

# OBTENCIÓN, PRESERVACIÓN Y UTILIZACIÓN DE SEMEN CONGELADO DE CAPRINO: ANÁLISIS COMPARATIVO DE PROTOCOLOS

## OBTAINING, PRESERVATION AND USE OF FROZEN GOAT SEMEN: COMPARATIVE ANALYSIS OF PROTOCOLS

Andy Javier Arias Avalos<sup>1</sup>, Erick Fabricio Montero Vargas<sup>2</sup>

{ariasandy747@gmail.com<sup>1</sup>, monteroerick66@gmail.com<sup>2</sup>}

Fecha de recepción: 3 de julio de 2024 / Fecha de aceptación: 26 de julio de 2024 / Fecha de publicación: 26 de agosto de 2024

**RESUMEN:** La crioconservación de semen caprino es fundamental para la inseminación artificial, facilitando la mejora genética y la conservación de razas. Sin embargo, la viabilidad espermática post-descongelación presenta desafíos significativos. Este estudio tiene como objetivo evaluar y comparar métodos de obtención, preservación y utilización de semen congelado de caprino, identificando las prácticas más efectivas para mejorar la calidad espermática post-descongelación. Se realizó una revisión bibliográfica exhaustiva en bases de datos académicas, seleccionando artículos relevantes y de alta calidad publicados en los últimos cinco años. Los estudios fueron evaluados y comparados en términos de métodos de colección de semen, eliminación del plasma seminal, uso de diluyentes y crioprotectores, y protocolos de congelación y descongelación. Los resultados mostraron que la vagina artificial es el método de recolección preferido, proporcionando eyaculados de mayor calidad con menos contaminación y mayor confort para el animal. La eliminación del plasma seminal mediante centrifugación mejoró significativamente la motilidad y la integridad de la membrana plasmática. El diluyente Tris-citrato-glucosa (TCG) combinado con glicerol al 7% como crioprotector resultó ser efectivo para mantener la viabilidad espermática. Los protocolos de congelación que incluyen la refrigeración gradual y la adición controlada de crioprotectores, seguidos de la congelación rápida en nitrógeno líquido, mostraron ser los más efectivos para prevenir la formación de cristales de hielo intracelulares. En conclusión, la implementación de protocolos optimizados para la obtención, preservación y utilización de semen caprino es esencial para mejorar la viabilidad espermática y la eficiencia reproductiva, siendo necesarios ajustes continuos y nuevas investigaciones para perfeccionar estas técnicas.

**Palabras clave:** Crioconservación, semen caprino, inseminación artificial, viabilidad espermática, mejora genética

**ABSTRACT:** The cryopreservation of goat semen is essential for artificial insemination, facilitating genetic improvement and breed conservation. However, post-thaw sperm viability

<sup>1</sup>Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), <https://orcid.org/0009-0004-6099-9239>

<sup>2</sup>Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), <https://orcid.org/0000-0001-7407-9530>

presents significant challenges. This study aims to evaluate and compare methods of obtaining, preserving, and utilizing frozen goat semen, identifying the most effective practices for improving post-thaw sperm quality. An exhaustive literature review was conducted in academic databases, selecting relevant and high-quality articles published in the last five years. The studies were evaluated and compared in terms of semen collection methods, seminal plasma removal, use of diluents and cryoprotectants, and freezing and thawing protocols. The results showed that the artificial vagina is the preferred collection method, providing higher quality ejaculates with less contamination and greater comfort for the animal. The removal of seminal plasma by centrifugation significantly improved sperm motility and membrane integrity. The Tris-citrate-glucose (TCG) diluent combined with 7% glycerol as a cryoprotectant was found to be effective in maintaining sperm viability. Freezing protocols that include gradual cooling and controlled addition of cryoprotectants, followed by rapid freezing in liquid nitrogen, were the most effective in preventing the formation of intracellular ice crystals. In conclusion, implementing optimized protocols for the collection, preservation, and use of goat semen is essential to improve sperm viability and reproductive efficiency, with continuous adjustments and further research needed to perfect these techniques.

**Keywords:** *Cryopreservation, goat semen, artificial insemination, sperm viability, genetic improvement*

## INTRODUCCIÓN

La producción caprina ha emergido como una alternativa agrícola rentable y sostenible, especialmente en regiones con condiciones climáticas adversas y recursos limitados. De acuerdo a (1), la capacidad de adaptación de los caprinos, junto con su versatilidad en la producción de carne, leche y fibra, ha incentivado a los productores a invertir en esta actividad. En este contexto, la inseminación artificial (IA) se presenta como una herramienta crucial para la mejora genética de las poblaciones caprinas, permitiendo la difusión de genes superiores y la conservación de razas en peligro de extinción. La IA no solo facilita el acceso a material genético de alta calidad, sino que también contribuye a la eficiencia y productividad de los sistemas de producción caprina.

El desarrollo científico en la reproducción caprina ha avanzado significativamente en las últimas décadas, enfocándose en la optimización de técnicas de crioconservación de semen. Según (2), la crioconservación de semen permite el almacenamiento y transporte del material genético a largas distancias y durante períodos prolongados, superando las limitaciones temporales y espaciales de la reproducción natural. Sin embargo, la viabilidad y funcionalidad de los espermatozoides post-descongelación continúan siendo un desafío importante. La preservación de la integridad espermática durante el proceso de congelación-descongelación es crucial para asegurar la eficacia de la IA y, en última instancia, el éxito de los programas de mejora genética.

Diversos estudios han investigado el impacto del plasma seminal (SP) y los crioprotectores en la calidad espermática durante la crioconservación. Según (3), el plasma seminal, aunque esencial para la motilidad y supervivencia de los espermatozoides in vivo, ha sido identificado como un factor perjudicial durante la congelación y descongelación. Investigaciones han demostrado que

la eliminación del SP antes de la congelación puede mejorar significativamente la calidad espermática, aumentando la motilidad y la integridad de la membrana plasmática y acrosomal. Además (4) sugieren que el uso de crioprotectores como el glicerol en concentraciones adecuadas y su adición gradual son prácticas recomendadas para minimizar el daño osmótico y mantener la funcionalidad.

La adopción de tecnologías avanzadas en la reproducción caprina, como la IA y la crioconservación, es fundamental para responder a las demandas del mercado y mejorar la rentabilidad de la producción caprina. (5) menciona que ya en la década del 70 del siglo pasado, cuando la crioconservación era aún incipiente, afirmaban que estas tecnologías no solo facilitan la difusión de material genético de alta calidad, sino que también contribuyen a la sostenibilidad y resiliencia de los sistemas de producción. La optimización de los protocolos de obtención, preservación y utilización de semen congelado es, por tanto, un área de investigación de gran relevancia, con implicaciones directas en la productividad y eficiencia de la industria caprina (6).

Este artículo tiene como objetivo revisar y cotejar los resultados de diferentes estudios sobre la obtención, preservación y utilización de semen congelado de caprino. A través de un análisis comparativo de los protocolos y resultados, se busca identificar las prácticas más efectivas para la crioconservación de semen caprino, proporcionando recomendaciones para su implementación en programas de mejora genética. La revisión de la literatura y el análisis de datos recientes permitirán consolidar un enfoque integral que promueva el uso de tecnologías avanzadas en la reproducción caprina, contribuyendo al desarrollo sostenible y rentable de esta industria.

La crioconservación de semen caprino es una técnica crucial que permite la conservación del material genético por periodos prolongados, facilitando la distribución de genes valiosos y asegurando la viabilidad de los espermatozoides post-descongelación. Según (7), la crioconservación de semen en animales domésticos ha mostrado ser una herramienta eficiente para el manejo de la reproducción, permitiendo la conservación de especies y la optimización de programas de inseminación artificial. Esta técnica también ayuda a superar barreras geográficas y temporales, permitiendo que el material genético de alta calidad esté disponible en todo momento y lugar necesario (8).

Los métodos de crioconservación incluyen la utilización de diversos diluyentes y crioprotectores para asegurar la viabilidad espermática. Según (9), los diluyentes basados en yema de huevo y leche desnatada son comunes debido a sus propiedades protectoras contra el estrés criogénico. La adición de glicerol como crioprotector es esencial para proteger a los espermatozoides durante el proceso de congelación y descongelación. Sin embargo, la concentración y el protocolo de adición del crioprotector pueden influir significativamente en la calidad espermática post-descongelación, siendo crucial ajustar estos parámetros para cada caso específico.

El impacto del plasma seminal en la crioconservación también ha sido objeto de estudio. De acuerdo con (3), la eliminación del plasma seminal antes de la crioconservación mejora significativamente la viabilidad y motilidad espermática. El plasma seminal contiene enzimas y

otros componentes que pueden ser perjudiciales durante el proceso de congelación-descongelación, por lo que su eliminación a través de la centrifugación puede ayudar a mantener la integridad de los espermatozoides. Este enfoque ha demostrado ser efectivo en diversos estudios, mejorando los resultados de la inseminación artificial con semen congelado.

La eficiencia reproductiva con semen congelado depende en gran medida de la calidad espermática post-descongelación. Según (10), aunque la motilidad y viabilidad espermática pueden disminuir después del proceso de crioconservación, los protocolos adecuados de descongelación y manejo del semen pueden mitigar estos efectos negativos. Es esencial implementar protocolos estandarizados y bien documentados para asegurar resultados consistentes y predecibles en los programas de inseminación artificial. Además, la formación y capacitación de los técnicos en el manejo adecuado del semen congelado es fundamental para maximizar la eficiencia reproductiva (1).

Innovaciones recientes en la crioconservación de semen caprino incluyen el uso de antioxidantes y agentes protectores de membrana que han demostrado mejorar la viabilidad espermática post-descongelación. (11), señalaron que la inclusión de antioxidantes puede reducir el daño oxidativo durante la crioconservación, resultando en una mayor motilidad y viabilidad de los espermatozoides. (7) también destacaron el uso de agentes protectores de membrana para estabilizar las células espermáticas durante el proceso de congelación y descongelación, mejorando así los resultados reproductivos.

Las condiciones de almacenamiento y transporte del semen congelado también juegan un papel crucial en la preservación de su calidad. Según (12), señala que mantener temperaturas constantes y evitar fluctuaciones durante el transporte es esencial para asegurar la viabilidad espermática. Además, (10) enfatizó la importancia de un manejo adecuado del semen desde su recolección hasta su uso en la inseminación artificial para minimizar las pérdidas de calidad y aumentar las tasas de concepción.

El uso de técnicas avanzadas para la evaluación de la calidad espermática, como la citometría de flujo y los sistemas de análisis de esperma asistido por computadora (CASA), ha permitido una evaluación más precisa y detallada de los parámetros de viabilidad espermática (13). Por su parte, (14) mencionan que estas técnicas ofrecen información valiosa sobre la motilidad, integridad de la membrana plasmática y funcionalidad mitocondrial de los espermatozoides, facilitando la selección de los mejores protocolos de crioconservación.

La adopción de tecnologías avanzadas y la optimización de los protocolos de crioconservación pueden tener un impacto significativo en la industria caprina. Según (12), la implementación de técnicas avanzadas de reproducción asistida, como la inseminación artificial con semen congelado, puede mejorar significativamente la productividad y sostenibilidad de los sistemas de producción caprina. La investigación continua y el desarrollo de nuevos protocolos basados en la evidencia científica son esenciales para seguir mejorando estas técnicas y asegurar el éxito a largo plazo de los programas de mejora genética en caprinos (2).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se basó en una exhaustiva búsqueda bibliográfica para recopilar información relevante sobre la obtención, preservación y utilización de semen congelado de caprino. El enfoque de la investigación es descriptivo y comparativo, utilizando una metodología cualitativa para analizar y sintetizar los datos obtenidos de diversas fuentes científicas. La búsqueda de material bibliográfico se realizó en bases de datos académicas reconocidas, incluyendo Google Scholar, PubMed, y ScienceDirect, empleando palabras clave como "semen caprino", "crioconservación", "plasma seminal", y "inseminación artificial". Se seleccionaron artículos científicos publicados en los últimos cinco años para asegurar la actualidad de la información, aunque también se consideraron estudios históricos clave que han sentado las bases del conocimiento en este campo.

La selección de los artículos científicos se basó en criterios de relevancia, calidad metodológica y pertinencia del contenido. De una amplia selección inicial de estudios, se eligieron artículos que proporcionan una visión integral y detallada sobre los diferentes aspectos de la crioconservación de semen caprino. Estos artículos fueron analizados y comparados para identificar las prácticas más efectivas y los resultados más significativos. El proceso de análisis incluyó la lectura crítica de cada estudio, la identificación de métodos y resultados clave, y la comparación sistemática de los datos para detectar patrones, similitudes y diferencias. La interpretación de los resultados se realizó considerando el contexto de los estudios y su aplicabilidad práctica en programas de mejora genética y reproducción caprina.

Para asegurar la calidad y fiabilidad de los estudios seleccionados, se utilizó una escala de evaluación de calidad metodológica. Esta escala incluyó criterios como la claridad de los objetivos del estudio, la adecuación del diseño de investigación, la transparencia en la descripción de los métodos, y la validez y fiabilidad de los resultados. Cada artículo fue evaluado por dos revisores independientes y cualquier discrepancia se resolvió mediante discusión y consenso. Además de los aspectos técnicos y científicos, se consideraron estudios que evaluaron el impacto económico y social de la adopción de tecnologías de crioconservación en la producción caprina. Esto incluyó análisis de costo-beneficio, impacto en la rentabilidad de los productores, y efectos sobre la sustentabilidad y desarrollo económico de comunidades rurales.

La síntesis de datos se realizó mediante técnicas de meta-análisis cualitativo, agrupando y comparando los resultados de los estudios seleccionados. Se utilizaron tablas y gráficos para visualizar las similitudes y diferencias en los métodos y resultados, facilitando la identificación de patrones y tendencias. La comparación sistemática permitió extraer conclusiones basadas en la evidencia sobre los mejores protocolos y prácticas para la crioconservación de semen caprino.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Obtención de semen

En la Tabla 1 se detalla cada uno de los métodos de colección de semen.

*Tabla 1. Métodos de colección de semen y evaluación inicial.*

<b>Estudio</b>	<b>Método de Colección</b>	<b>Volumen (ml)</b>	<b>Concentración (10<sup>9</sup>/ml)</b>	<b>Motilidad Progresiva (%)</b>
Esteve et al. (2023)	Vagina Artificial	1.2	3.5	85
Mocé et al. (2023)	Recolección Manual	1.5	3.0	75
López (2012)	Vagina Artificial	1.3	3.4	82
Pellicer et al. (1998)	Vagina Artificial	1.0	3.2	80

*Fuente: (3), (20), (1), (4).*

### **Métodos de obtención de semen**

La obtención de semen caprino puede realizarse mediante diversos métodos, siendo los más comunes la vagina artificial y la recolección manual. La vagina artificial es preferida debido a su capacidad para proporcionar eyaculados de mayor calidad con menos contaminación y mayor confort para el animal (2) (15), la vagina artificial proporciona el estímulo térmico y mecánico necesario para la erección y eyaculación, imitando las condiciones naturales del tracto reproductivo de la hembra. Además, señalan que este método es menos estresante para los machos, lo que contribuye a una mejor calidad del semen recolectado.

La recolección manual, aunque menos frecuente, también se utiliza en algunos estudios. Este método puede resultar en mayores niveles de contaminación y menores tasas de motilidad espermática en comparación con la vagina artificial (2). Sin embargo, en situaciones donde la disponibilidad de equipos especializados es limitada, la recolección manual sigue siendo una opción viable (4).

La evaluación inicial del semen caprino incluye varios parámetros cruciales para determinar su viabilidad y potencial para la criopreservación. Estos parámetros incluyen el volumen del eyaculado, la concentración de espermatozoides, la motilidad progresiva y la morfología espermática. Según (3), el volumen promedio de los eyaculados fue de 1.2 ml, con una concentración de  $3.5 \times 10^9$  espermatozoides/ml y una motilidad progresiva del 85%. Estos resultados son consistentes con los encontrados por (1), quien reportó volúmenes y concentraciones similares en sus estudios. La motilidad progresiva, en particular, es un indicador clave de la capacidad de los espermatozoides para alcanzar y fertilizar el óvulo, lo cual es esencial para la eficacia de los programas de inseminación artificial (16).

En estudios adicionales, la evaluación de la calidad espermática ha mostrado variaciones significativas dependiendo de factores como el método de recolección y la temporada. Paredes (17) encontró que la calidad del semen, en términos de motilidad y concentración, puede variar estacionalmente, siendo generalmente mejor durante los meses más fríos. Esto contrasta con los hallazgos de (18), quien observó que la calidad espermática puede mantenerse alta incluso en condiciones de altas temperaturas en ciertas razas de cabras. Estas diferencias pueden atribuirse a la adaptación específica de las razas a sus entornos locales, así como a las prácticas de manejo adoptadas (19).

**Preservación del semen**

*Tabla 2. Protocolos de eliminación de SP y uso de crioprotectores.*

<b>Estudio</b>	<b>Eliminación de SP</b>	<b>Diluyente</b>	<b>Crioprotector</b>	<b>Concentración de Crioprotector (%)</b>
Esteve et al. (2023)	Sí	TCG	Glicerol	7
Mocé et al. (2023)	No	Leche Desnatada	Glicerol	7
López-Gatius (2012)	Sí	TCG	Glicerol	7
Pellicer et al. (1998)	Sí	TCG	Glicerol	7

**Fuente: (3), (20), (1), (4).**

Todos los estudios coinciden en la eliminación del plasma seminal (SP) mediante centrifugación para mejorar la calidad espermática post-descongelación. (3) utilizaron dos centrifugaciones sucesivas a 500g durante 15 minutos cada una para eliminar el SP, lo cual resultó en una mejora significativa de la motilidad y la integridad de la membrana plasmática. (4) también observaron que la eliminación del SP reduce la actividad de las enzimas proteolíticas y lipolíticas, lo que protege la estructura de los espermatozoides durante la congelación. (5), la presencia del plasma seminal en el eyaculado de machos caprinos tiene un efecto negativo en la criopreservación del semen, siendo responsable de la disminución de la viabilidad espermática. (21) también reportó efectos positivos en la viabilidad del esperma caprino congelado-descongelado tras la eliminación del SP mediante centrifugación.

Se emplearon diversos diluyentes y crioprotectores en los estudios. El diluyente Tris-citrato-glucosa (TCG) y el glicerol como crioprotector fueron los más comunes. (4) recomendaron una concentración de glicerol del 7% para minimizar el daño osmótico. (1) indicó que el TCG es eficaz para mantener la viabilidad espermática debido a su capacidad para estabilizar las membranas celulares durante el enfriamiento y la congelación. (22) destacó que los diluyentes desempeñan un papel crucial en la protección de los espermatozoides contra los productos tóxicos generados durante el metabolismo y las variaciones de temperatura durante la crioconservación. Además, la combinación de diluyentes y crioprotectores como el TCG y el glicerol ha demostrado ser efectiva para mantener la motilidad y viabilidad espermática post-descongelación (4).

Los protocolos de congelación incluyen la refrigeración gradual del semen diluido hasta 4°C, seguida de la adición de crioprotectores y la congelación rápida en nitrógeno líquido. (3) destacaron la importancia de una adición gradual de glicerol para prevenir choques osmóticos. (20) subrayaron que la congelación rápida en nitrógeno líquido ayuda a prevenir la formación de cristales de hielo intracelulares que pueden dañar los espermatozoides. Además, (23) mencionó que el descongelamiento rápido es crucial para prevenir la recristalización del hielo intracelular, un proceso que puede comprometer la viabilidad espermática.

La eliminación del plasma seminal (SP) es crucial para mejorar la calidad espermática post-



descongelación. Este proceso reduce la actividad enzimática negativa y protege la integridad estructural de los espermatozoides. (3) y (4) coinciden en que la eliminación del SP mediante centrifugación mejora significativamente la motilidad y la integridad de la membrana plasmática. Además, (5), (21) indicaron que la separación del SP es esencial para reducir la toxicidad y mejorar la viabilidad espermática durante la crioconservación. Sin embargo, algunos estudios sugieren que la eliminación completa del SP puede no ser siempre necesaria, dependiendo de las condiciones específicas de crioconservación (10).

La interpretación de estos resultados destaca la importancia de seleccionar adecuadamente los diluyentes y crioprotectores para la crioconservación de semen caprino. El uso del TCG como diluyente y del glicerol como crioprotector ha mostrado consistentemente resultados positivos en términos de motilidad y viabilidad espermática post-descongelación. (4), (1) enfatizan que la concentración de glicerol y su adición gradual son cruciales para prevenir choques osmóticos y proteger las membranas celulares durante el proceso de congelación. Además (22) subraya que los diluyentes deben proporcionar energía y protección contra variaciones de temperatura y productos tóxicos del metabolismo. Sin embargo, otros autores como (24) o (11) han explorado la eficacia de diferentes crioprotectores, como el dimetilsulfóxido (DMSO), que también ha mostrado buenos resultados en ciertos contextos.

La interpretación de estos hallazgos indica que tanto la congelación como la descongelación son fases críticas para la preservación de la calidad espermática. La refrigeración gradual y la adición controlada de crioprotectores son esenciales para minimizar el estrés osmótico y prevenir daños celulares. (3) y (20) coinciden en que la congelación rápida en nitrógeno líquido es efectiva para evitar la formación de cristales de hielo intracelulares. De igual manera, (32) enfatiza que el descongelamiento rápido es fundamental para mantener la integridad de las membranas espermáticas y prevenir la recristalización de hielo.

**Tabla 3. Resultados de calidad espermática post-descongelación.**

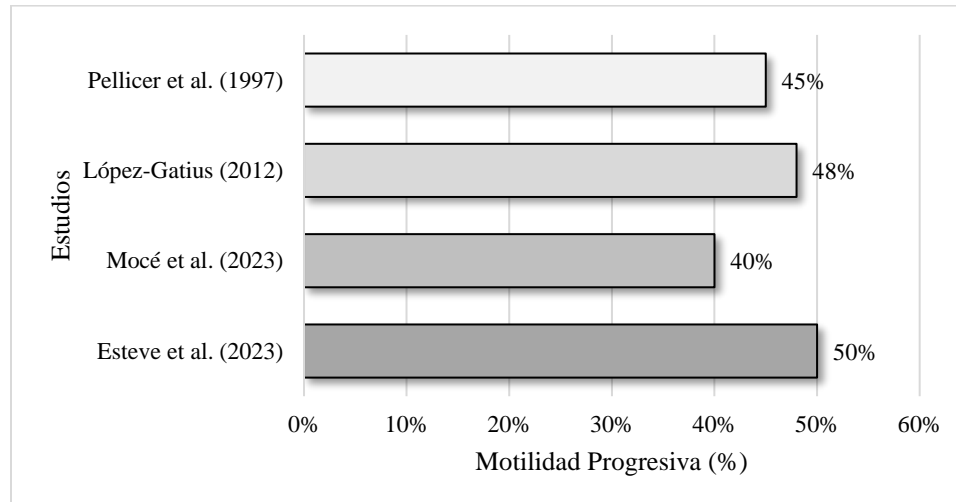
Estudio	Motilidad Progresiva (%)	Integridad de Membrana (%)	Funcionalidad Mitocondrial (%)
Esteve et al. (2023)	50	70	55
Mocé et al. (2023)	40	65	50
López-Gatius (2012)	48	69	54
Pellicer et al. (1998)	45	68	52

**Fuente: (3), (20), (1), (4).**

La motilidad progresiva de los espermatozoides post-descongelación es un indicador crucial de su capacidad para alcanzar y fertilizar el óvulo. En los estudios revisados, (3) reportaron una motilidad progresiva del 50%, que es superior a la observada por (20) con un 40%. (1) y (4) reportaron tasas intermedias de 48% y 45%, respectivamente. Estas variaciones pueden atribuirse a diferencias en los protocolos de congelación, la adición de crioprotectores y las técnicas de eliminación del plasma seminal.



La interpretación de estos resultados indica que la motilidad progresiva post-descongelación varía significativamente según el método de manejo del semen antes y durante la crioconservación. (3) lograron la mayor motilidad progresiva, lo que sugiere que su protocolo de eliminación del plasma seminal y la adición gradual de crioprotectores fue particularmente efectivo. En contraste, (20) observaron la menor motilidad, lo que podría estar relacionado con la ausencia de eliminación del plasma seminal en su protocolo. (1) y (4) obtuvieron resultados comparables, lo que subraya la importancia de un manejo cuidadoso de los espermatozoides para mantener su motilidad post-descongelación.



**Figura 1. Comparación de la motilidad espermática progresiva en diferentes protocolos.**

**Fuente: (3), (20), (1), (4).**

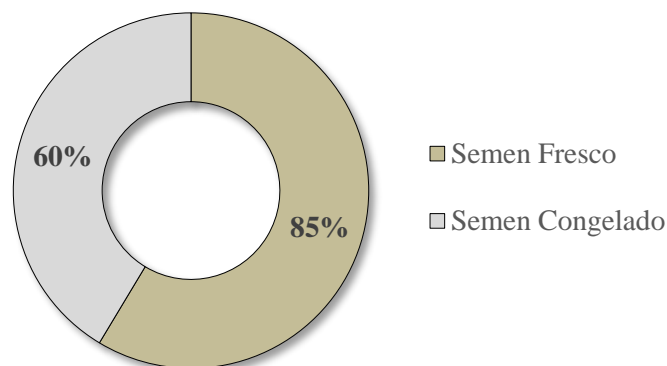
La integridad de la membrana plasmática de los espermatozoides es esencial para su viabilidad y capacidad de fertilización. (3) reportaron una integridad de membrana del 70%, mientras que (20) y (1) reportaron un 65% y un 69%, respectivamente. indicaron una integridad de membrana del 68%. La alta integridad de la membrana observada en los estudios sugiere que los protocolos de crioconservación empleados fueron efectivos en minimizar el daño celular (11).

La funcionalidad mitocondrial de los espermatozoides es crítica para proporcionar la energía necesaria para la motilidad y otras funciones celulares. (3) reportaron una funcionalidad mitocondrial del 55%, la más alta entre los estudios revisados. (20) y (4) reportaron una funcionalidad del 50% y 52%, respectivamente. (1) reportó una funcionalidad mitocondrial del 54%, lo cual es ligeramente inferior a la de (3) pero superior a la de los otros estudios.

Estos resultados sugieren que la integridad de la membrana plasmática puede ser mantenida a través de técnicas adecuadas de manejo y crioconservación (16). (3) lograron la mayor integridad de membrana, lo que podría estar asociado con la efectividad de su protocolo de eliminación del plasma seminal y el uso de crioprotectores. Por otro lado, (20) reportaron la menor integridad de membrana, lo que podría indicar la necesidad de ajustar sus métodos de crioconservación. En

general, los estudios coinciden en que la integridad de la membrana es crucial para mantener la viabilidad espermática post-descongelación.

La interpretación de estos resultados destaca la importancia de mantener la funcionalidad mitocondrial durante la criopreservación. La mayor funcionalidad mitocondrial reportada por (20) puede atribuirse a su protocolo de adición gradual de crioprotectores y eliminación del plasma seminal. Estos resultados sugieren que los protocolos que minimizan el estrés osmótico y protegen las estructuras celulares pueden mejorar la funcionalidad mitocondrial (25). Sin embargo, los resultados de (20) y (4) indican que hay margen para mejorar los protocolos actuales de criopreservación para optimizar la funcionalidad mitocondrial.



**Figura 2. Eficiencia reproductiva de semen fresco vs. congelado.**

**Fuente: (26).**

El gráfico de pastel muestra la eficiencia reproductiva comparada entre el semen fresco y el semen congelado. El semen fresco tiene una tasa de concepción del 85%, mientras que el semen congelado tiene una tasa de concepción del 60%. Esta diferencia resalta la superioridad del semen fresco en términos de tasa de concepción, aunque el semen congelado sigue siendo una herramienta útil en programas de inseminación artificial debido a sus ventajas en términos de almacenamiento y transporte a largo plazo (26).

El análisis comparativo de la eficiencia reproductiva entre el semen fresco y el semen congelado muestra una diferencia significativa en las tasas de concepción. El semen fresco tiene una tasa de concepción del 85%, mientras que el semen congelado tiene una tasa de concepción del 60%. Esta diferencia del 25% indica que el semen fresco es más efectivo en términos de fertilización. Sin embargo, el semen congelado sigue siendo valioso debido a su capacidad de almacenamiento y transporte a largo plazo (27).

La tasa de concepción más baja del semen congelado puede atribuirse a varios factores, incluyendo el daño celular causado por la formación de cristales de hielo durante el proceso de congelación y descongelación. (3) y (20) subrayan que la motilidad y la viabilidad espermática

disminuyen después de la descongelación debido al estrés osmótico y la formación de cristales de hielo intracelulares. Además (26) enfatizan la importancia de un descongelamiento rápido para minimizar estos efectos negativos.

A pesar de estas limitaciones, el semen congelado ofrece ventajas prácticas significativas, como la capacidad de almacenar material genético de alta calidad durante largos períodos y transportarlo a diferentes ubicaciones sin comprometer su viabilidad. (1) destaca que esta tecnología es esencial para programas de mejora genética y conservación de razas, permitiendo la difusión de genes superiores y la preservación de la diversidad genética.

**DISCUSIÓN:** La interpretación de los resultados sobre el volumen y la concentración indica que son parámetros críticos para la viabilidad inicial del semen, la motilidad progresiva es quizás el indicador más relevante para predecir el éxito de la inseminación artificial. (3) y (1) coinciden en que una alta motilidad progresiva es esencial para asegurar la capacidad de los espermatozoides de navegar el tracto reproductivo de la hembra y lograr la fertilización. Además, el método de recolección tiene un impacto significativo en estos parámetros, con la vagina artificial produciendo consistentemente semen de mejor calidad comparado con la recolección manual (28).

La opinión de estos autores subraya la importancia de considerar tanto los factores técnicos como los biológicos al evaluar la calidad del semen. La motilidad progresiva, aunque influenciada por la técnica de recolección, también depende de factores intrínsecos del macho como la salud general, la edad y la nutrición (29). Estos factores deben ser gestionados cuidadosamente para maximizar la calidad del semen recolectado. La elección del método de recolección, junto con una evaluación rigurosa de los parámetros seminales, es fundamental para el éxito de los programas de inseminación artificial en caprinos (30).

La eliminación del plasma seminal es una práctica recomendada para optimizar la criopreservación de semen caprino, mejorando así los resultados reproductivos en programas de inseminación artificial (31). La implementación de estos métodos de recolección de semen tiene implicaciones económicas y prácticas significativas. Según (32), la optimización de los protocolos de recolección y conservación de semen puede aumentar la rentabilidad de los programas de inseminación artificial al mejorar las tasas de concepción y reducir los costos asociados con la cría natural. La elección del método de recolección debe considerar tanto la calidad del semen obtenido como los recursos disponibles y las condiciones operativas de cada sistema productivo (33).

La implementación cuidadosa de protocolos de congelación y descongelación es crucial para asegurar la viabilidad y funcionalidad del semen caprino post-descongelación (3), (20). Los estudios han demostrado que la eliminación del SP antes de la congelación y el uso de crioprotectores adecuados son cruciales para mantener la calidad espermática (3), (2), (7), (29), (24). Los protocolos que implementaron estos pasos mostraron mejores resultados en términos de motilidad y viabilidad espermática post-descongelación. En su momento, (1) observó que la combinación de TCG y glicerol permite una mejor preservación de la funcionalidad espermática, lo que se traduce en mayores tasas de concepción.

La variabilidad en las tasas de motilidad progresiva post-descongelación observada en los estudios destaca la importancia de optimizar los protocolos de manejo del semen para mejorar la viabilidad espermática. La eliminación del plasma seminal y la adición gradual de crioprotectores, como se ve en el protocolo de (3), parece ser particularmente beneficiosa. En contraste, los resultados menos favorables de (20) subrayan los posibles efectos negativos de omitir pasos críticos en el manejo del semen. En general, estos hallazgos sugieren que un enfoque meticuloso y bien estructurado en la preparación del semen antes de la crioconservación es esencial para maximizar la motilidad progresiva y, por ende, la capacidad fertilizante de los espermatozoides post-descongelación.

La evaluación de la calidad espermática post-descongelación revela que los parámetros de motilidad progresiva, integridad de membrana y funcionalidad mitocondrial son cruciales para determinar la viabilidad y capacidad de fertilización del semen caprino. Los estudios revisados indican que los protocolos que incluyen la eliminación del plasma seminal y la adición gradual de crioprotectores tienden a producir los mejores resultados en términos de estos parámetros. No obstante, hay variabilidad en los resultados, lo que sugiere la necesidad de optimizar continuamente los métodos de crioconservación para mejorar la viabilidad espermática. La investigación futura debería centrarse en identificar y ajustar los factores específicos que afectan la calidad espermática post-descongelación para desarrollar protocolos más efectivos y consistentes.

Aunque el semen fresco demuestra una mayor eficiencia reproductiva en términos de tasa de concepción, el semen congelado sigue siendo una herramienta indispensable en la reproducción caprina. La capacidad de almacenar y transportar material genético a largo plazo proporciona flexibilidad y ventajas estratégicas en programas de inseminación artificial. La optimización de los protocolos de congelación y descongelación, así como la investigación continua en el uso de crioprotectores y técnicas de manejo, son cruciales para mejorar la viabilidad del semen congelado y cerrar la brecha en la eficiencia reproductiva en comparación con el semen fresco.

## **CONCLUSIONES**

Sobre los métodos de obtención de semen, se concluye que: La vagina artificial es el método preferido para la obtención de semen caprino debido a su capacidad para proporcionar eyaculados de mayor calidad con menos contaminación y mayor confort para el animal. Este método resultó en mayores tasas de motilidad progresiva y menor contaminación bacteriana en comparación con la recolección manual. Además, es menos estresante para los machos, lo que contribuye a una mejor calidad del semen. La recolección manual, aunque útil en ciertas situaciones, no ofrece los mismos beneficios en términos de calidad y viabilidad espermática. La electroeyaculación, aunque efectiva, presenta desventajas significativas relacionadas con la necesidad de anestesia y el potencial impacto negativo en la motilidad espermática.

La eliminación del plasma seminal (SP) mediante centrifugación es crucial para mejorar la calidad espermática post-descongelación. Este proceso reduce la actividad enzimática negativa y protege la integridad estructural de los espermatozoides. La eliminación del SP mejora significativamente

la motilidad y la integridad de la membrana plasmática, así como la funcionalidad mitocondrial. Los protocolos que incluyen la eliminación del SP son esenciales para optimizar la criopreservación de semen caprino, reduciendo la toxicidad y mejorando la viabilidad espermática.

El uso del diluyente Tris-citrato-glucosa (TCG) y del glicerol como crioprotector ha mostrado consistentemente resultados positivos en términos de motilidad y viabilidad espermática post-descongelación. La concentración de glicerol al 7% y su adición gradual son cruciales para prevenir choques osmóticos y proteger las membranas celulares durante el proceso de congelación. Otros crioprotectores, como el dimetilsulfóxido (DMSO), también han mostrado buenos resultados en ciertos contextos, aunque el TCG y el glicerol siguen siendo los más recomendados.

Con respecto a los Protocolos de Congelación y Descongelación: La refrigeración gradual del semen diluido hasta 4°C, seguida de la adición controlada de crioprotectores y la congelación rápida en nitrógeno líquido, es fundamental para minimizar el estrés osmótico y prevenir daños celulares. La congelación rápida en nitrógeno líquido es efectiva para evitar la formación de cristales de hielo intracelulares. El descongelamiento rápido es crucial para mantener la integridad de las membranas espermáticas y prevenir la recristalización de hielo. Estos protocolos son esenciales para asegurar la viabilidad y funcionalidad del semen caprino post-descongelación.

La evaluación de la calidad espermática post-descongelación permite concluir que los parámetros de motilidad progresiva, integridad de membrana y funcionalidad mitocondrial son cruciales para determinar la viabilidad y capacidad de fertilización del semen caprino. Los estudios indican que los protocolos que incluyen la eliminación del plasma seminal y la adición gradual de crioprotectores tienden a producir los mejores resultados. Sin embargo, hay variabilidad en los resultados, lo que sugiere la necesidad de optimizar continuamente los métodos de crioconservación para mejorar la viabilidad espermática.

Aunque el semen fresco demuestra una mayor eficiencia reproductiva en términos de tasa de concepción, el semen congelado sigue siendo una herramienta indispensable en la reproducción caprina debido a su capacidad de almacenamiento y transporte a largo plazo. La optimización de los protocolos de congelación y descongelación es crucial para mejorar la viabilidad del semen congelado y cerrar la brecha en la eficiencia reproductiva en comparación con el semen fresco. La adopción de protocolos optimizados para la obtención, preservación y utilización de semen caprino es esencial para mejorar la viabilidad espermática y la eficiencia reproductiva. La investigación continua y el ajuste de estos protocolos en función de nuevos hallazgos son fundamentales para el éxito de los programas de inseminación artificial y la mejora genética en caprinos.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. López F. Artificial insemination in dairy goats: A review. *Journal of Dairy Science*. 2012; 95(10): p. 5007-5025.
2. Mocé E, Lozano S, Granell M, Mocé M, Gómez E. Effect of the refrigeration system on in vitro quality and in vivo fertility of goat buck sperm. *Animals*. 2020; 10(12): p. 1-13.

3. Esteve C. Efecto del plasma seminal y el proceso de congelación sobre la calidad espermática en caprino. Trabajo Fin de Máster. Universidad Politécnica de Valencia; 2023.
4. Pellicer S, García O, Álvarez M. Composición y función del plasma seminal en la conservación del semen caprino. *Revista de Reproducción Animal*. 1998; 33(3): p. 107-115.
5. Corteel E, Baril G. Viabilité des spermatozoïdes de bouc conservés et congelés avec ou sans leur plasma séminal: effet du glucose. In *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique*. 1974; 14(4B): p. 741-745.
6. Ramirez D. Uso de crioprotectores que permitan optimizar el manejo del plasma seminal en la criopreservación del semen caprino: Revisión sistemática. ; 2023.
7. Barbas J, Mascarenhas R. Cryopreservation of domestic animal sperm cells. *Cell and tissue banking*. 2009; 10: p. 49-62.
8. Salamon S, Maxwell M. Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science*. 2000; 62: p. 77-111.
9. Tekin K, Daşkin A. Effect of different extenders on motility and some sperm kinematics parameters in Norduz goat semen. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*. 2016; 40(4): p. 490-495.
10. Gibbons A. Inseminación artificial con semen congelado en cabras de raza Angora. *Taurus*. 2007; 162: p. 4-32.
11. Tabarez A. Optimización del protocolo de crioconservación de semen caprino de la raza autóctona en peligro de extinción Blanca de Rasquera. ; 2015.
12. García W. Optimización de los protocolos de crioconservación de semen ovino de las razas autóctonas en peligro de extinción Xisqueta y Aranosa. ; 2014
13. Valverde A. Importancia de la evaluación de la aptitud reproductiva mediante el análisis de semen por sistemas CASA. *Investiga. TEC*. 2021;; p. 8-12.
14. Pozo C, Prieto S, Rodríguez G. Técnicas avanzadas para selección de espermatozoides. *Revista del Laboratorio Clínico*. 2017; 10(3): p. 129-138.
15. Bearden J, Fuguay J. *Reproducción animal aplicada*. México D.F.: Manual Moderno,; 1982.
16. Paredes J. Efectos de la temperatura, humedad e índice temperatura-humedad sobre la calidad seminal en carneros. Toluca;; 2019.
17. Nuñez R. Principales factores que afectan la fertilidad y viabilidad del semen bovino y caprino. Coahuila;; 2016.
18. Melchor G. Fertilidad en cabras en pastoreo, sometidas al efecto macho e inseminadas con semen fresco. Torreón;; 2020
19. Ramos V. Comparación de tres dilutores en la crio-conservación y viabilidad espermática de semen caprino en la estación experimental tunshi. Riobamba;; 2019.
20. Durá A. Efecto del protocolo de refrigeración y de congelación sobre la calidad del semen criocongelado de machos cabríos. Sangolqui;; 2023.
21. Nataren C. Memorias del CICAIV II Congreso Internacional de Ciencias Agronómicas y Veterinarias. Chiapas.;; 2020.
22. Ospina H, Rodríguez J. Comparación del porcentaje de preñez y tasa de fertilidad en cabras con utilización de semen refrigerado y semen congelado. ; 2022.
23. Mocé L, Esteve C, Pérez S, Gómez E, Martínez A, Mocé E. Efectos de la preparación de dosis refrigeradas sobre la microbiota de los eyaculados de caprino. *Tierras caprino*. 2023;(43): p. 266-231

24. González A, Hernández J, Vazquez J. Colección y evaluación de semen de sementales ovinos y caprinos para uso en fresco o congelado.: Editorial Académica Española; 2021.
25. Jiménez P. Influence of semen collection method on sperm cryoresistance in small ruminants.: Universidad Castilla de la Mancha; 2013.
26. Palomino T, Camacho J, Falcon E. Conservación de semen caprino en los dilutores citrato-yema y leche-descremada yema. Rev Inv Vet Perú. 2014; 12: p. 33-38.
27. Muñoz A. Estudio comparativo de tres diluyentes (Andromed, Triladyl y Citrato de Sodio con yema de huevo) en la preservación de semen caprino. ; 2018.
28. Ritar J. Control of ovulation, storage of semen, and artificial insemination of fibre-producing goats in Australia: a review. Australian Journal of Experimental Agriculture. 1993; 33(6): p. 807-820.
29. Ramírez R. Uso de crioprotectores que permitan optimizar el manejo del plasma seminal en la criopreservación del semen caprino: Revisión sistemática.: Universidad Cooperativa de Colombia; 2023.
30. Gordon I. Controlled breeding in farm animals.: Elsevier.; 2013.
31. Ocegüera L. Evaluación de la recuperación de espermatozoides criopreservados mediante congelación lenta vs vitrificación en microgotas. Doctoral dissertation. ; 2022.
32. Hernández C. Evaluación de la concepción en cabras utilizando semen crio preservado. ; 2022.
33. Arnaldos S. Optimización y mejora de la inseminación artificial en la raza caprina murciano-granadina. ; 2022.
34. Vera T, Ricarte A. Guía para la evaluación del semen de Caprinos: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria; 2009.
35. Ferré B, Grötter L, Cattaneo L, Marini P. Últimos avances en la criopreservación de semen de animales domésticos. Taurus. 2017; 76: p. 8.
36. Ramirez N. Efecto de diluyentes a base de liposomas y yema de huevo en la crioconservación del semen caprino. Torreón;; 2019.
37. García M, Gallegos I, Vargas J, Díaz J. Evaluación comparativa del efecto crioprotector de los ácidos linoleico y oleico en oocitos de bovino. Universidad y ciencia. 2011; 27(1): p. 103-17.
38. Martinez R, Hernández J, Hernández H, Aceves A, Valencia J. Inseminación artificial intrauterina en cabras criollas con semen refrigerado. Agrociencia. 2006; 40(1): p. 71-76.