática de la raza de toros Ongole Peranakan (PO). Se concluyó que se obtuvo mejores efectos en relación a los parámetros de calidad espermática como lo son la integridad de la membrana bajo condiciones de congelado y bajo condiciones de descongelado se observó viabilidad, vitalidad y motilidad con la adicción del 3% del extracto de té verde

Este estudio realizado por el autor Hassanu, et al. (2022) como alternativa de diluyentes el extracto de jugo de piña (*Ananas comosus*) con el objetivo de observar motilidad progresiva en referencia a la morfología espermática y a la vitalidad para la membrana plasmática en el semen toros de la raza Holstein bajo condiciones de refrigeración. Las muestras de semen obtenidas de toros Holstein, se compara la yema de huevo con el jugo de piña para los dos casos de sustitución sin yema de huevo y adicción de jugo de piña con yema de huevo en porcentajes

de sustitución total con jugo de piña se dio en 1ml, 0.75ml, 0.50ml.0.25ml 0,25 ml, contra la adición del jugo de piña con conjunto de la yema de huevo en cantidades de 0.75ml, 0.50ml.0.25ml 0,25 ml, En los resultados se determina que al sustituir la yema de huevo por el jugo de piña el 100% presenta una caída significativa en motilidad e integridad, por lo tanto al adicionar y especialmente en el 25% de jugo de piña es positivo y con valores altos para la motilidad progresiva y la membrana plasmática optima, es evidente y reitera el autor como recomendación que es mejor en diluyentes alternativos el adicionar que el sustituir definitivamente pero tener en cuenta que este efecto del 25% no es totalmente producido por la yema de huevo ya que en análisis control de con solo yema de huevo el resultado está por debajo del mismo, por lo que infiere que la conjugación mejora la motilidad de los espermatozoides.

Lo anterior lo podemos dar como valido ya que el autor Hassanu, et al. (2022) describe que a piña es rica en antioxidantes que favorecen la salud del espermatozoide también gracias a que la piña está compuesta por fenólicos que en conjunto generan fuentes de energía como lo son la glucosa y fructosa estos componentes pueden ser eficaces para mantener la vitalidad del espermatozoide durante varios días.

Conclusiones

Es importante destacar dentro del amplio concepto de diluyente en el área de producción animal; que su manejo de manipulación de la concentración nos permiten ajustar las condiciones de una sustancia ya sea de recursos naturales o componente químico para cumplir con requisitos deseados, esto es esencial en la investigación, la producción animal y la formulación de nuevas estrategias que nos brindan economía, garantizando la eficacia y la genética de nuestros hatos.

Podemos determinar que existe una amplia alternativa de diluyentes en base a productos como las frutas ya que las mismas están compuestas por una amplia variedad de nutrientes que en su mayoría son esenciales en la parte de la conservación espermática, esto lo podemos determinar por cómo están compuestos actualmente los extensores comerciales, un punto específico a concluir es que estos extensores vegetales nos ayudan principalmente en vitalidad y motilidad espermática, como también el componente de antioxidante que se encuentra en variedad de frutas como verduras que nos ayuda a proteger la membrana plasmática.

Los diluyentes redimen en una amplia gama de aplicaciones en las industriales científicas, permitiendo el ajuste de concentraciones, mejorando la estabilidad y solubilidad, reduciendo la toxicidad, facilitando la manipulación y el procesamiento, y controlando costos. Su selección y uso adecuados son fundamentales para garantizar un medio propicio para la supervivencia de los espermatozoides y, por último, su capacidad de fecundación.

Recomendaciones

Es fundamental recordar que los diluyentes a base de proteínas animales se estigmatizaron por el hecho de que los mismos generan diferentes microorganismos que dañan las muestras, por lo anterior es muy poco los trabajos realizados en base a nuevas alternativas con materia prima animal, igualmente se sigue observando en los diluyentes comerciales algunos contienen yema de huevo, esto nos lleva a que mediante un buen manejo y mayor estudio científico en relación a los antibióticos podemos utilizar estos recueros naturales.

También se debe analizar a mayor profundidad las actuales investigaciones de extensores vegetales ya que para estas y en su mayoría nos sugieren no remplazar totalmente el diluyente por diluyente vegetal, sino al contrario que este sea como un aditivo o componente del extensor, por lo anterior sería de mayor utilidad investigar cómo llegar a que estos productos cumplan una función más amplia sin necesidad de utilizar otros componentes, ya que sería de gran ayuda a la hora de trabajar en campo.

Finalmente es necesario generar más información sobre estas nuevas estrategias, como son los diluyentes ya que este es un tema de interés amplio, se debe implementar charlas al pequeño productor que tenga conocimiento de que están compuestos estos productos y brindarles posibles estrategias rápidas para la conservación espermática en campo brindándoles economía, ya que los diluyentes comerciales son de difícil comercialización en zonas rurales y con precios elevados.

Referencias

- Araya-Zúñiga, I., Sevilla, F., Barquero, V., & Valverde, A. (2023). Efecto del diluyente, la edad y el estado sexual bovino sobre la cinemática del semen. *Agronomía Mesoamericana*, 34(3). https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1659-13212023000300012
- Allende, R., & Arisnabarreta, E. (2021). Fisiología espermática, producción de semen y evaluación de la calidad seminal. http://cmvsf2.org/web/wp-content/uploads/2021/03/Fisiolog%C3%ADa-esperm%C3%A1tica_Allende-y-Arisnabarreta_2020_compressed.pdf
- Bintara, S., Panjono, P., & Aji, R. N. (2022). Motility and Viability of Spermatozoa of Belgian Blue Crossbreeds with the Addition of Tomato (*Solanum lycopersicum*) Extract in Egg Yolk Citrate Diluent. *Advances In Biological Sciences Research*. <https://doi.org/10.2991/absr.k.220207.050>
- Bragado, J. (2021). Los dátiles, un buen alimento para aumentar la fertilidad. *Men's Health*. <https://www.menshealth.com/es/nutricion-dietetica/a36045425/datiles-alimento-fertilidad-esperma-testosterona/>
- Bernilla Carrillo, D. (2024). Evaluación espermática, según tres diluyentes comerciales, en toros de la raza Gyr en la EEA El Porvenir, Tarapoto, Región San Martín. <http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/12495>

Barrera Barrera, C. M. (2020). Evaluación de dos diluyentes para la crioconservación de semen bovino: leche entera y agua de coco (Bachelor's thesis).

<https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/19740>

Barragán, I., Usbeck, A. S., Ortiz, L. A. C., Villafuerte, A., & Naranjo, J. M. M. (2022).

Evaluación del efecto crioprotector de diferentes fuentes de antioxidantes en el semen bovino. Polo del Conocimiento: Revista científico-profesional, 7(7), 1420-1437.

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9042933>

Cayrus Tolstoy, P. W., Rodríguez Ribas, J. M., & Machiavello Tenca, R. (2019). Impacto de variaciones en los protocolos de congelamiento sobre la calidad del semen ovino.

<https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/handle/20.500.12008/25311>

Corrales Mafla, E., & Bedoya Arcila, H. (2020). Descripción de técnicas de criopreservación de semen canino. <https://repositorio.utp.edu.co/handle/11059/12695>

Castro Carrasco, W. C. (2022). Valoración espermática de semen bovino criopreservado con tres curvas de temperatura en la hacienda La Victoria del cantón Bucay.

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/17124>

Cabrera Montes, P. L. (2021). Integridad de la membrana citoplasmática en semen refrigerado y congelado de toros usando dos dilutores sintéticos.

<https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/5365>

Crespo, C. (2020). Evaluación de semen bovino utilizando medios comerciales de

criopreservación, provincia de Morona Santiago, Ecuador. <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>

- Condori-Cruz, A. L., Loza-Murguía, M. G., & Paxipati-Parra, R. C. (2020). Efecto de dos dilutores comerciales en la viabilidad espermática de llama (*Lama glama* L.) colectado mediante aspiración vaginal en dos edades. *Journal of the Selva Andina Animal Science*, 7(1), 30-39. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2311-25812020000100004&script=sci_arttext
- Chalé Kantún, C. C. (2021). EFECTO DEL ANTIOXIDANTE FUCOXANTINA SOBRE LA CONGELACIÓN DE SEMEN DE OVINO. <http://51.143.95.221/handle/TecNM/4443>
- Chirillano, L. A. (2019). Generación y caracterización de complejos HDL discoidales con fosfolípidos insaturados (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata). <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/90685>
- Daramola, JO y Adekunle, EO (2015). Efectos conservantes de los jugos de piña y pepino sobre la viabilidad de los espermatozoides refrigerados de los machos enanos de África occidental. *Sciencedirect*. Recuperado 24 de enero de 2024 <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20153275825>
- Dewi Safitri S., Puji H., Suci A., Rosa Z., Muzizat A., Dewi P., Dwi Novrina N., Hendro S., & Annisa Putri C. (2024). Effect of Supplementation Tomatoes Juice in Fresh Semen Egg Yolk Citrate Diluent on the Quality of Spermatozoa and the Success of Artificial Insemination in Thin Tailed Sheep. *Researchgate*. https://www.researchgate.net/publication/378064500_Effect_of_Supplementation_Tomatoes_Juice_in_Fresh_Semen_Egg_Yolk_Citrate_Diluent_on_the_Quality_of_Spermatozoa_and_the_Success_of_Artificial_Insemination_in_Thin_Tailed_Sheep

- Directiva 88/407/CEE (2021). Intercambios dentro de la Unión Europea e importaciones de esperma de bovino. SÍNTESIS DEL DOCUMENTO. <https://eur-lex.europa.eu/ES/legal-content/summary/intra-eu-trade-in-and-imports-of-bovine-semen.html>
- El-Sheshtawy, R. I., El-Nattat, W. S., Shalaby, S. I., Shahba, M. I., & Al-Se'dawy, I. E. (2016). Chilled and post-thawed semen characteristics of buffalo semen diluted in tris extender enriched with date palm pollen grains (TPG). Asian Pacific Journal Of Reproduction, 5(3), 252-255. Sciencedirect. Recuperado 24 de enero de 2024 <https://doi.org/10.1016/j.apjr.2016.04.001>
- Figueroa, L. M. (2019). Efecto de la recongelación y la adición de plasma seminal en semen bovino descongelado (Doctoral dissertation, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2019). <https://bdigital.zamorano.edu/items/6f458420-092a-461e-b6b4-c776b83db66b>
- Fuente, B., & Alonso, D. (2019). Procesamiento de semen bovino. <http://www.repositorio.uaaan.mx:8080/handle/123456789/45631>
- Filipiak Neumark, Y. (2021). Calidad y capacidad fertilizante in vitro de semen de toros criollo uruguayo criopreservado en dos diluyentes comerciales y análisis de variabilidad genética. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/handle/20.500.12008/28703>
- Fedegán (s.f). (2019) Ganadería Colombiana Sostenible. <https://www.fedegan.org.co/programas/ganaderia-sostenible>
- Giyanita Rahma A. P., & Nur Ducha. (2023). Effect of Green Tea Extract on Spermatozoa Quality of Peranakan Ongole Bull On Frozen Storag. Departement Of Biology, Faculty Mathematics And Natural Sciences, State University Of Surabaya, Ketintang Road,

Ketintang, Gayungan, Surabaya 60231, East Java, Indonesia.

<https://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/biosaintifika/article/download/44573/14698>

Giraldo, J. J. G. (2019). Una mirada al uso de la inseminación artificial en bovinos. Revista Lasallista de investigación, 16(1), 244-252.

<https://www.redalyc.org/journal/695/69563162016/69563162016.pdf>

Gomez Vargas, J. C. (2019). Evaluación de espermatozoides criopreservados de ovinos de pelo en condiciones de trópico de Guerrero en el laprosem-UAGro (Master's thesis, Universidad Autónoma de Guerrero (México)). <http://ri.uagro.mx/handle/uagro/1384>

Gamarra Carlis, J., & Moraes Beninca, M. (2023). Administración de carbetocina antes de la colección de semen en toros: efectos sobre la calidad del semen fresco y la crioresistencia espermática. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/handle/20.500.12008/42131>

Gómez López, D. L., Cortés Escobar, M. D. L. Á., & Martínez Rocha, J. F. (2023). Guía del manejo del semen bovino durante su colecta y envío para procesos de criopreservación de pajillas seminales.

<https://editorial.agrosavia.co/index.php/publicaciones/catalog/book/336>

Gomez Proto, G. (2020). Efecto del estrés por calor sobre la calidad espermática de toros de la raza Holstein. Respuesta fenotípica y desviación individual.

<https://riunet.upv.es/handle/10251/150874>

Hernández, M. M. (2020). EVALUACIÓN DE LA MOTILIDAD DEL SEMEN-FRESCO UTILIZANDO DOS DILUYENTES COMERCIALES EN DIFERENTES HORAS DE EXTRACCIÓN (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Córdoba).

<https://iracbiogen.com/wp-content/uploads/2021/06/Evaluacion-de-la-motilidad-del->

[semen-fresco-utilizando-dos-diluyentes-comerciales-en-diferentes-horas-de-extraccion-Maroto.pdf](#)

HE Lombana Portes. (2021). FUNDAMENTOS Y MÉTODOS PARA LA DILUCIÓN Y CONGELACIÓN DE SEMEN EN BOVINOS. Universidad Cooperativa de Colombia Sede Villavicencio - Meta, Colombia. <https://repository.ucc.edu.co/bitstreams/440e3e16-6ba8-42d8-9915-efdc8391ec93/download>

Hassanu, M., Bahebeck, PN, Adzemye, NG, Ndukong, EN, Nyuysemo, IL y Dinga, HF (2022). El efecto conservante del jugo de piña sobre el semen de toro refrigerado. Revista de Infertilidad y Biología Reproductiva , 10 (4).
<https://dormaj.org/index.php/JIRB/article/view/632>

Londoño Correa, M. A. (2022). Frecuencia de alteraciones morfológicas espermáticas en toros Brahman entre 20 y 32 meses de edad en condiciones de pastoreo.
<http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/handle/10567/3339>

López Aguirre, R. (2020). Tasa de gestación en novillas Bos taurus x Bos indicus con embriones in vivo e in vitro, transferidos en fresco y desvitrificados.
<https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/1944/50887/LopezAguirreRicardo.pdf?sequence=1>

Lepe Anasagasti, I. E. (2019). Comparación de dos métodos de criopreservación de tejido testicular bovino.
<https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/1944/50886/LepeAnasagastiItziar.pdf?sequence=1>

Moreno Ávalos, S. (2021). Uso de diluyentes de origen animal y vegetal sobre la criopreservación del espermatozoide en el macho cabrío.

<https://repositorio.uaaan.mx/handle/123456789/47626>

Martínez-Guerra, M. J., Mendoza-García, J. V., & Pescador-Pérez, K. J. (2020). Oportunidad comercial de Colombia para la exportación de semen bovino.

<https://repositorio.uniagustiniana.edu.co/handle/123456789/1403?locale-attribute=en>

Moreno, J. S., & Lucero, D. A. G. (2019). Criopreservación de espermatozoides en especies domésticas y silvestres: estado actual de los avances tecnológicos. *Revista Ecuatoriana de Ciencia Animal*, 3(2), 18-38.

<http://revistaecuatorianadecienciaanimal.com/index.php/RECA/article/view/116>

Monroy, C. L. (2019). Efecto de la recongelación sobre la integridad de la membrana plasmática, acrosoma, viabilidad y motilidad individual en espermatozoides bovinos (Doctoral dissertation, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2019).

<https://bdigital.zamorano.edu/items/70b49746-ee6a-4ee9-b5ae-b492ec6d1537>

Mora Yepez, J. J. (2023). Evaluacion andrológica de semen conservado de las razas gyr y girolando (Bachelor's thesis, BABAHOYO: UTB, 2023).

<http://190.15.129.146/handle/49000/14960>

Mallma-Marca, P., Quintanilla-Dueñas, M., & Quispe-Gutiérrez, U. S. (2021). Colorantes Diff-Quik y Eosina-Nigrosina en la evaluación morfológica de espermatozoides antes y después de la criopreservación del semen del toro Holstein. *Micaela Revista de Investigación-UNAMBA*, 2(1), 11-17.

<http://revistas.unamba.edu.pe/index.php/micaela/article/view/53>

- Moreta Mangui, B. D. (2023). Diversidad de microorganismos seminales y su relación con el potencial reproductivo del semen porcino (Master's thesis, Ecuador: Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC)).
<http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/10471>
- Odeyemi, AJ, Shittu, OO, Toviesi, DP y Famakinde, SA (2020). Efectos conservantes de los jugos de manzana y naranja sobre los espermatozoides de cabra roja del Kalahari refrigerados. *Agricultura Tropical* , 97 (2).
<https://journals.sta.uwi.edu/ojs/index.php/ta/article/view/6419>
- Pérez, J., Restrepo, G., & Usuga, A. (2021). Calidad de semen bovino diluido y congelado en un diluyente con caseinato de sodio. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 32(6).
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172021000600024&script=sci_arttext&tlng=en
- Pérez Sánchez, I. J. (2019). Estudio comparativo de tres diluyentes de semen bovino (Triladyl, Andromed Y Optidyl) para su criopreservación.
<https://repositorio.uaaan.mx/handle/123456789/47737v>
- Parada, R. (2019). Tratamientos posdescongelado del semen de carnero: efecto de diferentes fracciones del plasma seminal sobre la cinética espermática.
<https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/handle/20.500.12008/25756>
- Parada Guerrero, D. O., & Ariza Fernández, R. K. (2019). Efecto de dos diluyentes (agua de coco vs andromed®) en la crioconservación del semen bovino.
<https://repository.ucc.edu.co/entities/publication/0f4a418f-bb72-4d04-8cb1-898a1b16a674>

Quispe Palomino, S. (2019). Evaluación de tres dilutores sobre características espermáticas antes y después de la congelación de semen bovino Holstein.

<http://190.119.174.92/handle/UNAMBA/836>

Quinteros, M. E. L. (2024). Facultad de Ciencias Agropecuarias Carrera de Medicina Veterinaria (Doctoral dissertation, Universidad de Cuenca).

<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/43812/1/Trabajo-de-Titulaci%C3%B3n.pdf>

Reda I. El-Sheshtawy, Walid S. El-Nattat, Samy I.A. Shalaby, Mohamed I. Shahba, & Islam E. Al-Se'dawy. (2016). Chilled and post-thawed semen characteristics of buffalo semen diluted in tris extender enriched with date palm pollen grains (TPG). Sciencedirect.

Recuperado 24 de enero de 2024, de <https://www-sciencedirect-com.sibdigital.ufpso.edu.co/science/article/pii/S2305050016300677?via%3Dihub>

Riwu, R. M. J., Arifiantini, R. I., & Karja, N. W. K. (2023). Comparison of Different Lecithin Diluents for Cryopreservation of Toraya Buffalo Semen. Tropical Animal Science Journal, 46(4), 396-402.

<https://jurnalpenyuluhan.ipb.ac.id/index.php/tasj/article/view/47426>

R Allende, & Y E. Arisnabarreta. (2021). *Fisiología espermática, producción de semen y evaluación de la calidad seminal*. Colegio de Veterinarios de Santa Fe 2da.

Circunscripción. http://cmvsf2.org/web/wp-content/uploads/2021/03/Fisiolog%C3%ADa-esperm%C3%A1tica_Allende-y-Arisnabarreta_2020_compressed.pdf

Ramos Flores, V. M. (2019). Comparación de tres dilutores en la crio-conservación y viabilidad espermática de semen caprino en la estación experimental tunshi (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).

<http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/13358>

Rojas, M. D. C., Gelid, F. L., Vazquez, P. M., Butti, L. R., de la Mata, J. J., Baldone, V. N., ... & de la Mata, C. A. (2023). Detección de ADN de patógenos en semen de toros de cabaña: relación con parámetros reproductivos. *Taurus*, 25(98). <https://acortar.link/jK7hsZ>

Rodriguez, D. O. C. (2022). Procesamiento de semen porcino para uso en inseminación artificial: Metabolismo espermático, almacenamiento y control de calidad. Universidad Nacional de Colombia.

https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=AW97EAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT24&dq=+siglo+XX,+el+ruso+Ivanov++observo,+evalu%C3%B3+y+llevo+a+practica+semen&ots=N8oQfEPPFX&sig=8SFleEe5SorJ_vNdj2IxTtiJoRg

Rosete Fernández, J. V., Álvarez Gallardo, H., Urbán Duarte, D., Fragoso Islas, A., Asprón Pelayo, M. A., Ríos Utrera, Á., ... & Torre Sánchez, J. F. D. L. (2021). Biotecnologías reproductivas en el ganado bovino: cinco décadas de investigación en México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 12, 39-78.

https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11242021000500004&script=sci_arttext

Ramírez López, A. (2019). Evaluación de un diluyente sobre la motilidad y sobrevivencia espermática en semen congelado bovino.

<https://repositorio.uaaan.mx/handle/123456789/46853>

- Robin, H. (2020). EVALUACION DE LA TASA DE PREÑEZ UTILIZANDO DOS DILUYENTES DE SEMEN EN PROTOCOLOS DE IATF EN VACAS DE CRIA (Doctoral dissertation, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA).
<https://iracbiogen.com/wp-content/uploads/2021/06/Evaluacion-de-la-tasa-de-prenez-utilizando-dos-diluyentes-de-semen-en-protocolos-de-iatf-en-vacas-de-cria-Robin.pdf>
- Siguencia, J. L. T. (2023). Facultad de Ciencias Agropecuarias Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia (Doctoral dissertation, Universidad de Cuenca).
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/43403/1/Trabajo-de-Titulaci%C3%B3n.pdf>
- Samara Jeronimo M., Andreia S. V., Erica G. Pr., João Batista F. de S. J., Alexsandra P B, & Alexandre R. S. (2021). Cryopreservation of Spix's yellow-toothed cavy epididymal sperm using Tris- and coconut water-based extenders supplemented with egg yolk or Aloe vera. Sciencedirect. <https://www.sciencedirect.com.sibdigital.ufpso.edu.co/science/article/pii/S001122402100016X>
- Sara Pinilla, M. A. (2020). Efecto del estrés calórico den la reproducción bovina.
<https://repository.udca.edu.co/handle/11158/3410>
- Segura Portocarrero, G. T., Quispe-Ccasa, H. A., Saucedo-Uriarte, J. A., Poclín Rojas, A. Y., Murga Valderrama, N. L., Cortez Polanco, J. V., & Ampuero Trigoso, G. (2023). Efecto de dos temperaturas de dilución sobre la calidad de semen en ganado cebuino del Trópico Peruano. Revista veterinaria, 34(1), 12-23.
http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1669-68402023000100012&script=sci_arttext

Selles, M. L., & Morales, E. A. (2021). Evaluación andrológica en toros de la unidad de Ganado de Carne en la Escuela Agrícola Panamericana (Doctoral dissertation, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2021).

<https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/7119/1/CPA-2021-T080.pdf>

Varela, E., Rojano, B. A., & Restrepo, G. (2019). Efecto de las lipoproteínas de baja densidad y la trehalosa sobre la actividad enzimática antioxidante del semen bovino criopreservado. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 30(1), 256-264.

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172019000100026&script=sci_arttext&tlng=en

Vir, M. (2019). Selección de sementales por análisis andrológico. Engormix.

https://www.engormix.com/ganaderia/eleccion-toro/seleccion-sementales-analisis-andrologico_a43854/