

# COMPARACIÓN DE TRES DILUYENTES COMERCIALES PARA LA CONSERVACIÓN DE SEMEN BOVINO REFRIGERADO A 5°C EN MORONA SANTIAGO

## COMPARISON OF THREE COMMERCIAL EXTENDERS FOR THE PRESERVATION OF REFRIGERATED BOVINE SEMEN AT 5°C IN MORONA SANTIAGO

Cristian Fabián Carvajal Rivadeneira<sup>1</sup>, Carlos Andrés Mancheno Herrera<sup>2</sup>

{fabian.carvajal@esPOCH.edu.ec<sup>1</sup>; andres.mancheno@esPOCH.edu.ec<sup>2</sup>}

Fecha de recepción: 14/02/2026 / Fecha de aceptación: 24/02/2026 / Fecha de publicación: 31/03/2026

**RESUMEN:** Los diluyentes de semen ayudan a evitar el daño por choque térmico en procesos de preservación espermática en refrigeración; sin embargo, este proceso puede causar estrés oxidativo y afectar la fertilidad de los espermatozoides. El presente estudio tuvo como objetivo comparar la eficacia de tres diluyentes comerciales (OptiXcell®, AndroMed® y Triladyl®) en la conservación de la calidad del semen bovino refrigerado a 5 °C en diferentes tiempos de almacenamiento. El semen fue colectado de un toro Simmental clínicamente sano mediante vagina artificial y dividido en alícuotas, las cuales fueron diluidas con cada diluyente según las recomendaciones del fabricante. El experimento se desarrolló bajo un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial (3 diluyentes × 4 tiempos: 0, 4, 8 y 12 días), con tres repeticiones por tratamiento. Se evaluaron parámetros cinemáticos espermáticos mediante un sistema CASA, así como la integridad de la membrana plasmática, acrosomal y del ADN, utilizando técnicas fluorescentes y tinción con naranja de acridina. Los datos fueron analizados mediante ANOVA bifactorial y prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los resultados evidenciaron una disminución progresiva de la motilidad total, motilidad progresiva y velocidades espermáticas a medida que aumentó el tiempo de conservación. Sin embargo, la integridad del ADN espermático se mantuvo estable durante todo el período de evaluación. Entre los diluyentes, Triladyl® mostró un desempeño superior, registrando los valores más altos de motilidad total y progresiva, velocidad media del trayecto, integridad de la membrana plasmática y mayor porcentaje de espermatozoides con cromatina intacta, con diferencias estadísticamente significativas frente a OptiXcell® y AndroMed®. Se concluye que, aunque la calidad seminal disminuye con el tiempo de refrigeración, el uso de Triladyl® permite una mejor preservación funcional y estructural del semen bovino hasta 12 días a 5 °C, constituyéndose como la alternativa más eficiente para programas de inseminación artificial que empleen semen refrigerado.

<sup>1</sup>Maestrante del Programa de Maestría en Producción Animal – Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) – Sede Morona Santiago, <https://orcid.org/0009-0004-0564-7695>

<sup>2</sup>Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) – Facultad de Ciencias Pecuarias, <https://orcid.org/0000-0002-2682-0336>

*Palabras clave: semen bovino, diluyentes comerciales, refrigeración seminal, calidad espermática, CASA, inseminación artificial*

**ABSTRACT:** Semen extenders help prevent thermal shock damage in sperm preservation processes under refrigeration; however, this process can cause oxidative stress and affect sperm fertility. This study aimed to compare the efficacy of three commercial extenders (OptiXcell®, AndroMed®, and Triladyl®) in preserving the quality of refrigerated bovine semen at 5 °C over different storage times. Semen was collected from a clinically healthy Simmental bull using an artificial vagina and divided into aliquots, which were then diluted with each extender according to the manufacturer's recommendations. The experiment was conducted using a completely randomized, two-way design (3 extenders × 4 storage times: 0, 4, 8, and 12 days), with three replicates per treatment. Sperm kinematic parameters were evaluated using a CASA system, as well as plasma membrane, acrosomal, and DNA integrity, using fluorescent techniques and acridine orange staining. Data were analyzed using two-way ANOVA and Tukey's test ( $p < 0.05$ ). The results showed a progressive decrease in total motility, progressive motility, and sperm velocities as storage time increased. However, sperm DNA integrity remained stable throughout the evaluation period. Among the extenders, Triladyl® demonstrated superior performance, registering the highest values for total and progressive motility, mean transit velocity, plasma membrane integrity, and the highest percentage of sperm with intact chromatin, with statistically significant differences compared to OptiXcell® and AndroMed®. It is concluded that, although semen quality decreases with refrigeration time, the use of Triladyl® allows for better functional and structural preservation of bovine semen for up to 12 days at 5 °C, making it the most efficient alternative for artificial insemination programs using chilled semen.

*Keywords: bovine semen, commercial extenders, semen refrigeration, sperm quality, CASA, artificial insemination*

## INTRODUCCIÓN

La ganadería bovina representa uno de los sectores productivos más importantes a nivel mundial, contribuyendo significativamente a la seguridad alimentaria y al desarrollo económico de numerosas regiones. En este contexto, la inseminación artificial (IA) se ha consolidado como una de las biotecnologías reproductivas más valiosas disponibles para los productores ganaderos, permitiendo la propagación y diseminación de genética superior de toros selectos (1). Esta tecnología, desarrollada inicialmente en la década de 1940, ha revolucionado la mejora genética en bovinos al permitir que un solo toro de alta calidad pueda servir a cientos de miles de hembras durante su vida reproductiva, eliminando las limitaciones geográficas y acelerando sustancialmente el progreso genético de los rebaños (2). La IA con semen proveniente de toros genéticamente superiores constituye el método más eficiente y económico para el mejoramiento genético de rasgos de importancia económica en la industria bovina, incluyendo producción láctea, ganancia de peso, eficiencia alimenticia y calidad de la canal (3).

Según (4) mencionan que el semen refrigerado a 5°C puede mantener su vitalidad, motilidad y vigor durante las 24 horas. (5) citan que esta tecnología presenta ventajas significativas sobre el semen congelado, principalmente debido a que requiere un menor número de espermatozoides por dosis inseminante y evita el daño celular asociado con el proceso de congelación-descongelación, el cual frecuentemente compromete la integridad de las membranas plasmática y acrosomal, causando daños irreversibles que pueden resultar en muerte celular e infertilidad.

Los diluyentes seminales desempeñan un papel fundamental en la conservación de la calidad espermática durante el almacenamiento. Estos medios proporcionan un ambiente óptimo que protege a los espermatozoides de los cambios de temperatura, suministra energía necesaria para el metabolismo celular, mantiene el equilibrio del pH mediante sistemas buffer, controla la presión osmótica y previene el crecimiento microbiano mediante la inclusión de antibióticos (6).

La evaluación objetiva y precisa de la calidad seminal es esencial para determinar la eficacia de los sistemas de conservación y predecir el potencial fecundante del semen. Los sistemas computarizados de análisis seminal (CASA, por sus siglas en inglés) han revolucionado la evaluación espermática al proporcionar mediciones objetivas, precisas y reproducibles de múltiples parámetros cinéticos y morfológicos (7). A pesar de los avances tecnológicos en la conservación de semen bovino, persisten interrogantes sobre cuál diluyente comercial ofrece la mejor protección espermática bajo condiciones de refrigeración prolongada, y cómo varían los diferentes parámetros de calidad seminal a lo largo del tiempo de almacenamiento (8).

Esta información es particularmente relevante para optimizar los programas de inseminación artificial en regiones donde el acceso al semen congelado puede ser limitado o donde las condiciones de campo favorecen el uso de semen refrigerado. Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivos: (i) determinar los parámetros de calidad seminal (motilidad, velocidad, progresividad, integridad de membrana e integridad de la cromatina) durante la conservación a 5°C por un período de 0, 4, 8 y 12 días y (ii) identificar el diluyente más eficiente en términos de conservación seminal y potencial reproductivo, proponiendo su aplicación en programas de inseminación artificial. Se planteó como hipótesis nula que el uso de diferentes diluyentes comerciales no influye significativamente sobre la conservación de la calidad espermática del semen bovino refrigerado a 5°C, no mostrando variaciones en la motilidad, viabilidad e integridad celular a los 0, 4, 8 y 12 días post-dilución.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El trabajo se llevó a cabo en la Ganadería Simmental & Charolais Hermanos Carvajal, localizada en la parroquia San Isidro, cantón Morona, provincia de Morona Santiago, Ecuador. La zona se caracteriza por presentar un clima tropical húmedo, con precipitaciones anuales promedio de 2500 mm y temperaturas que oscilan entre 18 y 28 °C. La finca se encuentra a 1200 metros sobre el nivel del mar, en coordenadas geográficas aproximadas X: 822430, Y: 9745553. Todas las actividades de procesamiento, conservación y análisis seminal se realizaron bajo condiciones controladas de laboratorio, garantizando la bioseguridad, trazabilidad y la integridad de las muestras durante todo el proceso experimental.

La muestra seminal fue obtenida de un toro de la raza Simmental de 5 años el cual se encontraba en condiciones sanitarias, nutricionales y reproductivas normales. Antes de la toma de muestra para el estudio se realizó un análisis de fertilidad para garantizar la calidad espermática durante el estudio. El eyaculado se colectó mediante vagina artificial siguiendo protocolos estandarizados de higiene y bioseguridad. Cada muestra aceptada se dividió en alícuotas equitativas y fue diluida con los tres diluyentes comerciales, siguiendo las recomendaciones técnicas proporcionadas por cada fabricante. Las muestras fueron empajilladas en pajillas de 0,5 cc con una concentración aproximada de 40 millones de espermatozoides por dosis. Posteriormente las muestras fueron colocadas en una cámara de refrigeración controlada a 5 °C durante todos los tiempos de evaluación.

El estudio se desarrolló bajo un diseño experimental completamente al azar (DCA) con arreglo bifactorial. Se evaluó el efecto de tres diluyentes comerciales (OptiXcell®, Triladyl® y AndroMed®) sobre la calidad espermática de semen bovino conservado a 5 °C durante diferentes períodos de almacenamiento (0, 4, 8 y 12 días post-dilución). El diseño contempló 12 combinaciones tratamiento-tiempo, cada una con tres repeticiones independientes, totalizando 36 unidades experimentales (pajuelas). Esta configuración permitió evaluar tanto el efecto individual de cada factor como su posible interacción sobre las variables seminales de interés.

Los datos obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) bifactorial bajo el siguiente modelo matemático:  $Y_{ijk} = \mu + T_i + D_j + (TD)_{ij} + \epsilon_{ijk}$ , donde  $Y_{ijk}$  representa el valor observado para el diluyente  $i$ , tiempo  $j$  y repetición  $k$ ;  $\mu$  corresponde a la media general;  $T_i$  es el efecto del  $i$ -ésimo diluyente;  $D_j$  representa el efecto del  $j$ -ésimo tiempo de conservación;  $(TD)_{ij}$  denota la interacción entre diluyente y tiempo; y  $\epsilon_{ijk}$  es el error aleatorio asociado, asumiendo una distribución normal con media cero y varianza constante. Se aplicó la prueba de separación de medias de Tukey ( $p < 0.05$ ) para identificar los tratamientos estadísticamente diferentes entre sí, mediante el software InfoStat versión 2020.

Los parámetros cinemáticos del espermatozoide de cada tratamiento, se evaluaron objetivamente utilizando un sistema CASA. (Sperm Class Analyzer, SCA-Evolution® 2020, v.6.4.0.99 soft-ware. Microptic S.L., Barcelona, España), acoplado a un microscopio de contraste de fase (Nikon Eclipse modelo 50i; con capacidad de contraste negativo [Ph1] con filtro verde) con los siguientes ajustes: 25 fotogramas/s, área de la cabeza 5-70  $\mu\text{m}^2$ , límite de velocidad para espermatozoides lentos 10  $\mu\text{m/s}$ , límite de velocidad para espermatozoides medios 25  $\mu\text{m/s}$ , límite de velocidad para espermatozoides rápidos 70  $\mu\text{m/s}$  y rectitud mínima para espermatozoides progresivos 70 % [13]. Se evaluaron un mínimo de tres campos y 600 trayectorias de espermatozoides con un aumento de 100 $\times$ . Se analizaron los siguientes parámetros: motilidad total de los espermatozoides (TM, %), motilidad progresiva de los espermatozoides (PSM, %), velocidad curvilínea (VCL,  $\mu\text{m/s}$ ), velocidad media de recorrido (VAP,  $\mu\text{m/s}$ ), velocidad en línea recta (VSL,  $\mu\text{m/s}$ ), rectitud (STR, %), linealidad (LIN, %), oscilación (WOB, %), amplitud de desplazamiento lateral de la cabeza (ALH,  $\mu\text{m}$ ) y frecuencia de cruce de latidos (BCF, Hz).

La viabilidad espermática (integridad de la membrana plasmática, %) y la integridad acrosómica (%) se determinaron utilizando una combinación de sondas fluorescentes: yoduro de propidio (PI, Sigma P4170) y aglutinina de cacahuete conjugada con cianato isotiocianato conjugado con

**COMPARACIÓN DE TRES DILUYENTES COMERCIALES PARA LA CONSERVACIÓN DE SEMEN BOVINO REFRIGERADO A 5 °C EN MORONA SANTIAGO**

aglutinina de cacahuete (*Arachis hypogaea*) (PNA-FITC, Sigma L7381) [13,24]. Se examinaron un total de 200 espermatozoides por portaobjetos utilizando un microscopio óptico epifluorescente Nikon Eclipse E200 (Nikon Instruments Inc., Nueva York, NY, EE. UU.) con un filtro de triple banda (aumento de 400× con una excitación de 330-380 nm y una emisión de (aumento de 400× con una excitación: 330-380 nm, y emisión: 420 nm). Se distinguieron cuatro subpoblaciones diferentes de espermatozoides: (1) membrana plasmática intacta/acrosoma intacto (IPIA) (2) membrana plasmática intacta/acrosoma dañado (IPDA) (3) membrana plasmática dañada/acrosoma intacto (DPIA-); y (4) membrana plasmática dañada/acrosoma dañado (DPDA).

La fragmentación del ADN (indicativa de cromatina condensada o inestable) se evaluó mediante tinción con naranja de acridina. Las muestras de espermatozoides descongeladas de cada tratamiento experimental se extendieron en un portaobjetos, se secaron al aire y se fijaron durante la noche en solución de Carnoy (metanol y ácido acético en una proporción de 3:1). Los frotis se secaron al aire y se incubaron en solución tampón (80 mM, ácido cítrico y 15 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; pH 2,5) a 75 °C durante 5 minutos para comprobar la estabilidad de la cromatina. Posteriormente, los portaobjetos se tiñeron con solución de clorhidrato de naranja de acridina (A8097, Sigma Aldrich Co., 0,2 mg/mL) durante 5 minutos y se lavaron con agua para eliminar la tinción de fondo. Inmediatamente, mientras aún estaban húmedos, se realizó la evaluación con un microscopio de epifluorescencia [ (modelo Eclipse Ci. L 100-240 V, Nikon, Tokio, Japón) , y equipado con una cámara de alta resolución (Mshot Image Analysis System, versión V1.1.3) (aumento de 600×, excitación: 510-560 nm y emisión de 590 nm). Se examinaron al menos 200 espermatozoides de al menos diez campos aleatorios por portaobjetos. Se identificaron dos categorías de fluorescencia: 1) los espermatozoides teñidos de verde se consideraron con cromatina normal; y 2) los espermatozoides teñidos de amarillo verdoso a rojo se consideraron con cromatina dañada.

## RESULTADOS

### Calidad seminal del semen bovino refrigerado a 5 °C en función del tiempo de conservación y del tipo de diluyente comercial

Al evaluar la calidad del semen bovino refrigerado a 5 °C mediante la comparación de tres diluyentes comerciales (Optixcell, Andromed y Triladyl) y diferentes tiempos de conservación (0, 4, 8 y 12 días).

**Tabla 1. Calidad seminal del semen bovino refrigerado a 5 °C por efecto del tiempo de conservación.**

VARIABLES	MEDIA								Prob.	Sig.
	DÍA 0		DÍA 4		DÍA 8		DÍA 12			
MT (%)	85.09	A	79.03	B	72.70	C	67.51	C	<0.0001	**
MP (%)	78.46	A	72.67	A	63.96	B	56.68	C	<0.0001	**

**COMPARACIÓN DE TRES DILUYENTES COMERCIALES PARA LA CONSERVACIÓN DE SEMEN BOVINO REFRIGERADO  
A 5 °C EN MORONA SANTIAGO**

MRP (%)	37.15	A	29.30	B	24.64	BC	19.93	C	<0.0001	**
VCL (µm/s)	96.86	A	91.54	AB	80.00	BC	71.98	C	0.0002	**
VAP (µm/s)	52.83	A	45.72	B	42.07	BC	38.91	C	<0.0001	**
VSL (µm/s)	32.44	A	29.58	AB	28.12	B	26.45	B	0.0034	**
STR (%)	71.93	A	65.53	A	67.99	A	68.32	A	0.2465	NS
LIN (%)	39.68	A	35.89	A	40.95	A	41.82	A	0.5950	NS
WOB (%)	58.06	A	52.72	A	57.30	A	58.43	A	0.3768	NS
ALH (µm)	5.08	A	4.49	AB	3.96	BC	3.56	C	0.0009	**
BCF (Hz)	7.29	A	7.61	A	7.43	A	7.21	A	0.9790	NS
IPIA (%)	82.00	A	78.56	AB	76.56	B	69.33	C	<0.0001	**
IPDA (%)	0.78	A	0.78	A	0.89	A	1.00	A	0.9461	NS
DPIA (%)	3.44	C	4.44	BC	7.56	B	9.78	A	0.0003	**
DPDA (%)	14.33	B	16.22	B	15.00	B	19.89	A	0.0002	**
Sperm crom. Intac.	182.56	A	201.78	A	194.67	A	191.22	A	0.8459	NS
Sperm crom. Frag.	20.78	A	20.44	A	28.56	A	20.44	A	0.0441	*
Total, Sperm. contados en doce campos	203.33	A	222.22	A	223.22	A	211.67	A	0.8108	NS
% Sperm crom. Intac.	90.42	AB	89.06	AB	87.85	B	90.45	A	0.0306	*
% Sperm crom. Frag.	9.58	AB	10.94	AB	12.15	A	9.55	B	0.0306	*

**Nota:** MT: motilidad total; MP: motilidad progresiva; MRP: motilidad rápida progresiva; VCL: velocidad curvilínea; VAP: velocidad media del trayecto; VSL: velocidad en línea recta; STR: rectitud del movimiento espermático; LIN: linealidad del movimiento; WOB: oscilación del movimiento; ALH: amplitud lateral de la cabeza; BCF: frecuencia de batido flagelar; IPIA (%): integridad de la membrana plasmática; IPDA (%): integridad del ADN espermático; DPIA (%): daño de la membrana plasmática; DPDA (%): daño del ADN espermático; Sperm crom. Intac.: espermatozoides con cromatina intacta; Sperm crom. Frag.: espermatozoides con cromatina fragmentada; Total Sperm. contados en doce campos: número total de espermatozoides evaluados en doce campos microscópicos; Prob: Probabilidad; >0,05: no es significativo; <0,05: es significativo; Sig: Significancia.

Al analizar el efecto del tiempo de conservación sobre la calidad seminal, se observó algo muy claro: conforme pasaron los días, los espermatozoides fueron perdiendo calidad ( $P < 0,05$ ). El día 0 presentó los mejores resultados en prácticamente todas las variables evaluadas.

**COMPARACIÓN DE TRES DILUYENTES COMERCIALES PARA LA CONSERVACIÓN DE SEMEN BOVINO REFRIGERADO  
A 5 °C EN MORONA SANTIAGO**

La motilidad total (MT) comenzó en 85,09% y fue disminuyendo progresivamente hasta llegar a 67,51% en el día 12. Esta reducción refleja una pérdida evidente de viabilidad espermática con el paso del tiempo.

La motilidad progresiva (MP) mostró el mismo comportamiento, pasando de 78,46% en el día 0 a 56,68% al final del periodo evaluado. De igual manera, la velocidad media del trayecto (VAP) (52,83µm/s a 38,91µm/s respectivamente).

La velocidad en línea recta (VSL) espermáticas siguió esa misma tendencia descendente fue más alta en el día 0 (32,44µm/s) y disminuyó progresivamente hasta el día 12 (26,45µm/s).

En cuanto a la integridad del ADN espermático (IPDA) no mostró diferencias estadísticas significativas ( $P > 0,05$ ), entre los tiempos evaluados. Por otra parte, el porcentaje de cromatina intacta (% Sperm crom. Intac.) presentó diferencias estadísticas significativas ( $P < 0,05$ ) a lo largo del periodo de refrigeración, alcanzando el valor más alto en el día 12 (90,45%), seguido de los días 0 (90,45%); 4 (89,06%) y 8 (87,85%).

**Tabla 2. Calidad seminal del semen bovino refrigerado a 5 °C por efecto del tipo de diluyente comercial.**

VARIABLES	MEDIA						Prob.	Sig.
	Optixcell		Andromed		Triladyl			
MT (%)	73.08	B	71.20	B	83.98	A	<0.0001	**
MP (%)	61.62	B	63.67	B	78.53	A	<0.0001	**
MRP (%)	28.97	A	31.80	A	22.48	B	0.0002	**
VCL (µm/s)	72.41	B	76.56	B	106.32	A	<0.0001	**
VAP (µm/s)	40.65	B	44.05	B	49.94	A	0.0001	**
VSL (µm/s)	28.54	AB	31.55	A	27.35	B	0.0090	*
STR (%)	72.29	A	74.18	A	58.86	B	<0.0001	**
LIN (%)	44.59	A	46.09	A	28.07	B	0.0002	**
WOB (%)	60.16	A	61.19	A	48.53	B	0.0006	**
ALH (µm)	3.56	B	3.86	B	5.40	A	<0.0001	**
BCF (Hz)	7.81	A	7.70	A	6.64	A	0.3435	NS
IPIA (%)	76.50	B	70.92	C	82.42	A	<0.0001	**
IPDA (%)	1.33	A	0.58	A	0.67	A	0.1091	NS

**COMPARACIÓN DE TRES DILUYENTES COMERCIALES PARA LA CONSERVACIÓN DE SEMEN BOVINO REFRIGERADO  
A 5 °C EN MORONA SANTIAGO**

DPIA (%)	7.58	A	7.33	A	4.00	B	0.0089	*
DPDA (%)	14.67	B	21.25	A	13.17	B	<0.0001	**
Sperm crom. Intac.	166.00	A	210.17	A	201.50	A	0.0635	NS
Sperm crom. Frag.	30.25	A	32.42	A	5.00	B	<0.0001	**
Total, Sperm. contados en doce campos	196.25	A	242.58	A	206.50	A	0.0781	NS
% Sperm crom. Intac.	84.74	B	86.23	B	97.36	A	<0.0001	**
% Sperm crom. Frag.	15.26	A	13.77	A	2.65	B	<0.0001	**

**Nota:** MT: motilidad total; MP: motilidad progresiva; MRP: motilidad rápida progresiva; VCL: velocidad curvilínea; VAP: velocidad media del trayecto; VSL: velocidad en línea recta; STR: rectitud del movimiento espermático; LIN: linealidad del movimiento; WOB: oscilación del movimiento; ALH: amplitud lateral de la cabeza; BCF: frecuencia de batido flagelar; IPIA (%): integridad de la membrana plasmática; IPDA (%): integridad del ADN espermático; DPIA (%): daño de la membrana plasmática; DPDA (%): daño del ADN espermático; Sperm crom. Intac.: espermatozoides con cromatina intacta; Sperm crom. Frag.: espermatozoides con cromatina fragmentada; Total Sperm. contados en doce campos: número total de espermatozoides evaluados en doce campos microscópicos; Prob: Probabilidad; >0,05: no es significativo; <0,05: es significativo; Sig: Significancia.

Al evaluar el efecto de los diluyentes comerciales sobre la calidad seminal, Triladyl presentó los mejores resultados en variables como motilidad total (MT); motilidad progresiva (MP); velocidad media del trayecto (VAP); integridad de la membrana plasmática (IPIA) y porcentaje de espermatozoides con cromatina intacta (% Sperm. crom. intac.), alcanzando medias de 83,98%; 78,53%; 49,94µm/s; 82,42% y 97,36%, respectivamente. Observando diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) entre las variables.

La velocidad en línea recta (VSL) fue mayor con Andromed (31,55µm/s), seguida de Optixcell (28,54µm/s) y Triladyl (27,35µm/s), mostrando diferencias estadísticas significativas ( $P < 0,05$ ), mientras que la integridad del ADN espermático (IPDA) no mostró diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ( $P > 0,05$ ).

**Tabla 3. Calidad seminal del semen bovino refrigerado a 5 °C en por efecto de la interacción del diluyente comercial y tiempo de conservación evaluada en el día 0.**

VARIABLES	DÍA 0						E.E
	Optixcell		Andromed		Triladyl		
MT (%)	81.67	BC	80.57	BC	93.03	A	2.45
MP (%)	69.87	BCDE	76.20	ABC	89.30	A	2.67
MRP (%)	37.43	AB	41.97	A	32.04	ABCD	2.70

**COMPARACIÓN DE TRES DILUYENTES COMERCIALES PARA LA CONSERVACIÓN DE SEMEN BOVINO REFRIGERADO  
A 5 °C EN MORONA SANTIAGO**

VCL (µm/s)	90.27	ABC	85.63	ABC	114.67	A	6.09
VAP (µm/s)	48.73	ABC	51.57	AB	58.18	A	2.43
VSL (µm/s)	31.51	AB	35.12	A	30.70	B	1.80
STR (%)	71.90	AB	78.53	A	65.37	AB	3.76
LIN (%)	40.74	A	47.37	A	30.92	A	5.65
WOB (%)	58.00	A	63.74	A	52.45	A	4.41
ALH (µm)	4.67	ABC	4.76	ABC	5.81	A	0.41
BCF (Hz)	8.38	A	8.23	A	5.26	A	1.22
IPIA (%)	82.00	AB	76.67	BCD	87.33	A	1.99
IPDA (%)	1.33	A	0.67	A	0.33	A	0.53
DPIA (%)	5.67	ABC	3.67	ABC	1.00	C	1.66
DPDA (%)	11.33	F	19.33	ABCDE	12.33	F	1.37
Sperm crom. Intac.	180.00	AB	199.67	AB	168.00	B	26.58
Sperm crom. Frag.	29.00	A	30.67	A	2.67	C	3.92
Total, Sperm. contados en doce campos	209.00	AB	230.33	AB	170.67	AB	28.88
% Sperm crom. Intac.	86.09	BC	86.68	BC	98.48	A	1.15
% Sperm crom. Frag.	13.91	AB	13.32	AB	1.52	C	1.15

**Nota:** MT: motilidad total; MP: motilidad progresiva; MRP: motilidad rápida progresiva; VCL: velocidad curvilínea; VAP: velocidad media del trayecto; VSL: velocidad en línea recta; STR: rectitud del movimiento espermático; LIN: linealidad del movimiento; WOB: oscilación del movimiento; ALH: amplitud lateral de la cabeza; BCF: frecuencia de batido flagelar; IPIA (%): integridad de la membrana plasmática; IPDA (%): integridad del ADN espermático; DPIA (%): daño de la membrana plasmática; DPDA (%): daño del ADN espermático; Sperm crom. Intac.: espermatozoides con cromatina intacta; Sperm crom. Frag.: espermatozoides con cromatina fragmentada; Total Sperm. contados en doce campos: número total de espermatozoides evaluados en doce campos microscópicos; E.E: Error experimental.

En el día 0 las variables de motilidad total (MT), motilidad progresiva (MP); velocidad media del trayecto (VAP); integridad de la membrana plasmática (IPIA) y el porcentaje de cromatina intacta (% Sperm crom. Intac.) presentaron mayor eficiencia con el uso del diluyente Triladyl alcanzando medias de 93,03%; 89,30%; 58,18µm/s; 87,33% y 98,48% respectivamente.

En las velocidades espermáticas como la velocidad curvilínea (VCL) y la velocidad media del trayecto (VAP) se observó un mejor rendimiento con el diluyente Triladyl (114,67 µm/s y 58,18

**COMPARACIÓN DE TRES DILUYENTES COMERCIALES PARA LA CONSERVACIÓN DE SEMEN BOVINO REFRIGERADO  
A 5 °C EN MORONA SANTIAGO**

µm/s respectivamente). A diferencia de la velocidad en línea recta (VSL) los resultados más eficientes se reportaron con los diluyentes Andromed (35,12 µm/s).

En la integridad del ADN espermático (IPDA), no se observaron diferencias entre los diluyentes.

**Tabla 4. Calidad seminal del semen bovino refrigerado a 5 °C en por efecto de la interacción del diluyente comercial y tiempo de conservación evaluada en el día 4.**

VARIABLES	DÍA 4						E.E
	Optixcell		Andromed		Triladyl		
MT (%)	75.91	ABC	76.11	ABC	85.08	AB	2.45
MP (%)	64.98	CDEF	70.93	BCD	82.09	AB	2.67
MRP (%)	30.14	ABCD	34.21	ABC	23.56	CDE	2.70
VCL (µm/s)	81.22	BCD	84.18	ABC	109.24	AB	6.09
VAP (µm/s)	42.58	BCD	45.22	BCD	49.35	BC	2.43
VSL (µm/s)	28.20	AB	32.74	AB	27.81	AB	1.80
STR (%)	66.35	AB	73.23	AB	57.01	BC	3.76
LIN (%)	36.62	A	44.09	A	26.94	A	5.65
WOB (%)	53.85	A	57.88	A	46.44	A	4.41
ALH (µm)	3.91	ABCD	4.09	ABCD	5.46	AB	0.41
BCF (Hz)	7.92	A	7.74	A	7.18	A	1.22
IPIA (%)	78.67	ABC	73.67	BCDE	83.33	AB	1.99
IPDA (%)	1.33	A	0.67	A	0.33	A	0.53
DPIA (%)	7.00	ABC	4.33	ABC	2.00	BC	1.66
DPDA (%)	13.00	EF	21.33	AB	14.33	CDEF	1.37
Sperm crom. Intac.	149.67	B	151.67	B	304.00	A	26.58
Sperm crom. Frag.	26.00	AB	28.00	A	7.33	BC	3.92
Total, Sperm. contados en doce campos	175.67	AB	179.67	AV	311.33	A	28.88
% Sperm crom. Intac.	85.12	BCD	84.37	BC	97.68	A	1.15

**COMPARACIÓN DE TRES DILUYENTES COMERCIALES PARA LA CONSERVACIÓN DE SEMEN BOVINO REFRIGERADO A 5 °C EN MORONA SANTIAGO**

% Sperm crom. Frag.	14.88	AB	15.63	AB	2.32	C	1.15
---------------------	-------	----	-------	----	------	---	------

**Nota:** MT: motilidad total; MP: motilidad progresiva; MRP: motilidad rápida progresiva; VCL: velocidad curvilínea; VAP: velocidad media del trayecto; VSL: velocidad en línea recta; STR: rectitud del movimiento espermático; LIN: linealidad del movimiento; WOB: oscilación del movimiento; ALH: amplitud lateral de la cabeza; BCF: frecuencia de batido flagelar; IPIA (%): integridad de la membrana plasmática; IPDA (%): integridad del ADN espermático; DPIA (%): daño de la membrana plasmática; DPDA (%): daño del ADN espermático; Sperm crom. Intac.: espermatozoides con cromatina intacta; Sperm crom. Frag.: espermatozoides con cromatina fragmentada; Total Sperm. contados en doce campos: número total de espermatozoides evaluados en doce campos microscópicos; E.E: Error experimental.

En el día 4 las variables de motilidad total (MT); motilidad progresiva (MP); velocidad media del trayecto (VAP); integridad de la membrana plasmática (IPIA) y el porcentaje de cromatina intacta (% Sperm crom. Intac.) registraron los valores más eficientes con el diluyente Triladyl alcanzando medias de 85,08%; 82,09%; 49,35µm/s; 83,33% y 97,68% respectivamente.

En las velocidades espermáticas como la velocidad curvilínea (VCL) y la velocidad media del trayecto (VAP) se determinó un mejor rendimiento con el diluyente Triladyl (109,24 µm/s y 49,35 µm/s respectivamente).

La velocidad en línea recta (VSL) y la integridad del ADN espermático (IPDA), no presentaron diferencias entre los diluyentes estudiados.

**Tabla 5. Calidad seminal del semen bovino refrigerado a 5 °C en por efecto de la interacción del diluyente comercial y tiempo de conservación evaluada en el día 8.**

VARIABLES	DÍA 8						E.E
	Optixcell		Andromed		Triladyl		
MT (%)	69.35	CDE	66.79	DE	81.97	AB	2.45
MP (%)	59.67	DEFG	56.79	EFG	75.41	BC	2.67
MRP (%)	27.10	BCDE	28.17	BCDE	18.64	DE	2.70
VCL (µm/s)	66.28	CD	64.97	CD	108.75	AB	6.09
VAP (µm/s)	37.94	CD	39.15	CD	49.11	ABC	2.43
VSL (µm/s)	28.41	AB	29.58	AB	26.37	AB	1.80
STR (%)	73.99	AB	74.49	AB	55.48	BC	3.76
LIN (%)	47.69	AB	48.98	A	26.18	A	5.65
WOB (%)	61.65	A	63.55	A	46.70	A	4.41
ALH (µm)	3.21	CD	3.11	CD	5.56	AB	0.41

**COMPARACIÓN DE TRES DILUYENTES COMERCIALES PARA LA CONSERVACIÓN DE SEMEN BOVINO REFRIGERADO  
A 5 °C EN MORONA SANTIAGO**

BCF (Hz)	7.58	A	7.57	A	7.12	A	1.22
IPIA (%)	77.67	ABCD	69.33	CDE	82.67	AB	1.99
IPDA (%)	1.00	A	0.67	A	1.00	A	0.53
DPIA (%)	7.67	ABC	9.67	AB	5.33	ABC	1.66
DPDA (%)	13.67	DEF	20.33	ABCD	11.00	F	1.37
Sperm crom. Intac.	164.00	B	270.67	AB	149.33	B	26.58
Sperm crom. Frag.	38.67	A	41.33	A	5.67	C	3.92
Total, Sperm. contados en doce campos	202.67	AB	312.00	A	155.00	B	28.88
% Sperm crom. Intac.	81.57	C	86.30	BC	95.68	A	1.15
% Sperm crom. Frag.	18.43	A	13.70	AB	4.32	C	1.15

**Nota:** MT: motilidad total; MP: motilidad progresiva; MRP: motilidad rápida progresiva; VCL: velocidad curvilínea; VAP: velocidad media del trayecto; VSL: velocidad en línea recta; STR: rectitud del movimiento espermático; LIN: linealidad del movimiento; WOB: oscilación del movimiento; ALH: amplitud lateral de la cabeza; BCF: frecuencia de batido flagelar; IPIA (%): integridad de la membrana plasmática; IPDA (%): integridad del ADN espermático; DPIA (%): daño de la membrana plasmática; DPDA (%): daño del ADN espermático; Sperm crom. Intac.: espermatozoides con cromatina intacta; Sperm crom. Frag.: espermatozoides con cromatina fragmentada; Total Sperm. contados en doce campos: número total de espermatozoides evaluados en doce campos microscópicos; E.E: Error experimental.

En el día 8 las variables de motilidad total (MT), motilidad progresiva (MP); velocidad media del trayecto (VAP); integridad de la membrana plasmática (IPIA) y el porcentaje de cromatina intacta (% Sperm crom. Intac.) mostraron mejores resultados con el uso del diluyente Triladyl obteniendo medias de 81,97%; 75,41%; 49,11µm/s; 82,67% y 95,68 % respectivamente.

En las velocidades espermáticas como la velocidad curvilínea (VCL) y la velocidad media del trayecto (VAP) se determinó un mejor rendimiento con el diluyente Triladyl (108,75 µm/s y 49,11 µm/s respectivamente).

En la variable velocidad en línea recta (VSL) y en la integridad del ADN espermático (IPDA), no se observaron diferencias entre los diluyentes.

**Tabla 6. Calidad seminal del semen bovino refrigerado a 5 °C en por efecto de la interacción del diluyente comercial y tiempo de conservación evaluad en el día 12.**

VARIABLES	DÍA 12						E.E
	Optixcell		Andromed		Triladyl		
MT (%)	65.40	DE	61.32	E	75.81	BCD	2.45

**COMPARACIÓN DE TRES DILUYENTES COMERCIALES PARA LA CONSERVACIÓN DE SEMEN BOVINO REFRIGERADO  
A 5 °C EN MORONA SANTIAGO**

MP (%)	51.96	FG	50.76	G	67.31	CDE	2.67
MRP (%)	21.23	CDE	22.86	CDE	15.69	E	2.70
VCL (µm/s)	51.87	D	71.45	CD	92.61	ABC	6.09
VAP (µm/s)	33.34	D	40.26	BCD	43.13	BCD	2.43
VSL (µm/s)	26.06	AB	28.76	AB	24.53	B	1.80
STR (%)	76.91	A	70.48	AB	57.58	B	3.76
LIN (%)	53.32	A	43.91	AB	28.23	A	5.65
WOB (%)	67.15	A	59.60	A	48.54	A	4.41
ALH (µm)	2.45	D	3.47	BCD	4.76	ABC	0.41
BCF (Hz)	7.38	A	7.25	A	7.00	A	1.22
IPIA (%)	67.67	DE	64.00	E	76.33	BCD	1.99
IPDA (%)	1.67	A	0.33	A	1.00	A	0.53
DPIA (%)	10.00	AB	11.67	A	7.67	ABC	1.66
DPDA (%)	20.67	ABC	24.00	A	15.00	BCDEF	1.37
Sperm crom. Intac.	170.33	AB	218.67	AB	184.67	AB	26.58
Sperm crom. Frag.	27.33	A	29.67	A	4.33	CDE	3.92
Total, Sperm. contados en doce campos	197.67	AB	248.33	AB	189.00	AB	28.88
% Sperm crom. Intac.	86.18	BC	87.58	B	97.58	A	1.15
% Sperm crom. Frag.	13.82	AB	12.42	B	2.42	C	1.15

**Nota:** MT: motilidad total; MP: motilidad progresiva; MRP: motilidad rápida progresiva; VCL: velocidad curvilínea; VAP: velocidad media del trayecto; VSL: velocidad en línea recta; STR: rectitud del movimiento espermático; LIN: linealidad del movimiento; WOB: oscilación del movimiento; ALH: amplitud lateral de la cabeza; BCF: frecuencia de batido flagelar; IPIA (%): integridad de la membrana plasmática; IPDA (%): integridad del ADN espermático; DPIA (%): daño de la membrana plasmática; DPDA (%): daño del ADN espermático; Sperm crom. Intac.: espermatozoides con cromatina intacta; Sperm crom. Frag.: espermatozoides con cromatina fragmentada; Total Sperm. contados en doce campos: número total de espermatozoides evaluados en doce campos microscópicos; E.E: Error experimental.

En el día 12 las variables de motilidad total (MT), motilidad progresiva (MP); integridad de la membrana plasmática (IPIA) y el porcentaje de cromatina intacta (% Sperm crom. Intac.) arrojaron resultados superiores con el uso del Triladyl alcanzando medias de 75,81%;67,31%; 76,33% y 97,58% respectivamente. Por otra en la velocidad media del trayecto (VAP) los valores más

eficientes fueron reportados por los diluyentes Triladyl y Andromded con valores de 43,13 $\mu\text{m/s}$  y 40,26 $\mu\text{m/s}$  respectivamente.

En las velocidades espermáticas la velocidad curvilínea (VCL) tuvo un mejor rendimiento con el Triladyl (92,61  $\mu\text{m/s}$ ). A diferencia de la velocidad media del trayecto (VAP) donde los valores mas altos fueron con Triladyl (43,13 $\mu\text{m/s}$ ) y Andromed (40,26 $\mu\text{m/s}$ ) y la velocidad en línea recta (VSL) los resultados más altos se obtuvieron con los diluyentes Andromed (28,76 $\mu\text{m/s}$ ) y Optixcell (26,06 $\mu\text{m/s}$ ).

En la integridad del ADN espermático (IPDA), no se observaron diferencias entre los diluyentes.

Estos resultados evidencian que los fosfolípidos y el colesterol que contine la yema de huevo contribuye al mantenimiento de las características espermáticas del semen refrigerado con el diluyente Triladyl. Esto puede deberse a la reparación de la membrana celular durante el tiempo de conservación.

## DISCUSIÓN

Los valores de motilidad total (MT) obtenidos en este estudio coinciden con lo reportado por (9), quienes explican que la pérdida de motilidad durante la conservación ocurre por el agotamiento de las reservas de energía y el daño progresivo en la membrana plasmática del espermatozoide. De forma similar, (10) indica que el estrés por temperatura durante el almacenamiento reduce directamente la capacidad de movimiento espermático. En este contexto, (11) comparó la motilidad progresiva en semen bovino congelado usando tres diluyentes comerciales, encontrando que AndroMed obtuvo 67,7%, Bioxcell 60,9% y Triladyl 52,4%, con diferencias significativas entre ellos

(12) reportan que en motilidad progresiva (MP) en semen descongelado, quien encontró que Triladyl obtuvo 86,00% a las 0 horas, 78,00% a las 12 horas, 65,00% a las 24 horas, 49,30% a las 36 horas y 38,00% a las 48 horas; mientras que AndroMed mostró 63,00% a las 0 horas, pero disminuyó drásticamente a 4,60% a las 12 horas, 3,30% a las 24 horas, 2,67% a las 36 horas y 0,67% a las 48 horas. Sin embargo, (11) reporta resultados diferentes, encontrando que AndroMed presentó valores ligeramente superiores (45,00% a las 2 horas, 41,69% a las 5 horas y 38,75% a las 7 horas) en comparación con Triladyl (42,06% a las 2 horas, 40,81% a las 5 horas y 39,06% a las 7 horas).

(13) indican que la velocidad media del trayecto (VAP) refleja de forma temprana el deterioro funcional del espermatozoide. (14) reportan valores de VAP en semen fresco de toros Brahman de  $110.65 \pm 0.26 \mu\text{m/s}$  para Bioxcell y  $106.67 \pm 0.24 \mu\text{m/s}$  para Optixcell, valores significativamente superiores a los observados en semen criopreservado.

La VSL mide el desplazamiento en línea recta del espermatozoide. (14) reportan valores de VSL en semen fresco de toros Brahman de  $103.70 \pm 0.26 \mu\text{m/s}$  con Bioxcell y  $86.60 \pm 0.24 \mu\text{m/s}$  con Optixcell. En este sentido, (15) indican que la viscosidad y composición del diluyente influyen

directamente sobre la VSL, lo que explica las diferencias observadas entre formulaciones comerciales.

(16) señalan que la integridad de la membrana plasmática espermática (IPIA) constituye una de las variables más sensibles durante la conservación del semen bovino, debido a su alta susceptibilidad al estrés osmótico, térmico y oxidativo, factores que pueden comprometer la funcionalidad celular y la viabilidad espermática. En este sentido, (17) indican que la estabilidad de la membrana plasmática depende en gran medida de la capacidad protectora del medio de conservación, resaltando la importancia de la composición del diluyente en la preservación de la estructura celular.

Por su parte, (17) reportan que la integridad del ADN espermático (IPDA) tiende a mantenerse relativamente estable durante la refrigeración, aunque puede verse afectada bajo condiciones de mayor estrés celular. De manera concordante, (18) asocian el daño del ADN espermático con incrementos del estrés oxidativo severo; sin embargo, esta condición no se evidenció de forma marcada en el presente estudio, lo que sugiere una adecuada protección del material genético espermático durante el periodo de evaluación.

Asimismo, (19) establecen que el porcentaje de cromatina intacta constituye un indicador fundamental de la estabilidad genética del espermatozoide. En concordancia, (20) sugieren que, durante el almacenamiento del semen, podría producirse una selección de espermatozoides con cromatina más resistente, lo que explicaría el aumento relativo en el porcentaje de cromatina intacta observado en las etapas finales de conservación.

## **CONCLUSIONES**

La conservación del semen bovino a 5 °C durante un periodo de 0, 4, 8 y 12 días evidenció que las variables como la motilidad total, la motilidad progresiva y la velocidad espermática, disminuyen progresivamente con el tiempo de almacenamiento. La motilidad total descendió de 85,09 % en el día 0 a 67,51 % en el día 12, mientras que la motilidad progresiva se redujo de 78,46 % a 56,68 % en el mismo periodo. A diferencia de la integridad de la membrana plasmática que se mantuvo estable hasta el día 8 (76,56 %), aunque presentó una disminución al día 12 (69,33 %). La integridad del ADN espermático no mostró diferencias estadísticamente significativas durante el periodo de conservación ( $P > 0,05$ ), y el porcentaje de cromatina intacta se mantuvo elevado, alcanzando su valor más alto al día 12 (90,45 %), lo que indica una adecuada preservación estructural y genética del espermatozoide durante la refrigeración.

En relación con el diluyente más eficiente, los resultados permitieron identificar a Triladyl como el diluyente con mejor desempeño en la conservación de la calidad seminal. Este diluyente presentó los valores más altos de motilidad total (83,98 %), motilidad progresiva (78,53 %), velocidad media del trayecto (49,94  $\mu\text{m/s}$ ), integridad de la membrana plasmática (82,42 %) y porcentaje de espermatozoides con cromatina intacta (97,36 %), mostrando diferencias estadísticamente significativas frente a Optixcell y Andromed ( $P < 0,05$ ). Asimismo, Triladyl mantuvo resultados superiores en todos los tiempos evaluados, incluidos los días 8 y 12 de

conservación, lo que respalda su uso como una alternativa eficiente para su aplicación en programas de inseminación artificial que requieran la conservación de semen bovino refrigerado.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FAO. Las biotecnologías ganaderas en los países en desarrollo. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.2025. [https://www.fao.org/biotechnology/topics/livestock/es?utm\\_source=openai](https://www.fao.org/biotechnology/topics/livestock/es?utm_source=openai)
2. Gómez A. La Historia de la Inseminación Artificial en el Ganado. 2016. [https://www.consejosytrucos.net/noticias-168587/la-historia-de-la-inseminacion-artificial-en-el-ganado/?utm\\_source=openai](https://www.consejosytrucos.net/noticias-168587/la-historia-de-la-inseminacion-artificial-en-el-ganado/?utm_source=openai)
3. Marizancén M. y Artunduaga L. Mejoramiento genético en bovinos a través de la inseminación artificial y la inseminación artificial a tiempo fijo. Revista De Investigación Agraria Y Ambiental.2017; 8(2), 247-259. [https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/2050?utm\\_source=openai](https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/2050?utm_source=openai)
4. Cash M, Castagna S. y Texeira D. Evaluación de diferentes diluyentes para semen ovino, fresco y refrigerado.2015.1-49. [https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/10497/1/FV-31152.pdf?utm\\_source=openai](https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/10497/1/FV-31152.pdf?utm_source=openai)
5. Nuñez. G y Rosés M. Uso de semen refrigerado y congelado en un protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo en vaquillonas Wagyu.2024.1-51. [https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/51460/1/FV-36860.pdf?utm\\_source=openai](https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/51460/1/FV-36860.pdf?utm_source=openai)
6. Zambrano L. y López L. Natural and synthetic diluents in the preservation of bovine semen in Colombia | Diluyentes Naturales Y Sintéticos En La Preservación De Semen Bovino En Colombia. 2024. [https://agris.fao.org/search/en/providers/125577/records/68514d5153e52c13fc76303c?utm\\_source=openai](https://agris.fao.org/search/en/providers/125577/records/68514d5153e52c13fc76303c?utm_source=openai)
7. Cucho H. Análisis de semen asistido por computadora de camélidos.2020.1-6. [https://reproduccionanimal.blog/wp-content/uploads/2020/01/m3-cucho-casa-2018-manual.pdf?utm\\_source=openai](https://reproduccionanimal.blog/wp-content/uploads/2020/01/m3-cucho-casa-2018-manual.pdf?utm_source=openai)
8. Camaño M. y Andrick G. Evaluación de dos diluyentes comerciales para la congelación de semen bovino en condiciones de campo. 2025.1-109. [https://up-rid.up.ac.pa/9106/1/andrick\\_camano.pdf](https://up-rid.up.ac.pa/9106/1/andrick_camano.pdf)
9. Vishwanath R., Shannon P. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. Animal Reproduction Science. 2000; 62 (1-3) :23 -53. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432000001536?via%3Dihub>
10. Watson PF. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. Animal Reproduction Science. 2000;60–61:481–492. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432000000993?via%3Dihub>
11. Galarza A. Eficacia de dos diluyentes: tris + lecitina de soya (Andromed®) y tris + yema de huevo (Triladyl®), en la crioconservación de semen de toro de la raza jersey en Cuenca – Ecuador. 2013:1-93. <https://rest->

dspace.ucuenca.edu.ec/server/api/core/bitstreams/92f2752d-a980-4224-9129  
91fe9949a2f8/content

12. Calle C. Evaluación de semen bovino utilizando medios comerciales de criopreservación, provincia de Morona Santiago, Ecuador.2020: 1-35. <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>
13. Bernardi, S.; Allende, R.; Mazzeo, R.; Monti, J.; Marini, P. Evaluación de los cambios ocasionados en espermatozoides bovinos por variaciones en el manejo de las dosis durante su manipulación en inseminación artificial. *Investigación Veterinaria*. 2011; 13 (2): 25-38. <https://www.redalyc.org/pdf/1791/179122770004.pdf>
14. Araya A, Sevilla F., Barquero V. y Valverde A. Efecto del diluyente, la edad y el estado sexual bovino sobre la cinemática del semen. *Agronomía Mesoamericana*. 2023; 34 (3). <https://www.redalyc.org/journal/437/43774930008/html/>
15. Reeuwijk y Marten. The turbulence boundary of a temporal jet. 2013.1-21. [https://arxiv.org/abs/1304.0476?utm\\_source=openai](https://arxiv.org/abs/1304.0476?utm_source=openai)
16. Petrunkina, Gehlhaar, Drommer, Waberski y Töpfer. Selective sperm binding to pig oviductal epithelium in vitro. *Reproduction*;2001.121 (889-896): 1-8. <https://academic.oup.com/reproduction/article/121/6/889/8265451?login=false>
17. Arbaiza M. y Cabrera. Efecto de la criopreservación espermática en la fragmentación del ADN, viabilidad, y parámetros cinéticos en toros Brown Swiss. *Colombiana de Ciencia Animal* RECIA.2021,13 (1): 1.12. <https://revistas.unisucre.edu.co/index.php/recia/article/view/e787/952>
18. Urrego R. Ríos A., Olivera M. y Camargo O. Efecto de la centrifugación sobre la membrana plasmática y el ADN de espermatozoides bovino. *Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 2008; 21:19-26. [https://www.redalyc.org/pdf/2950/295023520003.pdf?utm\\_source=openai](https://www.redalyc.org/pdf/2950/295023520003.pdf?utm_source=openai)
19. Trujillo H., Hernández A y Quintero A. Integridad de la cromatina y forma de la cabeza del espermatozoide de toro: evaluación simultánea con la tinción de azul de toluidina. *FCV-LUZ*; 2012.12 (3):211.216. <https://www.produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/15707/15680>
20. Cano, Domínguez, Hernández, Cervantes, Lamothe y Romero. Efecto del plasma seminal sobre la integridad del ADN y el estado acrosomal en semen refrigerado de porcino.2012: 1-4- [https://www.uv.mx/veracruz/cienciaanimal/files/2013/11/EFFECTO-DEL-PLASMA-SEMINAL-SOBRE-LA-INTEGRIDAD-DEL-ADN-Y-EL-ESTADO-ACROSOMAL-EN-SEMEN-REFRIGERADO.pdf?utm\\_source=openai](https://www.uv.mx/veracruz/cienciaanimal/files/2013/11/EFFECTO-DEL-PLASMA-SEMINAL-SOBRE-LA-INTEGRIDAD-DEL-ADN-Y-EL-ESTADO-ACROSOMAL-EN-SEMEN-REFRIGERADO.pdf?utm_source=openai)