

## Dilutores liposoma y Tris sobre semen fresco y descongelado en la inseminación artificial en bovinos

Liposome and Tris extenders on fresh and thawed semen in artificial insemination of bovines

Extensores de lipossoma e Tris sobre o sêmen fresco e descongelado na inseminação artificial de bovinos

ARTÍCULO ORIGINAL



Escanea en tu dispositivo móvil  
o revisa este artículo en:  
<https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v10i28.440>

Ulises Sandro Quispe-Gutiérrez<sup>1</sup>   
usquispe@unamba.edu.pe

Katherine Magdalena Simón Laveriano<sup>2</sup>   
ksimon@isthuando.edu.pe

Harrison Rodas Solís<sup>1</sup>   
151179@unamba.edu.pe

Ruben Pinares<sup>3</sup>   
ruben.pinares@unsaac.edu.pe

<sup>1</sup>Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac,  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Abancay. Apurímac, Perú

<sup>2</sup>Práctica privada, Huando. Huaral, Perú

<sup>3</sup>Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco,  
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria, Sicuani. Cusco, Perú

Artículo recibido: 7 de noviembre 2025 / Arbitrado: 5 de diciembre 2025 / Publicado: 7 de enero 2026

### RESUMEN

En inseminación bovina, la yema de huevo en dilutores de semen aumenta la contaminación microbiana, requiriendo alternativas. El objetivo del estudio fue evaluar los dilutores liposoma (Optixcell) y Tris-yema de huevo (Tris-YH) sobre los parámetros espermáticos del semen fresco y descongelado, y tasa de preñez en vacas inseminadas. Se colectó semen de un toro, inmediatamente se diluyó con Optixcell o Tris-YH, se evaluó los parámetros espermáticos del semen fresco, se congeló convencionalmente, luego el semen descongelado local e importado fueron evaluados. El diagnóstico de gestación se realizó a los 45 días. Los parámetros espermáticos del semen fresco diluido con Optixcell y Tris-YH no mostraron diferencias significativas en motilidad total ( $p=0.98$ ), motilidad progresiva ( $p=0.81$ ), vitalidad ( $p=0.64$ ), integridad de membrana plasmática ( $p=0.64$ ) ni anormalidades espermáticas ( $p=0.36$ ). En semen descongelado, tampoco hubo diferencias ( $p>0.05$ ). Sin embargo, el semen descongelado importado presentó valores superiores de motilidad total ( $p=0.004$ ), motilidad progresiva ( $p=0.006$ ), vitalidad ( $p=0.006$ ) e integridad de membrana plasmática ( $p=0.002$ ) frente al semen local. La tasa de preñez fue similar ( $p=0.83$ ) entre vacas inseminadas con semen importado versus local. Se concluye que los dilutores Optixcell y Tris-YH no afectaron la calidad espermática del semen fresco y descongelado local, mientras que el semen importado presentó parámetros espermáticos superiores. Sin embargo, esto no se tradujo en diferencias en la tasa de preñez en vacas inseminadas.

**Palabras clave:** Criopreservación; Espermatozoide; Gestación; Optixcell; Yema de huevo

### ABSTRACT

In bovine artificial insemination, the use of egg yolk in semen extenders increases microbial contamination, making alternatives necessary. The objective of this study was to evaluate the effects of the liposome-based extender (Optixcell) and the Tris-egg yolk extender (Tris-YH) on sperm parameters of fresh and frozen-thawed semen, as well as the pregnancy rate in inseminated cows. Semen was collected from one bull, immediately diluted with Optixcell or Tris-YH, and evaluated for sperm parameters in the fresh state. Samples were then conventionally frozen, and both locally frozen-thawed and imported frozen-thawed semen were subsequently evaluated. Pregnancy diagnosis was performed 45 days after insemination. Fresh semen diluted with Optixcell and Tris-YH showed no significant differences in total motility ( $p=0.98$ ), progressive motility ( $p=0.81$ ), viability ( $p=0.64$ ), plasma membrane integrity ( $p=0.64$ ), or sperm abnormalities ( $p=0.36$ ). Similarly, no significant differences were observed in frozen-thawed semen ( $p>0.05$ ). However, imported frozen-thawed semen exhibited significantly higher total motility ( $p=0.004$ ), progressive motility ( $p=0.006$ ), viability ( $p=0.006$ ), and plasma membrane integrity ( $p=0.002$ ) compared to locally frozen-thawed semen. The pregnancy rate was similar ( $p=0.83$ ) between cows inseminated with imported and local semen. It is concluded that the Optixcell and Tris-YH extenders did not affect the sperm quality of fresh or locally frozen-thawed semen, whereas imported semen showed superior sperm parameters. Nevertheless, these differences did not result in improved pregnancy rates in inseminated cows.

**Key words:** Cryopreservation; Spermatozoon; Gestation; Optixcell; Egg yolk

### RESUMO

Na inseminação artificial bovina, o uso de gema de ovo em diluentes de sêmen aumenta a contaminação microbiana, tornando necessárias alternativas. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do diluente à base de lipossomos (Optixcell) e do diluente Tris-gema de ovo (Tris-YH) sobre os parâmetros espermáticos do sêmen fresco e descongelado, bem como a taxa de prenhez em vacas inseminadas. O sêmen foi coletado de um touro, imediatamente diluído com Optixcell ou Tris-YH e avaliado quanto aos parâmetros espermáticos no estado fresco. As amostras foram então congeladas de forma convencional, e tanto o sêmen descongelado local quanto o importado foram posteriormente avaliados. O diagnóstico de gestação foi realizado 45 dias após a inseminação. O sêmen fresco diluído com Optixcell e Tris-YH não apresentou diferenças significativas na motilidade total ( $p = 0,977$ ), motilidade progressiva ( $p=0.81$ ), viabilidade ( $p=0.64$ ), integridade da membrana plasmática ( $p=0.64$ ) ou anormalidades espermáticas ( $p=0.36$ ). Da mesma forma, não foram observadas diferenças significativas no sêmen descongelado ( $p>0.05$ ). No entanto, o sêmen descongelado importado apresentou motilidade total ( $p=0.004$ ), motilidade progressiva ( $p=0.006$ ), viabilidade ( $p=0.006$ ) e integridade da membrana plasmática ( $p=0.002$ ) significativamente superiores em comparação ao sêmen descongelado local. A taxa de prenhez foi semelhante ( $p=0.83$ ) entre vacas inseminadas com sêmen importado e local. Conclui-se que os diluentes Optixcell e Tris-YH não afetaram a qualidade espermática do sêmen fresco e do sêmen descongelado local, enquanto o sêmen importado apresentou parâmetros espermáticos superiores. No entanto, essas diferenças não se refletiram em maiores taxas de prenhez em vacas inseminadas.

**Palavras-chave:** Criopreservação; Espermatozoide; Gestação; Optixcell; Gema de ovo

## INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial es una biotecnología reproductiva utilizada para mejorar el potencial genético y productivo de los animales; con fines de aprovechar el germoplasma de machos genéticamente superiores. Uno de los factores que influyen en la tasa de éxito de la inseminación artificial es la calidad del semen congelado-descongelado, si esta es afectada, entonces la fertilidad baja (1). En el bovino, la inseminación artificial no solo cumple el papel de asegurar la preñez, si no tiene que ver en la producción animal.

El riesgo general de preñez de las vacas lecheras lactantes disminuyó en las últimas décadas, mientras la producción anual de leche por vaca aumentó alrededor de cuatro veces, por otro lado, la fertilidad disminuyó; por lo tanto, la tasa de concepción después del primer servicio disminuyó, también los intervalos entre partos aumentaron (2). La calidad del semen congelado del toro condiciona la fertilidad de la vaca, y uno de los factores que afecta la criopreservación del semen, es el dilutor. Por otro lado, el uso de la inseminación artificial en bovinos, especialmente a nivel rural, depende de los costos, estos son elevados dependiendo si es semen nacional o importado.

Actualmente, la industria ganadera depende en gran medida de la tecnología de criopreservación de semen (3). Comúnmente,

la yema de huevo de gallina se adiciona a los diluyentes de semen bovino en una concentración del 20%, este por contener proteína animal presenta el riesgo de contaminación microbiana. Los problemas asociados con el uso de los diluyentes tradicionales a base de yema de huevo, es la contaminación bacteriana o xenobiótica y la variabilidad en la composición de la yema de huevo (4). Por tanto, existe una creciente preocupación mundial, respecto a la seguridad microbiológica; es por ello, se están realizando estudios con el objetivo de desarrollar diluyentes químicamente definidos, libres de compuestos de origen animal.

La alternativa al diluyente a base de yema de huevo puede ser el diluyente a base de lecitina de soja y el diluyente a base de liposomas (5); es decir, diluyentes alternativos libres de productos de origen animal (6). Una alternativa son los liposomas, que son nanovesículas sintéticas, los cuales se integran en la membrana plasmática de los espermatozoides, ayudando a reparar los daños causados por la congelación y descongelación (3).

Existen estudios sobre el uso de liposomas y Tris-YH para evaluar parámetros espermáticos del semen, algunos con resultados favorables para los liposomas (5, 7-9); otros reportaron que no hay diferencia entre usar liposomas o Tris-YH (9-11). Estos estudios previos, todavía no están claros,

por lo que, se planteó el presente estudio con el objetivo de evaluar los diluyentes Optixcell y Tris-YH en los parámetros espermáticos del semen fresco y descongelado, local e importado, en inseminación artificial en bovinos.

El objetivo del estudio fue evaluar los diluyentes liposoma (Optixcell) y Tris-yema de huevo (Tris-YH) sobre los parámetros espermáticos del semen fresco y descongelado, comparados con semen importado, y la tasa de preñez en vacas inseminadas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización y animales

El estudio fue realizado en la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, Perú, entre enero a abril de 2022. Se utilizó un toro Simmental de 16 meses de edad, con condición corporal 3 (escala 1 a 5; 1=emaciado, 5=obeso), clínicamente sano. La alimentación fue a base de concentrado comercial y forraje a base de alfalfa, maíz chala y complementado con pasturas locales; cumpliendo los requerimientos nutricionales del NRC de acuerdo a su edad y genotipo. El animal tuvo manejo técnico en salud y zootecnia, estuvo ubicado en el centro de producción y experimental Pachachaca de la Universidad mencionada ( $13^{\circ}39'28"S$   $72^{\circ}55'23"W$ ), donde se realizó la colección del semen.

La evaluación y congelación del semen se realizó en el área del Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la misma universidad ( $13^{\circ}38'31"S$   $72^{\circ}53'17"W$ ). Para la inseminación artificial se utilizó vacas Holstein multíparas, clínicamente sanas, con manejo ganadero realizado por los propietarios agropecuarios locales.

Los procedimientos de manejo de los animales, congelación y evaluación del semen fueron aprobados y realizados en el Laboratorio de Histopatología, Embriología y Reproducción Animal de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, según proyecto de investigación aprobado con Resolución N° 496-2019-CU-UNAMBA.

### Diseño y colección del semen

Se formaron dos grupos con semen fresco, grupo 1: semen diluido con Optixcell; grupo 2: semen diluido con Tris-YH, ambos grupos se congelaron. Se evaluaron los parámetros espermáticos del semen fresco. Luego, al semen congelado manualmente se denominó semen local y al adquirido de Francia se llamó semen importado; a ambos se evaluaron los parámetros espermáticos como semen descongelado de Simmental. Se inseminaron a vacas con semen local e importado y se evaluaron las tasas de preñez. Los parámetros espermáticos evaluados fueron: porcentaje de

motilidad total, motilidad progresiva, vitalidad y permeabilidad de membrana plasmática del espermatozoide expresados en porcentajes, del semen fresco y descongelado. Se realizaron 10 colecciones de semen, divididos para los dos grupos Optixcell y Tris-YH.

Antes de la colección del semen, al toro se evaluó las condiciones reproductivas, luego se le entrenó saltos para la monta por alrededor de un mes. La colección de semen se realizó mediante vagina artificial, dos veces por semana, siguiendo los protocolos convencionales. Después de la colección, el semen se diluyó con una parte de los dilutores, transportándose en termo a 37 °C durante aproximadamente 30 min al laboratorio para su evaluación. Se obtuvo un volumen de  $4.2 \pm 1.1$  mL; color blanco cremoso, pH=7.0; concentración (vía hemocitometría)  $1350 \pm 305$  x 106 de espermatozoides / mL de semen.

### Diluyentes y congelamiento del semen

Se utilizaron dos diluyentes de semen bovino, uno comercial Optixcell (IMV Technologies, L'Aigle, France) a base de liposomas sin proteína animal; otro diluyente Tris-YH, compuesto por Tris (3.028 g) (Merk, Alemania), ácido cítrico (1.675 g), glucosa (1.25 g), penicilina (1000 IU/mL), estreptomicina (1000 µg/mL) (Sigma Chemical Co., EE. UU.) En 80 mL de agua bidestilada, al que se adicionó yema de huevo de gallina (20%) y glicerol 5%. Se calculó la cantidad de dilutor a

usarse con base a los parámetros espermáticos evaluados, considerando la dosis por pajuela 40 x 106 espermatozoides/mL de semen diluido.

Las muestras de semen diluidos se enfriaron lentamente hasta llegar a 5 °C durante 30 min aproximadamente, luego se colocaron en refrigeración a 5 °C por 4 horas como parte del periodo de equilibrio. Se utilizó la técnica convencional de congelamiento de dos pasos, donde una de las partes contenía dilutor con glicerol al 5% y la otra contenía semen diluido con dilutor, colocados independientemente en tubos cónicos de prolipropileno. Las pajuelas (Minitube, Alemania) rotuladas y otros materiales accesorios fueron refrigerados previamente. El empajillado de semen se realizó en pajuelas de 0.5 mL y sellados con polivinilo.

La congelación del semen fue en vapor de nitrógeno líquido utilizando una caja de poliestireno; las pajuelas se colocaron horizontalmente sobre una parrilla a una altura de 4 cm sobre la superficie del nitrógeno líquido durante 15 min, luego sumergidas (12), se monitorizó la temperatura con termocupla (Raguso, China) con cuatro sensores de temperatura. Posteriormente, las pajuelas fueron colocadas al balón criogénico (MVE, EE. UU) para su conservación, hasta su utilización. Las pajuelas se descongelaron en agua a 36 °C por 60 seg una semana poscongelación.

## Evaluación del semen

La motilidad total y motilidad progresiva de los espermatozoides se determinaron colocando 10  $\mu$ L de semen diluido, previamente diluido el semen fresco-dilutor (1:10 v/v), sobre una lámina portaobjeto cubierto con una laminilla cubreobjetos, colocados sobre una platina térmica para microscopio mantenida a 37 °C, luego se contabilizó 200 células espermáticas utilizando un microscopio (Carl Zeiss, Alemania) con objetivo 40x. La vitalidad espermática se evaluó mediante tinción de Eosina 2% - Nigrosina 4% (Minitube, Alemania), se colocaron 10  $\mu$ L de cada colorante supravital y semen diluido conservado a 37 °C sobre la lámina portaobjeto, luego se realizó el frotis para dejar secar, enseguida se observó con microscopio a 40x, los espermatozoides muertos se tiñeron de rojo rosáceo, los vivos no se colorearon.

Se contabilizaron 200 células espermáticas para calcular el porcentaje de espermatozoides vivos. Para determinar las anormalidades espermáticas se utilizaron las mismas láminas procesadas para la vitalidad espermática, contabilizando misma cantidad de espermatozoides. La evaluación de la permeabilidad de la membrana plasmática de los espermatozoides se realizó mediante la prueba hipoosmótica (HOST: 1.47 g citrato de sodio; 2.7 g

fructosa en 100 mL agua destilada), se colocó 0.1 mL de semen a 1 mL de solución hipoosmótica en viales de 2 mL, luego se incubó a 37 °C por 45 min, posteriormente se agregó 5  $\mu$ L de formaldehido al 4% para fijar los espermatozoides. Se observaron espermatozoides con cola enrollada, producto de la edematización. Luego, se colocaron sobre lámina portaobjeto cubierto con laminilla cubre objeto y se observó al microscopio a objetivo 40x, donde se contabilizaron las células espermáticas positivas al HOST. Todos los parámetros espermáticos, en semen fresco diluido o descongelado, fueron realizados con muestras mantenidas en baño María (Memmert, Alemania) a 35 °C.

## Inseminación y preñez

Se inseminaron vacas a celo detectado con una dosis de pajuela de semen congelado localmente o importado. La técnica de inseminación fue la convencional, vía transrectal con catéter de inseminación. El diagnóstico de preñez se realizó a los 45 días post inseminación utilizando ecógrafo con sonda lineal (Tringa Vet, Esaote, Italia). La inseminación y el diagnóstico de preñez fueron realizados por un mismo técnico. La tasa preñez fue calculada según vacas preñadas en relación a vacas inseminadas expresado en porcentaje.

## Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa InfoStat v 2020e. Los datos están expresados como media  $\pm$  desviación estándar. Se analizó el efecto dilutor Optixell o Tris-YH y semen congelado local o importado sobre los parámetros espermáticos y la tasa de preñez, mediante una prueba T (prueba T de muestra independiente). Se consideró significativo el valor  $P \leq 0.05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Parámetros espermáticos del semen fresco

Los resultados de los parámetros espermáticos del semen fresco del toro se encuentran en

la Tabla 1. El porcentaje de motilidad total de los espermatozoides fue similar ( $p=0.98$ ) entre los dilutores Optixcel y Tris-YH. También, el porcentaje de motilidad progresiva espermática fue similar ( $p=0.81$ ) para los dilutores Optixcel y Tris-YH. Así mismo, el porcentaje de vitalidad de los espermatozoides no fue diferente ( $p=0.64$ ) entre los dilutores Optixcel y Tris-YH. Tampoco se encontró diferencia ( $p=0.90$ ) entre los dilutores Optixcel y Tris en el porcentaje de integridad de la membrana plasmática de los espermatozoides frescos del toro. Las anormalidades espermáticas fueron similares ( $p=0.74$ ) entre ambos dilutores.

**Tabla 1.** Media ( $\% \pm$  DS) de parámetros espermáticos del semen fresco del toro, diluido con Optixcell y Tris-yema de huevo.

Dilutor	Motilidad total (%)	Motilidad progresiva (%)	Vitalidad (%)	Integridad de la membrana plasmática (%)	Anormalidades (%)
Optixcell	$80.60 \pm 8.27$	$73.42 \pm 6.86$	$82.74 \pm 8.23$	$71.02 \pm 7.48$	$8.02 \pm 1.22$
Tris-YH	$80.50 \pm 6.65$	$74.13 \pm 6.35$	$81.08 \pm 7.17$	$71.46 \pm 7.44$	$8.19 \pm 0.99$
<i>p</i> valor	0.98	0.81	0.64	0.90	0.74

### Parámetros espermáticos del semen descongelado

Los resultados de los parámetros de los espermatozoides del semen descongelado del toro se muestran en la Tabla 2. En el semen congelado localmente, los valores de los parámetros

espermáticos de porcentaje de motilidad total ( $p=0.88$ ), motilidad progresiva ( $p=0.90$ ), vitalidad ( $p=0.88$ ) e integridad de la membrana plasmática de los espermatozoides ( $p=0.71$ ) no mostraron diferencias entre los dilutores Optixcel y Tris-YH. Por otro lado, se encontró mayor ( $p=0.004$ )

porcentaje de motilidad total de espermatozoides en semen importado que en el semen local. Asimismo, hubo mayor ( $p=0.006$ ) porcentaje de motilidad progresiva espermática en semen importado en contraste con semen local. También, el porcentaje de vitalidad espermática fue mayor

( $p=0.006$ ) en semen importado frente al local. Finalmente, el porcentaje de integridad de la membrana plasmática de los espermatozoides fue superior ( $p=0.002$ ) en semen importado versus semen congelado localmente.

**Tabla 2.** Media (%  $\pm$  DS) de parámetros espermáticos del semen descongelado local diluido con Optixcell y Tris-yema de huevo, y semen descongelado local o importado.

Semen	Motilidad total (%)	Motilidad progresiva (%)	Vitalidad (%)	Integridad de la membrana plasmática (%)
Local				
Optixcel	54.70 $\pm$ 7.95	41.77 $\pm$ 6.45	58.29 $\pm$ 7.84	38.86 $\pm$ 7.93
Tris-YH	55.22 $\pm$ 6.87	42.14 $\pm$ 6.89	58.81 $\pm$ 6.97	40.12 $\pm$ 6.67
<i>p</i> valor	0.877	0.902	0.877	0.705
Local	54.96 $\pm$ 7.23 <sup>a</sup>	41.96 $\pm$ 6.50 <sup>a</sup>	58.55 $\pm$ 7.22 <sup>a</sup>	39.49 $\pm$ 7.16 <sup>a</sup>
Importado	62.13 $\pm$ 5.94 <sup>b</sup>	49.53 $\pm$ 8.86 <sup>b</sup>	65.39 $\pm$ 6.21 <sup>b</sup>	46.81 $\pm$ 5.26 <sup>b</sup>
<i>p</i> valor	0.004	0.006	0.006	0.002

Superíndices con letras diferentes dentro de la columna expresan diferencia ( $p \leq 0.05$ ).

## Tasa de preñez

Los resultados de tasa de preñez de vacas se muestran en la Tabla 3. El porcentaje de preñez fue similar ( $p=0.83$ ) en las vacas inseminadas con semen importado o semen congelado localmente.

**Tabla 3.** Tasa de preñez de vacas inseminadas con semen descongelado local o importado.

Semen	n	Preñez
Local		
Optixcel	15	8/15 (53.3%)
Tris-YH	14	6/14 (42.8%)
<i>p</i> valor		0.57
Local	29	14/29 (48.3%)
Importado	15	8/15 (53.3%)
<i>p</i> valor		0.75

## Discusión

La inseminación artificial en bovinos está en crecimiento, así como la producción de semen congelado. Uno de los factores que influye la criopreservación de los espermatozoides es el dilutor. Actualmente, hay discrepancia sobre el uso de proteína animal en los diluyentes, frente a esta situación aparecieron como alternativa el uso de liposomas en los diluyentes de semen. En el presente estudio se evaluaron los parámetros espermáticos, antes y después del congelamiento del semen diluido con Optixcell y Tris-YH, también se comparó la calidad espermática del semen congelado-descongelado local y semen importado; adicionalmente, se evaluó la tasa de preñez de vacas inseminadas.

En el presente estudio, en el semen fresco diluido, el porcentaje de motilidad total y motilidad progresiva de los espermatozoides no se observó diferencias entre los dilutores Optixcell y Tris-YH. Estos resultados están de acuerdo con los informes de Oliveira et al (10) para motilidad total; Kumar et al., (5) para motilidad progresiva de los espermatozoides, donde no encontraron diferencias entre los dilutores Optixcell y Tris-YH. También, en el presente experimento, no hubo diferencia entre el porcentaje de permeabilidad de la membrana plasmática de los espermatozoides, en semen fresco, diluidos con Optixcell y Tris-YH; estos hallazgos son

respaldados por Chaudhari et al., (13) Oliveira et al., (10) quienes afirman resultados similares.

La motilidad espermática es uno de los factores que afecta la fertilidad en la hembra (8,14). Los dilutores deben poseer características para mantener el equilibrio osmótico de los espermatozoides durante el proceso de congelación del semen, así asegurar su viabilidad. El Tris-YH es un dilutor convencional, mientras el Optixcell está siendo utilizado con mayor interés últimamente, ambos dilutores cumplirían con las características óptimas para la congelación del semen bovino, por tanto, los resultados en la criopreservación espermática tendrían respuestas similares.

En la presente investigación, el porcentaje de vitalidad y anormalidades espermáticas no mostraron diferencias entre dilutores Optixcell y Tris-YH. Estos resultados son respaldados por Chaudhari et al., (13) quienes no encontraron diferencias en porcentaje de vitalidad espermática, ni en cantidad de anormalidades espermáticas con los dilutores Optixcell y Tris-citrato-YH. Otro estudio, también indica que no hubo diferencia en la cantidad de anormalidades espermáticas en semen fresco diluido con Optixcell y Triladyl (10). Los parámetros espermáticos del semen fresco, diluido con Optixcell y Tris-YH, encontrados en el este estudio están dentro de los estándares requeridos para

la congelación del semen bovino. Se requiere mínimamente una motilidad >70%, vitalidad >70%, y anormalidades <25% de espermatozoides en semen fresco, para tener éxito en la congelación del semen (15,16).

En el presente estudio, no se encontró diferencia del porcentaje de motilidad total (~55%) después de la descongelación del semen entre dilutores Optixcell y Tris-YH. Estos resultados se encuentran dentro de 49.3%, 48.7% (10) a 55.9%, 58.1% (11) de motilidad total de espermatozoides descongelados, entre los dilutores Optixcell y Triladyl, respectivamente, en cada estudio no hubo diferencia entre los dilutores. Estos resultados, también son respaldados por Kang et al., (9) quienes indicaron que los porcentajes de motilidad total de los espermatozoides congelados-descongelados de toros fueron similares en los grupos Optixcell y Triladyl; y con BullXcell (6).

Contrariamente Kumar et al., (5); Naz et al. (7) señalan que la motilidad total espermática es mayor en semen diluido con Optixcell que con Tris-YH. Por otro lado, el porcentaje de motilidad progresiva (~42%) de espermatozoides descongelados fue similar entre los dilutores Optixcell y Tris-YH utilizados en el presente estudio. Estos hallazgos están de acuerdo con los informes de (17) quienes reportaron 42.1 y 40.4%; (18) 51.9 y 48.5% de motilidad progresiva

de los espermatozoides descongelados utilizando dilutores Optixcell y Tris-YH. También, Miguel-Jimenez et al. (19) Chaudhari et al., (13), y Singh et al., (14) no encontraron diferencias en motilidad progresiva de espermatozoides diluidos con Optixcell y Tris-YH, o con BullXcell como reporta Murphy et al (6). Otros investigadores indican que hay mayor motilidad progresiva de espermatozoides descongelados con el dilutor Optixcell que con Tris-YH (5, 7).

El porcentaje de vitalidad y la permeabilidad de la membrana plasmática de los espermatozoides descongelados, encontrados en la presente investigación, no muestran diferencias significativas entre los dilutores Optixcell y Tris-YH. Estos resultados son respaldados por Chaudhari et al., (13) y Singh et al., (14) quienes no encontraron diferencias en el porcentaje de vitalidad ni en la permeabilidad de la membrana plasmática de los espermatozoides descongelados cuando se utilizó dilutor Optixcell y Tris-YH. Del mismo modo, Singh et al., (18), Oliveira et al (10) informan que no se encontró diferencia al utilizar dichos dilutores en el porcentaje de permeabilidad de la membrana plasmática de los espermatozoides.

Otros estudios, relacionados a los parámetros espermáticos, reportaron que, el porcentaje de la integridad de la membrana plasmática fue mayor con el dilutor Optixcell que con dilutor Tris-YH

(8, 9). Asimismo, los valores de vitalidad (~58%) y la permeabilidad de la membrana plasmática de los espermatozoides (~39%) encontrados en el presente estudio, se encuentran dentro de 55.7% y 41.3% (20); 70.1% y 33.8% Tahmasbian et al (21) de vitalidad y permeabilidad de la membrana plasmática de los espermatozoides descongelados, respectivamente.

La motilidad es uno de los parámetros más importantes relacionados con la capacidad de fertilización del semen (8, 14); el uso del dilutor de semen de origen vegetal (Optixcell) responde similarmente como los dilutores de origen animal (Tris-YH) para proteger los espermatozoides durante el proceso de criopreservación (6). Cada dilutor tiene procesos de elaboraciones distintas. En la preparación de los liposomas, componente del Optixcell, se utiliza una composición y concentración óptima de fosfolípidos, su composición y estructura es precisa, además al momento del uso, la combinación es sencilla (5, 14). Estos liposomas, son nanovesículas sintéticas, que se integran en la membrana plasmática de los espermatozoides, ayudando a reparar los daños causados por la congelación-descongelación (3).

Por otro lado, la yema de huevo, usada en el dilutor Tris, tiene varias propiedades favorables para la criopreservación del semen, una de ellas es proporcionar lipoproteínas de baja densidad,

las cuales evitan la pérdida de fosfolípidos de la membrana espermática, aumentando así la tolerancia al choque térmico y al proceso de criopreservación (10). El uso de uno u otro dilutor de semen, en gran medida dependería de conservar la salud animal. Por lo que, el debate de utilizar dilutores de semen sin proteína animal, cada vez está en aumento; sin embargo, todavía requiere mayores estudios.

Los parámetros espermáticos encontrados, entre semen congelado local e importado, muestran diferencias en el presente estudio. Hubo mayor porcentaje de motilidad total, motilidad progresiva, vitalidad y permeabilidad de la membrana plasmática de los espermatozoides descongelados, en el semen importado que en el semen congelado localmente. Estas diferencias podrían atribuirse fundamentalmente al procedimiento de congelamiento del semen. Posiblemente el momento de uso del glicerol podría haber influido. Es ampliamente usada la dilución en dos pasos, porque el glicerol tiene menos toxicidad en la etapa de enfriamiento y equilibrio en el proceso de congelación del semen (21). También, la composición de los dilutores del semen, la técnica y materiales afectan la criopreservación espermática (19).

El semen importado, utilizado en el presente estudio, fue procedente de una empresa especializada en criopreservación, posiblemente

tenga equipos automáticos y materiales calibrados con fines comerciales. Para congelación del semen local se utilizó la técnica convencional con semen procedente de un toro menor a 1.5 años de edad, estos factores y otros, probablemente hayan condicionado la calidad espermática.

Respecto a la tasa de preñez en este estudio, no se encontró diferencias entre los porcentajes de preñez en vacas inseminadas con semen congelado diluido con Optixcell o Tris-YH, tampoco hubo diferencia entre semen local e importado. Estos resultados son respaldados por Murphy et al (6) quienes, a los 60 días, no encontraron diferencias en la tasa de no retorno de celo de vacas inseminadas con semen diluido con Optixcell o con Bullxcell. Contrariamente Naz et al (7) informaron una mayor tasa de fertilidad en búfalas inseminadas con semen congelado con diluyente Optixell que con el diluyente Tris-YH; Kang et al (9) reportaron mayor tasa de parto en vacas inseminadas con Optixcell versus Triladyl. Las diferencias podrían atribuirse al menor tamaño de muestra que se utilizó en el presente estudio, a este factor se sumaría la condición corporal, estado reproductivo y el manejo de los animales.

Sin embargo, la calidad espermática del semen congelado localmente sería suficiente para alcanzar una tasa de preñez similar al semen importado, probablemente esta especulación cambiaría con mayor número de repeticiones.

Considerando los diluyentes del semen, Murphy et al (6) sugieren que para proteger los espermatozoides durante el proceso de criopreservación los diluyentes de origen vegetal son tan eficaces como los diluyentes de yema de huevo, aspecto que repercutiría en la preñez de las vacas. En consecuencia, los resultados del presente estudio sugieren que, se podría utilizar cualquiera de los diluyentes sea Optixcell o Tris-YH en la congelación del semen bovino; sin embargo, habría necesidad realizar más estudios con mayor número de muestras y en campo, orientado al uso del semen congelado local o importado considerando los costos en la inseminación bovina.

## CONCLUSIONES

Bajo las condiciones del presente experimento, los parámetros espermáticos, porcentaje de motilidad total, motilidad progresiva, vitalidad y permeabilidad de la membrana plasmática de los espermatozoides del toro, fueron similares entre los diluyentes Optixcell y Tris-YH en semen local, tanto fresco como descongelado. El semen importado descongelado presentó una mejor calidad espermática en comparación con el semen local. La tasa de preñez fue similar entre las vacas inseminadas con semen local (Optixcell o Tris-YH) e importado.

**CONFLICTO DE INTERESES.** Los autores declaran que no existe conflicto de intereses para la publicación del presente artículo científico.

## REFERENCIAS

1. Adiputra D, Maulana T, Kaiin E, Hasbi H, Sonjaya H. The Semen Quality Of Bali And Simmental Bulls Reared In Technical Implementation Unit Of Regional Artificial Insemination Center At Pucak, South Sulawesi. *Adv Anim Vet Sci.* 2022; 10(12):2562–70. <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2022/10.12.2562.2570>
2. Stevenson J. Synchronization and Artificial Insemination Strategies in Dairy Herds. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice.* 2016; 32(2):349–64. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.01.007>
3. Ibrahim M. Bull sperm cryopreservation: An overview on the current status and future perspectives. *German Journal of Veterinary Research.* German Multidisciplinary Publishing Center 2024; 9–22. <https://doi.org/10.51585/gjvr.2024.1.0071>
4. Chaudhari D, Dhami A, Hadiya K, Patel J. Relative efficacy of egg yolk and soya milk-based extenders for cryopreservation (-196°C) of buffalo semen. *Vet World.* 2015;8(2):239–44. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.239-244>
5. Kumar P, Saini M, Kumar D, Balhara A, Yadav S, Singh P, et al. Liposome-based semen extender is suitable alternative to egg yolk-based extender for cryopreservation of buffalo (*Bubalus bubalis*) semen. *Anim Reprod Sci.* 2015; 159:38–45. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.05.010>
6. Murphy E, O'Meara C, Eivers B, Lonergan P, Fair S. Comparison of plant- and egg yolk-based semen diluents on in vitro sperm kinematics and in vivo fertility of frozen-thawed bull semen. *Anim Reprod Sci.* 2018; 191:70–5. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.02.010>
7. Naz S, Umair M, Iqbal S. Comparison of Tris egg yolk-based, Triladyl® and Optixell® extender on post-thaw quality, Kinematics and in vivo fertility of Nili Ravi Buffalo (*Bubalus bubalis*) bull spermatozoa. *Andrologia.* 2018; e13063. <https://doi.org/10.1111/and.13063>
8. Ansari M, Rakha B, Akhter S. Cryopreservation of bull semen in OptiXcell® and conventional extenders: Comparison of semen quality and fertility. *Anim Sci Pap Rep.* 2017;35(3):317–28.
9. Kang S, Kim U, Lee S, Yang B, Yang B, Cho S. Effect of Optixcell and Triladyl extenders on frozen-thawed sperm motilities and calving rates following artificial insemination in Hanwoo. *Korean Journal of Agricultural Science.* 2019;46(1):195–204. <https://doi.org/10.7744/kjoas.20190009>
10. Oliveira K, Zandonaide P, Severo N, Gomes A, Igarasi M, Quintal P, et al. Comparação de diluidores comerciais na motilidade, funcionalidade e integridade da membrana plasmática do espermatozoide bovino. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária.* 2018;25(2):67–71. <https://doi.org/10.4322/rbcv.2018.013>
11. Fleisch A, Malama E, Witschi U, Leiding C, Siuda M, Janett F, et al. Effects of an extension of the equilibration period up to 96 hours on the characteristics of cryopreserved bull semen. *Theriogenology.* 2017; 89:255–62. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.10.018>
12. Varela E, Rojas M, Restrepo G. Association between conventional and computerized sperm quality parameters with flow cytometric evaluation of frozen bovine semen. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru.* 2020; 31(4):e19023. <https://doi.org/10.15381/RIVEP.V31I4.19023>
13. Chaudhari D, Patel J, Hadiya K, Dhami A. Influence of Seasons and Extenders on Quality and Freezability of Gir Bull Semen under Middle Gujarat Climate. *The Indian Journal of Veterinary Sciences & Biotechnology [Internet].* 2018;13(3):95–100. <https://doi.org/10.21887/ijvsbt.v13i3.10632>
14. Singh AK, Kumar A, Honparkhe M, Kaur S, Kaur H, Ghuman SPS, et al. Comparison of in vitro and in vivo fertilizing potential of buffalo bull semen frozen in egg yolk-, soya bean lecithin- and liposome-based extenders. *Reproduction in Domestic Animals.* 2018; 53(1):195–202. <https://doi.org/10.1111/rda.13092>

- 15.** Barth A, Oko RJ. Abnormal morphology of bovine spermatozoa. Ames, Iowa, U.S.A.: Ames: Iowa State University Press, 1989; 1989.
- 16.** Ax R.L., Dally M., Didion B.A., Lenz R.W., Love C.C., Varner D.D., et al. Evaluación del semen. In: Hafez ESE, Hafez B, editors. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7<sup>º</sup>ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2000. 375–86.
- 17.** Chaudhary P, Dhami A, Chaudhari D, Pathan M. Leakage of transaminases during cryopreservation of cattle and buffalo semen in egg yolk tris and soya bean milk based extenders. Indian Journal of Animal Reproduction. 2018;39(2):32–5.
- 18.** Singh A, Bhakat M, Mohanty T, Mondal S, Yadav S, Kumar P, et al. Effect of Tris-egg Yolk, Soya Milk, and Liposome-based Extenders on Sahiwal (*Bos indicus*) Sperm Quality during Pre- and Post-Cryopreservation Stages. CryoLetters. 2019;40(2):94–102. <https://www.researchgate.net/publication/333191935>
- 19.** Miguel-Jimenez S, Rivera del Alamo M, Álvarez-Rodríguez M, Hidalgo CO Peña A, Muñoz R, et al. In vitro assessment of egg yolk-, soya bean lecithin- and liposome-based extenders for cryopreservation of dairy bull semen. Anim Reprod Sci. 2020; 215:106315. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106315>
- 20.** Olfati R, Daghig H, Ashrafi I. Effects of in combination antioxidant supplementation on microscopic and oxidative parameters of freeze-thaw bull sperm. Cell Tissue Bank. 2014;15(3):461–70. <https://doi.org/10.1007/s10561-013-9412-y>
- 21.** Tahmasbian H, Ayen E, Khaki A. Evaluation of the effects of hesperidin on fresh and frozen-thawed semen quality using two different cryopreservation methods in Simmental bull. Anim Reprod. 2022;19(3):e20220042. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2022-0042>