

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ANTIOXIDANTES ANTE EL ESTRÉS OXIDATIVO DE ESPERMATOZOIDES BOVINOS CRIOPRESERVADOS EN LA PROVINCIA DE MORONA SANTIAGO

EFFECT OF THE ADDITION OF ANTIOXIDANTS ON OXIDATIVE STRESS IN CRYOPRESERVED BOVINE SPERMATOZOA IN THE PROVINCE OF MORONA SANTIAGO

Jhon Alexander Carvajal Rivadeneira¹, Carlos Andrés Mancheno Herrera²

{jhon.carvajal@epoch.edu.ec¹, andres.mancheno@epoch.edu.ec²}

Fecha de recepción: 10/02/2026 / Fecha de aceptación: 24/02/2026 / Fecha de publicación: 31/03/2026

RESUMEN: La criopreservación del semen bovino es una técnica muy utilizada en la reproducción y el mejoramiento genético; sin embargo, el proceso de congelación y descongelación puede afectar a los espermatozoides debido al estrés oxidativo, lo que puede limitar su fertilidad. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la adición de antioxidantes (ácido ascórbico y resveratrol) sobre el estrés oxidativo en espermatozoides bovinos criopreservados en la provincia de Morona Santiago, Ecuador. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con tres tratamientos: control, ácido ascórbico y resveratrol y seis repeticiones por cada uno. El semen fue colectado de un toro Simmental mediante vagina artificial, diluido con Triladyl, suplementado con antioxidantes (4 mg/ml) y criopreservado en nitrógeno líquido. Posteriormente, se evaluaron los parámetros cinéticos mediante el sistema CASA, la integridad de la membrana plasmática y acrosómica mediante tinción fluorescente (PI/PNA-FITC) y la integridad de la cromatina mediante tinción con naranja de acridina. Se aplicó la prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la separación de medias. Los resultados evidenciaron que el tratamiento control presentó valores significativamente superiores en motilidad total (56,83%), motilidad progresiva (41,52%), velocidad media del trayecto (37,85 $\mu\text{m/s}$) y velocidad en línea recta (28,20 $\mu\text{m/s}$), en comparación con los tratamientos con antioxidantes, los cuales redujeron significativamente estos parámetros. No obstante, el resveratrol mostró un efecto protector sobre la integridad estructural, alcanzando el mayor porcentaje de cromatina intacta (96,72%) y valores de integridad de membrana similares al control, mientras que el ácido ascórbico presentó menores porcentajes de integridad estructural. Se concluye que, en las condiciones evaluadas, la adición de antioxidantes no mejoró la cinética espermática post-criopreservación, pero el resveratrol contribuyó a

¹Maestrante del Programa de Maestría en Producción Animal – Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) – Sede Morona Santiago, <https://orcid.org/0009-0007-9418-0266>

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

preservar la integridad de la cromatina y la membrana plasmática, lo que sugiere su potencial aplicación en la protección estructural del semen bovino criopreservado.

Palabras clave: criopreservación, semen bovino, estrés oxidativo, antioxidantes, resveratrol, ácido ascórbico

ABSTRACT: Cryopreservation of bovine semen is a widely used technique in reproduction and genetic improvement; however, the freezing and thawing process can affect sperm due to oxidative stress, which can limit their fertility. The objective of this study was to evaluate the effect of adding antioxidants (ascorbic acid and resveratrol) on oxidative stress in cryopreserved bovine spermatozoa in the province of Morona Santiago, Ecuador. A completely randomized experimental design with three treatments: control, ascorbic acid, and resveratrol were used, with six replicates per treatment. Semen was collected from a Simmental bull using an artificial vagina, diluted with Triladyl, supplemented with antioxidants (4 mg/ml), and cryopreserved in liquid nitrogen. Subsequently, kinetic parameters were evaluated using the CASA system, plasma and acrosomal membrane integrity was assessed using fluorescent staining (PI/PNA-FITC), and chromatin integrity was assessed using acridine orange staining. Tukey's test ($p < 0.05$) was used for mean separation. The results showed that the control treatment exhibited significantly higher values for total motility (56.83%), progressive motility (41.52%), mean travel speed (37.85 $\mu\text{m/s}$), and straight-line speed (28.20 $\mu\text{m/s}$) compared to the antioxidant treatments, which significantly reduced these parameters. However, resveratrol showed a protective effect on structural integrity, achieving the highest percentage of intact chromatin (96.72%) and membrane integrity values similar to the control, while ascorbic acid showed lower percentages of structural integrity. It is concluded that, under the evaluated conditions, the addition of antioxidants did not improve sperm kinetics post-cryopreservation, but resveratrol contributed to preserving chromatin and plasma membrane integrity, suggesting its potential application in the structural protection of cryopreserved bovine semen.

Keywords: cryopreservation, bovine semen, oxidative stress, antioxidants, resveratrol, ascorbic acid

INTRODUCCIÓN

La criopreservación de semen bovino es una técnica fundamental en los programas de mejoramiento genético y reproducción asistida del ganado, esta tecnología permite conservar material genético de toros con características deseables por tiempo indefinido, facilitando su uso en diferentes regiones y épocas del año, sin embargo, el proceso de congelación y descongelación genera daños celulares importantes que afectan la calidad espermática y, por ende, las tasas de fertilidad en la inseminación artificial (1).

Durante la criopreservación, los espermatozoides experimentan estrés oxidativo debido a la formación excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS), estas moléculas atacan componentes celulares vitales como la membrana plasmática, las mitocondrias y el ADN espermático,

comprometiendo la motilidad, viabilidad y capacidad fecundante de las células. (2). El problema se agrava porque los espermatozoides tienen defensas antioxidantes limitadas y un citoplasma reducido, lo que los hace especialmente vulnerables al daño oxidativo (3). Esta situación representa un desafío técnico y económico para los productores ganaderos, ya que las dosis seminales de baja calidad reducen la eficiencia reproductiva y aumentan los costos operativos.

En la provincia de Morona Santiago, la ganadería representa una actividad económica importante para las familias rurales, la región cuenta con condiciones climáticas particulares, con precipitaciones anuales de 2500 mm y altitudes que varían desde los 200 hasta los 5200 metros sobre el nivel del mar (4). Estas características ambientales pueden influir en la fisiología reproductiva del ganado local. Sin embargo, existe poca información sobre el comportamiento del semen bovino criopreservado bajo estas condiciones específicas, lo que limita la optimización de los protocolos de conservación seminal adaptados a la realidad productiva de la zona.

La literatura científica ha demostrado que la adición de antioxidantes al medio de criopreservación puede reducir el daño oxidativo y mejorar la calidad del semen descongelado. Entre los antioxidantes más estudiados se encuentran el ácido ascórbico (vitamina C) y el resveratrol, ambos con mecanismos de acción complementarios, el ácido ascórbico actúa como un potente captador de radicales libres y protege la integridad de la membrana espermática (5).

A pesar de los avances en el conocimiento sobre antioxidantes en la criopreservación seminal, aún existen vacíos importantes. No se ha establecido con claridad cuál antioxidante ofrece mejores resultados en términos de relación costo-beneficio para condiciones específicas de cada región.

La presente investigación surge de la necesidad de generar información aplicada que permita mejorar la eficiencia de los programas de inseminación artificial en la provincia de Morona Santiago. La comparación directa entre ácido ascórbico y resveratrol, bajo las mismas condiciones experimentales, permitirá identificar la alternativa más efectiva para proteger la calidad espermática durante la criopreservación. Esta información es especialmente valiosa considerando las condiciones particulares de la región y la necesidad de optimizar recursos en los sistemas de producción ganadera.

Por lo anterior, el objetivo general de este estudio fue evaluar el efecto de la adición de antioxidantes ante el estrés oxidativo de espermatozoides bovinos criopreservados en la provincia de Morona Santiago. De manera específica, se busca identificar el efecto antioxidante del ácido ascórbico y resveratrol sobre los parámetros cinéticos de espermatozoides bovinos criopreservados y analizar los cambios en la integridad de la membrana e integridad de la cromatina (ADN) frente a la adición de estos antioxidantes en el medio de congelación. Se planteó como hipótesis que la adición de antioxidantes al medio de criopreservación reducirá significativamente el estrés oxidativo y mejorará la viabilidad y motilidad de los espermatozoides bovinos criopreservados.

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 se obtuvo de un toro Simmental de 5 años, que se encontraba sano y en buenas condiciones reproductivas. El animal se mantenía en pastoreo a voluntad, en una pradera de gramalote morado (*Axonopus scoparius*) con acceso constante a agua fresca, balanceado y sales minerales, lo que le permitía mantener una buena condición corporal de 3,5 al momento de la colecta del semen. 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 el diluyente comercial Triladyl según las recomendaciones del fabricante. Una vez realizada la dilución final se incorporaron los antioxidantes (4 mg/ml de semen diluido) obteniendo así un tratamiento control (sin antioxidantes) y 2 tratamientos experimentales (Ácido ascórbico y resveratrol). Las muestras fueron empajilladas en pajillas de 0,5 cc con una concentración aproximada de 40 millones de espermatozoides por dosis. Se refrigeraron a 4° C durante 20 minutos para posteriormente ser congeladas en vapores de nitrógeno durante 20 minutos a 4 cm del nitrógeno líquido. Finalmente fueron sumergidas en nitrógeno líquido para ser colocadas en el tanque hasta su análisis.

El estudio se desarrolló bajo un diseño experimental completamente al azar (DCA), el diseño contempló un total de 18 unidades experimentales (pajuelas) evaluadas al final del estudio divididas en 6 pajuelas por tratamiento. Se aplicó la prueba de separación de medias de Tukey (p < 0.05) para identificar los tratamientos estadísticamente diferentes entre sí.

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 µm², límite de velocidad para espermatozoides lentos 10 µm/s, límite de velocidad para espermatozoides medios 25 µm/s, límite de velocidad para espermatozoides rápidos 70 µm/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 100x. Se analizaron los siguientes parámetros: motilidad total de los espermatozoides (TM, %), motilidad progresiva de los espermatozoides (PSM, %), velocidad curvilínea (VCL, µm/s), velocidad media de recorrido (VAP, µm/s), velocidad en línea recta (VSL, µm/s), rectitud (STR, %), linealidad (LIN, %), oscilación (WOB, %), amplitud de desplazamiento lateral de la cabeza (ALH, µm) 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 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 esperma 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 Na₂HPO₄; 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

Efecto de la adición de antioxidantes ante el estrés oxidativo de espermatozoides bovinos criopreservados

Con el fin de evaluar el efecto de la adición de antioxidantes sobre la calidad seminal posterior al proceso de criopreservación, se analizaron los principales parámetros espermáticos post-descongelación en los diferentes tratamientos experimentales: grupo control, ácido ascórbico y resveratrol.

Tabla 2. Efecto de los antioxidantes sobre los parámetros seminales post-descongelación.

| VARIABLES | Control | AAscorbico | Resveratrol | Prob. |
|-----------|---------|------------|-------------|-------|
| | MEDIA | | | |

**EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ANTIOXIDANTES ANTE EL ESTRÉS OXIDATIVO DE ESPERMATOZOIDES BOVINOS CRIOPRESERVADOS
EN LA PROVINCIA DE MORONA SANTIAGO**

| | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------|---|--------|---|--------|----|---------|----|
| MT (%) | 56.83 | A | 55.52 | A | 46.98 | B | 0.0024 | ** |
| MP (%) | 41.52 | A | 26.27 | B | 21.88 | B | <0.0001 | ** |
| MRP (%) | 20.85 | A | 11.87 | B | 8.59 | C | <0.0001 | ** |
| VCL (µm/s) | 63.36 | A | 39.77 | B | 39.66 | B | <0.0001 | ** |
| VAP (µm/s) | 37.85 | A | 24.06 | B | 23.18 | B | <0.0001 | ** |
| VSL (µm/s) | 28.20 | A | 17.89 | B | 16.68 | B | <0.0001 | ** |
| STR (%) | 72.82 | A | 66.55 | B | 65.69 | B | 0.0017 | ** |
| LIN (%) | 46.39 | A | 41.53 | A | 39.90 | A | 0.0744 | NS |
| WOB (%) | 61.29 | A | 59.20 | A | 58.03 | A | 0.3599 | NS |
| ALH (µm) | 2.71 | A | 1.88 | B | 1.96 | B | 0.0001 | ** |
| BCF (Hz) | 9.76 | A | 6.52 | B | 6.18 | B | <0.0001 | ** |
| IPIA (%) | 59.00 | A | 48.50 | B | 58.83 | A | 0.0017 | ** |
| IPDA (%) | 0.83 | A | 0.67 | A | 0.50 | A | 0.8095 | NS |
| DPIA (%) | 12.50 | B | 16.17 | A | 15.00 | AB | 0.0479 | * |
| DPDA (%) | 27.67 | B | 34.67 | A | 25.67 | B | 0.0024 | ** |
| Sperm crom. Intac. | 308.00 | A | 324.83 | A | 280.83 | A | 0.3836 | NS |
| Sperm crom. Frag. | 10.83 | B | 24.00 | A | 9.00 | B | 0.0035 | ** |
| Total, Sperm. contados en doce campos | 318.83 | A | 348.83 | A | 289.83 | A | 0.1880 | NS |
| % Sperm crom. Intac. | 96.31 | A | 93.07 | A | 96.72 | A | 0.0397 | * |
| % Sperm crom. Frag. | 3.70 | A | 6.93 | A | 3.29 | A | 0.0397 | * |

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.

La motilidad total (MT) evidenció diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$) entre tratamientos, donde el control (56,83%) y el ácido ascórbico (55,52%) mantuvieron valores similares, mientras que el resveratrol presentó una media inferior de 46,98%. En cuanto a la motilidad progresiva (MP), se observó diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$), con el control registrando 41,52%, seguido del ácido ascórbico con 26,27% y el resveratrol con 21,88%.

En cuanto a los parámetros de velocidad, la velocidad curvilínea (VCL) fue mayor en el control (63,36 $\mu\text{m/s}$), mientras que el ácido ascórbico (39,77 $\mu\text{m/s}$) y el resveratrol (39,66 $\mu\text{m/s}$) presentaron valores inferiores ($P < 0,05$). De forma similar, tanto la velocidad media del trayecto (VAP) como la velocidad en línea recta (VSL) fueron superiores en el grupo control (37,85 y 28,20 $\mu\text{m/s}$, respectivamente) ($P < 0,05$).

La linealidad (LIN) no mostró diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($P > 0,05$). Sin embargo, la amplitud de desplazamiento lateral de la cabeza (ALH) presentó diferencias significativas ($P < 0,05$), con el valor más alto en el control (2,71 μm), en comparación con el ácido ascórbico (1,88 μm) y el resveratrol (1,96 μm).

En la evaluación de la integridad de membrana plasmática (IPIA), se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$), donde el control (59,00%) y el resveratrol (58,83%) mostraron valores superiores al ácido ascórbico (48,50%).

Por otro lado, el porcentaje de espermatozoides con cromatina intacta presentó diferencias significativas ($P < 0,05$), alcanzando el valor más alto en el resveratrol (96,72%), seguido del control (96,31%) y del ácido ascórbico (93,07%). En contraste, la integridad del ADN evaluada como IPDA no mostró diferencias estadísticas entre tratamientos ($P > 0,05$).

La Figura 1 presenta la comparación de la concentración espermática entre los tres tratamientos evaluados. El tratamiento con resveratrol mostró una concentración de 45,75 millones, el tratamiento con ácido ascórbico de 45,30 millones y el tratamiento control de 44,80 millones.

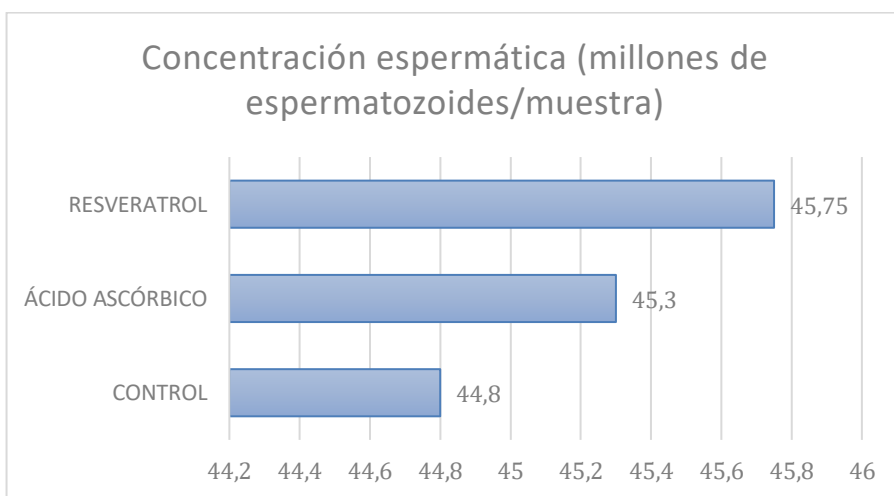


Figura 1. Efecto de diferentes tratamientos sobre la concentración espermática.

Fuente: Elaboración propia.

DISCUSIÓN

La motilidad total es uno de los parámetros más sensibles al daño oxidativo inducido por la criopreservación (6). (7) reportan que la suplementación con resveratrol en semen bovino criopreservado mejora la motilidad total hasta $61,9 \pm 4,0\%$, comparado con $55,8 \pm 3,8\%$ en el grupo control ($P < 0,05$), lo que demuestra un efecto positivo cuando se utiliza en dosis adecuadas. Sin embargo, (8) observaron resultados contrastantes, ya que concentraciones de $10\text{--}50 \mu\text{M}$ de resveratrol redujeron la motilidad total post-descongelación en semen bovino.

La motilidad progresiva refleja la capacidad real de desplazamiento de los espermatozoides hacia el ovocito y depende de la integridad mitocondrial y del axonema (9). (7) reportan una motilidad progresiva de $37 \pm 8,8\%$ con resveratrol, frente a $33,3 \pm 3,74\%$ en el control ($P < 0,05$). Este hallazgo resulta relevante dado que los estudios sobre estrés oxidativo en semen criopreservado demuestran que la motilidad progresiva es uno de los parámetros más vulnerables al daño mitocondrial inducido por especies reactivas de oxígeno (10). En este contexto, (11) explica que la reducción de fertilidad asociada al semen congelado está directamente vinculada con alteraciones en la movilidad progresiva y el metabolismo energético, lo que subraya la importancia de proteger este parámetro durante la criopreservación.

Los parámetros cinéticos de velocidad media del trayecto (VAP) y velocidad en línea recta (VSL) son indicadores de la eficiencia de desplazamiento espermático (12). (13) destaca que estos valores de velocidad están estrechamente asociados a la funcionalidad mitocondrial y a la integridad del flagelo en semen criopreservado bovino. En su estudio experimental, (2) evaluaron la suplementación con resveratrol en medios de criopreservación de semen bovino y reportaron que, tras la descongelación, los valores de VAP se mantienen alrededor de $40\text{--}35 \mu\text{m/s}$ y los de VSL en rangos de $28\text{--}26 \mu\text{m/s}$, sin evidenciar diferencias estadísticas significativas al antioxidante dentro del mismo protocolo de congelación. Sin embargo, (8) reportan una disminución de estos parámetros cinéticos a concentraciones mayores de resveratrol, lo que confirma que su efecto es dependiente de la dosis y del contexto del diluyente utilizado.

La integridad de membrana es esencial para la viabilidad espermática y el proceso de fertilización (14). (15) evaluó la integridad de membrana mediante la prueba HOST y su relación con el factor racial, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas, observándose únicamente variaciones numéricas entre grupos. En su estudio, las razas Jersey y Holstein presentaron los mayores porcentajes de integridad de membrana ($87,40$ y $87,30 \pm 3,01\%$, respectivamente), mientras que la raza Brown Swiss registró el valor más bajo ($83,67 \pm 3,01\%$).

La estabilidad de la cromatina es fundamental para el desarrollo embrionario (16). En este contexto, (5) demuestran que antioxidantes como el resveratrol y la vitamina C reducen significativamente el daño del ADN inducido por la criopreservación en semen. De manera similar, (17) reportan una reducción del daño nuclear en semen bovino suplementado con antioxidantes en comparación con el grupo control. Estos hallazgos sugieren que la protección antioxidante durante la criopreservación puede preservar la integridad genética espermática, lo cual es determinante para la fertilidad y el desarrollo embrionario posterior.

Por su parte, (18) reportan que la integridad del ADN espermático (IPDA) tiende a mantenerse relativamente estable durante la congelación, aunque puede verse afectada bajo condiciones de mayor estrés celular. De manera concordante, (19) asocian el daño del ADN espermático con incrementos de 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.

La concentración espermática es un parámetro fundamental en la evaluación de la calidad seminal. (20) menciona que la concentración espermática normal en bovinos oscila entre 800-1200 millones de espermatozoides por mililitro (ml), es decir, 0,8-1,2 millones por mm³.

CONCLUSIONES

Los antioxidantes ácido ascórbico y resveratrol no mejoraron el movimiento de los espermatozoides bovinos después de la descongelación. El grupo control obtuvo mejores resultados en todos los parámetros de movimiento: motilidad total (56,83%), motilidad progresiva (41,52%), velocidad media del trayecto (37,85 $\mu\text{m/s}$) y velocidad en línea recta (28,20 $\mu\text{m/s}$). Ambos antioxidantes disminuyeron estos valores de forma significativa. Esto indica que, en las condiciones de este estudio, agregar antioxidantes al medio de congelación afectó negativamente la capacidad de movimiento de los espermatozoides.

En relación con la integridad estructural, el resveratrol fue el antioxidante más efectivo para proteger la estructura del espermatozoide. Logró mantener la integridad de la cromatina en un 96,72% de los espermatozoides, superando al control (96,31%) y al ácido ascórbico (93,07%). En cuanto a la integridad de la membrana, el resveratrol (58,83%) alcanzó valores similares al control (59,00%), mientras que el ácido ascórbico fue menor (48,50%). El ADN espermático se mantuvo bien protegido en todos los tratamientos sin diferencias importantes. Por lo tanto, el resveratrol demostró ser eficaz para proteger la cromatina y la membrana de los espermatozoides durante la congelación

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barboto G. Evaluación Andrológica de semen criopreservado de origen nacional e importado de animales Bos Indicus.2025.1-46. <https://repositorio.ug.edu.ec/server/api/core/bitstreams/f675c2c9-1993-4146-9494-d801178b73cd/content>
2. Amón N. y Jaramillo J. Efecto del Resveratrol sobre la criosupervivencia de espermatozoides bovinos congelados y vitrificados.2023.1-69. <https://rest-dspace.ucuenca.edu.ec/server/api/core/bitstreams/ac9e038e-c99a-4d4a-84ee-37dd2b8094a7/content>

3. Ceballos E., Correa F., Restrepo G. y Úsuga A. Evaluación del efecto de la suplementación con resveratrol sobre el estado redox de espermatozoides bovinos criopreservados.2023.1. <https://repository.ces.edu.co/items/923af524-1844-4841-90b4-999dc2442bdd>
4. Chumpi M. y Villarruel R. Agricultores y ganaderos dinamizan la economía. EL COMERCIO. 2018. <https://www.elcomercio.com/pages/economia-provincia-morona-santiago/?utm>
5. Branco C., Garcez M., Pasqualotto F., Erdtman B. y Salvador M. Resveratrol and ascorbic acid prevent DNA damage induced by cryopreservation in human semen. *Cryobiology*. 2010; 60(2): 7-235. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19895799/>
6. Rodríguez M y Nivia A. Efecto de la adición de antioxidantes sobre la motilidad espermática post-criopreservación y fertilidad del semen de peces. *Revista Veterinaria*.2017;28(2). <https://revistas.unne.edu.ar/index.php/vet/article/view/2544?utm>
7. Bucak et al. Lycopene and resveratrol improve post-thaw bull sperm parameters: sperm motility, mitochondrial activity and DNA integrity. *Andrologia*.2014;45(5): 545-552 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24909239/?utm>
8. Correa et al. Quality and redox state of bovine sperm cryopreserved with resveratrol use of resveratrol in bovine semen. *Reprod Domest Anim*. 2024;59(1). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38268212/>
9. Gómez M. Estudios funcionales y moleculares sobre la regulación de la capacidad fertilizante del espermatozoide y la activación del ovocito.2019.1-192. <https://files01.core.ac.uk/download/pdf/224998962.pdf>
10. Agarwal et al. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril*. 2003;79(4):829-43. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12749418/>
11. Plancarte I. Efecto de la congelación sobre la funcionalidad de espermatozoides porcinos y ovinos.2015.1-93. <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/UAMI16978.pdf>
12. Delgado P. Tiempos y velocidades de rotación sobre la cinética espermática en muestras seminales de toros brahman sometidas a gradientes de percoll.2024.1-82. <https://repository.ucc.edu.co/server/api/core/bitstreams/c8b62e04-226b-4544-8830-83714281263c/content>
13. Muiño R. Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino mediante el uso de sistemas CASA y citometría de flujo: identificación de subpoblaciones espermáticas.2008. https://books.google.com.ec/books?id=97rPdZOFzdgC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbg_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
14. Cabrera V. y Pantoja A. Viabilidad espermática e integridad del acrosoma en semen congelado de toros nacionales. *RIVEP*. 2012;23(2):1-10. <https://www.redalyc.org/pdf/3718/371838864009.pdf>
15. Sánchez R. Efecto de cafeína y glutatión adicionados al medio de crioconservación sobre los parámetros de calidad seminal y en la tasa de concepción en bovinos lecheros .2024.1-110. <https://dspace.esPOCH.edu.ec:8080/server/api/core/bitstreams/cb947894-6937-4675-aa71-9f216fe0e7ec/content>
16. Nava H. y Quintero A. Importancia de la evaluación de la cromatina espermática en rumiantes. Una revisión.2017;2(1):1-15. https://www.researchgate.net/profile/Hector-Nava-Trujillo/publication/311858450_IMPORTANCIA_DE_LA_EVALUACION_DE_LA_CROMATIN

A_ESPERMATICA_EN_RUMIANTES_UNA_REVISION_IMPORTANCE_OF_SPERM_CHROMATIN_EVALUATION_IN_RUMINANTS_A_REVIEW/links/585db23f08ae8fce48fe62ed/IMPORTANCIA-DE-LA-EVALUACION-DE-LA-CROMATINA-ESPERMATICA-EN-RUMIANTES-UNA-REVISION-IMPORTANCE-OF-SPERM-CHROMATIN-EVALUATION-IN-RUMINANTS-A-REVIEW.pdf

17. Bucak et al. Effects of antioxidants on post-thawed bovine sperm and oxidative stress parameters: antioxidants protect DNA integrity against cryodamage. *Cryobiology*.2010;61(3). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20833164/>
18. 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>
19. 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>
20. Barragán I. Evaluación del efecto crioprotector de diferentes fuentes de antioxidantes en el semen bovino.2017.1-95. <https://dspace.esPOCH.edu.ec:8080/server/api/core/bitstreams/15a9162d-c2a4-42d4-8de1-695f71ac84d5/content>