



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS

AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

EVALUACIÓN DE LA CURVA DE SOBREVIVENCIA

ESPERMÁTICA EN UN COOLER EN DIFERENTES

INTERVALOS DE TIEMPO

PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL

TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO

AUTOR: MICHAEL XAVIER SUQUI PINOS

DIRECTOR: DR. ÁNDRES LEONARDO MOSCOSO PIEDRA MSC.

CUENCA - ECUADOR

2026

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS

AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

EVALUACIÓN DE LA CURVA DE SOBREVIVENCIA

ESPERMÁTICA EN UN COOLER EN DIFERENTES

INTERVALOS DE TIEMPO

PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL

TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO

AUTOR: MICHAEL XAVIER SUQUI PINOS

DIRECTOR: DR. ÁNDRES LEONARDO MOSCOSO PIEDRA MSC.

CUENCA-ECUADOR

2026

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

Declaratoria de Autoría y Responsabilidad

Michael Xavier Suqui Pinos portador de la cédula de ciudadanía N° **0302267141**. Declaro ser el autor de la obra: “**Evaluación de la curva de sobrevivencia espermática en un cooler en diferentes intervalos de tiempo**”, sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, **17 de marzo de 2026**



F:

Michael Xavier Suqui Pinos

C.I. 0302267141

CERTIFICACIÓN

Yo Dr. Andrés Leonardo Moscoso Piedra. Mgs, con cédula de identidad N° 0104156443 en calidad de director del trabajo de titulación con el tema **“Evaluación de la curva de sobrevivencia espermática en un cooler en diferentes intervalos de tiempo”** certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Michael Xavier Suqui Pinos bajo mi supervisión.

Atentamente,

ANDRES
LEONARDO
MOSCOSO
PIEDRA

Firmado
digitalmente por
ANDRES LEONARDO
MOSCOSO PIEDRA
Fecha: 2026.02.25
09:17:23 -05'00'

Dr. Andrés Moscoso Piedra, Mgs.
Director de Tesis

Evaluación de la curva de sobrevivencia espermática en un cooler en diferentes intervalos de tiempo

Evaluation of the sperm survival curve in a cooler at different time intervals

Michael Xavier Suqui Pinos

michael.suqui.41@est.ucacue.edu.ec

<https://orcid.org/0009-0007-6431-3224>

Universidad Católica de Cuenca

Ecuador

Manuel Esteban Maldonado Cornejo

mmaldonadoc@ucacue.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0002-1507-2280>

Universidad Católica de Cuenca

Ecuador

Juan Carlos Alvarado Alvarado

jalvaradoa@ucacue.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0002-7240-179X>

Universidad Católica de Cuenca

Ecuador

Andrés Leonardo Moscoso Piedra

amoscosop@ucacue.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0002-4017-0165>

Universidad Católica de Cuenca

Ecuador

RESUMEN

La producción ovina en Ecuador enfrenta una reducción sostenida del hato nacional y limitaciones para aplicar biotecnologías reproductivas. Este estudio evaluó la curva de supervivencia espermática de semen ovino diluido con Triladyl® y refrigerado a 5°C en cooler bajo condiciones de campo. Se analizaron viabilidad (Eosina-Negrosina), integridad de membrana (HOST) y motilidad progresiva entre 0 y 24 horas mediante ANOVA ($p < 0,05$) y regresiones lineales. La investigación se desarrolló en la Universidad Católica de Cuenca, dentro del proyecto comunitario de reactivación ovina, para lo que se utilizó 12 eyaculados de carneros de fertilidad probada recolectados por vagina artificial. No se observaron diferencias significativas en los parámetros evaluados; sin embargo, las regresiones evidenciaron un deterioro gradual desde las 2–6 horas, con posterior estabilización. Se concluye que la refrigeración en cooler mantiene parámetros viables durante 24 horas, constituyendo una alternativa accesible para programas reproductivos en la zona andina bajo condiciones productivas reales.

Palabras clave: Ecuador; Eyaculación; Ovino; Refrigeración.

ABSTRACT

Sheep production in Ecuador is experiencing a sustained decline in the national flock, coupled with constraints limiting the implementation of reproductive biotechnologies. This study evaluated the sperm survival curve of ram semen diluted with Triladyl® and refrigerated at 5°C in a cooler under field conditions. Viability (Eosin–Nigrosin), membrane integrity (HOST), and progressive motility were assessed from 0 to 24 hours using ANOVA ($p < 0.05$) and linear regression analyses. The research was conducted at Universidad Católica de Cuenca within a community outreach project aimed at reactivating sheep production through the establishment of a germplasm bank using ejaculates from fertility-proven rams collected via artificial vagina.

No significant differences were detected among the evaluated parameters; however, regression analyses revealed a gradual decline beginning at 2–6 hours, followed by subsequent stabilization. It is concluded that cooler refrigeration preserves viable seminal parameters for up to 24 hours, representing an accessible alternative for reproductive programs under real production conditions in the Andean region.

Keywords: Ecuador; Ejaculates; Ovine; Refrigeration

Recibido: 20 enero 2026 | Aceptado: 22 febrero 2026 | Publicado: 23 febrero 2026

INTRODUCCIÓN

La conservación del material genético ovino ha sido, desde hace siglos, una técnica fundamental para garantizar la continuidad de ejemplares de alta calidad genética. Sin embargo, una vez que el semen es extraído del tracto reproductor masculino, los espermatozoides quedan expuestos a condiciones desfavorables que afectan directamente su viabilidad, motilidad y capacidad de fertilización (Ruiz G. et al., 2015). En este contexto, el uso de diluyentes especializados resulta esencial para minimizar los efectos negativos del manejo extracorporal y preservar la funcionalidad espermática.

Dentro de este marco, el empleo de diluyentes comprobados científicamente, como el Triladyl®, ha demostrado ser fundamental para mantener la integridad funcional de las células espermáticas (Martínez-Duran et al., 2022). Este diluyente, formulado a base de yema de huevo, agua bidestilada y el concentrado comercial, cumple un rol protector frente al choque térmico y aporta nutrientes necesarios para la supervivencia celular. Por lo tanto, el uso adecuado de diluyentes especializados constituye una herramienta clave para mejorar la calidad del semen refrigerado.

En el ámbito local, la producción ovina en Ecuador ha presentado una tendencia decreciente, pasando de aproximadamente 619 mil a 448 mil cabezas en un periodo de diez años, lo que hace imprescindible optimizar las técnicas de inseminación artificial para fortalecer la eficiencia reproductiva del sector (INEC, 2025). Frente a esta realidad, se vuelve prioritario mejorar el manejo del semen ovino como una estrategia para contrarrestar la reducción del hato nacional.

El problema central de esta investigación radica en que, aunque el semen ovino puede conservarse a una temperatura de 5 °C, su cinética espermática suele deteriorarse de manera considerable cuando se manipula bajo condiciones de campo (Maroto, 2020). Esta limitación afecta directamente el éxito de los programas de inseminación artificial, evidenciando la

necesidad de evaluar con mayor precisión los efectos del almacenamiento en condiciones reales.

Diversos estudios indican que la refrigeración a +5 °C reduce de manera reversible el metabolismo espermático en condiciones controladas de laboratorio; sin embargo, durante el manejo en campo, esta misma práctica puede ocasionar daños irreversibles en la membrana espermática, comprometiendo la viabilidad del semen (Pérez, 2020). En consecuencia, las diferencias entre el laboratorio y el campo representan un factor crítico que debe ser considerado en los protocolos de conservación seminal.

Finalmente, se ha demostrado que el semen ovino diluido y refrigerado a 5 °C puede mantener una motilidad progresiva individual elevada, entre el 82 y 87 %, y una viabilidad de 68 a 71 % tras 24 horas de almacenamiento (Naim et al., 2009). No obstante, bajo condiciones de manejo en campo, se plantea como hipótesis que la progresividad espermática disminuye de forma paulatina dentro del cooler a partir de la segunda hora posterior a la colecta.

En las gónadas de los carneros son las responsables de la estacionalidad y de la fisiología reproductiva del macho ovino. En ellas se encuentran células especializadas, como las células de Leydig, encargadas de producir testosterona, hormona necesaria para la espermatogénesis, la libido y el correcto funcionamiento de los órganos reproductores secundarios como la próstata, las vesículas seminales y las glándulas de Cowper (Quishpi, 2021). Por lo que el adecuado funcionamiento testicular es indispensable para una correcta producción espermática y actividad reproductiva en el carnero.

La madurez sexual de los ovinos inicia aproximadamente entre los 5 y 8 meses de edad, debido a la acción de la GnRH sobre la liberación de LH, lo que genera cambios en la maduración testicular y permite la aparición del comportamiento sexual. La producción espermática se desarrolla en un ciclo de alrededor de 49 días, durante el cual ocurre la división y diferenciación celular, produciendo cerca de 20 millones de espermatozoides por gramo de

testículo al día (Inca, 2023). Siendo así que la producción de espermatozoides es un proceso continuo y dependiente de la madurez hormonal del animal.

La espermatogénesis, es un proceso cíclico altamente regulado que ocurre en los túbulos seminíferos, iniciando con la proliferación de espermatogonias y culminando en la formación de espermatozoides maduros tras aproximadamente 49 días, influenciado por la testosterona de las células de Leydig y la estacionalidad fotoperiódica (Morocho, 2021). Estudios recientes confirman que en temporada reproductiva (otoño), la producción alcanza 15-25 millones de espermatozoides por gramo de testículo diario, con fases de multiplicación, crecimiento, meiosis y espermiogénesis que dependen de un eje hipotálamo-hipofisario-gonadal óptimo, donde picos de FSH y LH aceleran la diferenciación celular (Ojeda et al., 2021). Alteraciones como estrés térmico o desnutrición reducen la eficiencia hasta en un 40%, subrayando la necesidad de manejo nutricional y ambiental para maximizar la calidad espermática en programas de mejoramiento genético ovino (Nieto-Aquino et al., 2025).

El semen del macho ovino presenta un volumen promedio de 1,2 a 1,5 ml por eyaculado, el cual varía según la edad, condición corporal, estado reproductivo y método de recolección. La concentración espermática puede oscilar entre 3.500 y 6.000 millones de espermatozoides por mililitro, y normalmente presenta una consistencia acuosa (Ramírez, 2022). Lo que nos dice que las características del semen pueden variar según el estado del animal y las condiciones de manejo.

El Triladyl® es un diluyente a base de TRIS que contiene ácido cítrico, azúcares, tampones, glicerina, agua purificada y antibióticos. Se prepara inicialmente como solución madre con agua destilada, la cual puede conservarse refrigerada a 5 °C por varios días, y al momento de su uso se adiciona yema de huevo fresca para su aplicación en la conservación y criopreservación seminal (ARBiotech, 2022; Loja, 2021). Por lo que, el uso de Triladyl® contribuye a proteger a los espermatozoides durante los procesos de conservación. La

reproducción ovina es un pilar para la producción y el mejoramiento genético. La calidad y viabilidad del esperma influyen directamente en las tasas de fertilización y en la eficiencia reproductiva, especialmente en técnicas como la inseminación artificial y la transferencia de embriones (Emsen, 2025). En conclusión, evaluar la calidad seminal es fundamental para el éxito reproductivo en ovinos.

La evaluación de la calidad seminal en carneros mediante curvas de supervivencia proporciona una herramienta cuantitativa esencial para optimizar protocolos de conservación (Ulloa & Condo, 2019). Estudios recientes utilizando el método de Kaplan-Meier han demostrado que la proporción de espermatozoides viables disminuye exponencialmente después de 48 horas en diluyentes como Triladyl®, con tasas de supervivencia del 70% a 5°C, pero cayendo por debajo del 40% a temperaturas superiores (Ojeda et al., 2021). Estos análisis permiten comparar diluyentes y condiciones ambientales, identificando umbrales críticos para inseminación artificial con éxito superior al 60% (Gallegos-Sánchez et al., 2021).

Las curvas de supervivencia permiten analizar cómo disminuye la proporción de espermatozoides viables a lo largo del tiempo. Estas herramientas son útiles para determinar cuánto tiempo el semen mantiene su funcionalidad bajo distintas condiciones de almacenamiento (Chale, 2021). Estas curvas de supervivencia facilitan la evaluación temporal de la viabilidad espermática.

La supervivencia espermática se define como la capacidad del esperma para mantenerse viable después de su recolección. Factores como la temperatura, la humedad y el medio de conservación influyen directamente en este proceso y pueden acelerar la pérdida de viabilidad celular (Ojeda et al., 2021), siendo así que la viabilidad espermática depende en gran medida de las condiciones de conservación.

Para analizar la supervivencia espermática se emplean modelos estadísticos como Kaplan-Meier y el modelo de riesgos proporcionales de Cox, los cuales permiten evaluar el

tiempo de viabilidad y los factores asociados a su disminución (Lee, 2023). Por lo que el uso de modelos estadísticos mejora la interpretación de la supervivencia espermática.

La temperatura es un factor clave en la conservación del semen, ya que tanto la refrigeración como la congelación mal controlada pueden provocar daños estructurales en los espermatozoides y afectar su funcionalidad (Montalban, 2020). Siendo fundamental un control adecuado de la temperatura es necesario para mantener la calidad espermática.

La humedad del ambiente de almacenamiento también influye en la viabilidad del esperma, ya que niveles extremos, como la deshidratación o el exceso de humedad, afectan negativamente la estructura celular (Gallo, 2020). Por lo que la humedad es un factor ambiental que debe ser controlado durante la conservación seminal.

El control de temperatura y humedad durante el almacenamiento es crucial para mitigar daños criobiológicos en espermatozoides ovinos. Investigaciones de los últimos años indican que fluctuaciones por encima de 37°C provocan disrupción acrosomal en hasta el 30% de las células, mientras que la deshidratación relativa (humedad <50%) acelera la apoptosis, reduciendo la motilidad progresiva en un 25% por día (Nieto-Aquino et al., 2025). Por ello, protocolos integrados con refrigeración estable a 5°C y humedad controlada al 60-70% extienden la viabilidad hasta 72 horas, mejorando la eficiencia reproductiva en sistemas intensivos (Ojeda et al., 2021).

Finalmente, la motilidad espermática se evalúa en distintos intervalos de tiempo como un indicador de funcionalidad, debido a su relación directa con la capacidad de desplazamiento y fecundación del espermatozoide (Ipuz, 2023). Lo que determina que la motilidad es un parámetro esencial para valorar la capacidad fertilizante del semen.

La motilidad espermática progresiva, evaluada mediante microscopía en intervalos temporales (0, 24, 48 y 72 horas), se posiciona como el indicador más confiable de la capacidad fertilizante en semen ovino conservado (Ulloa & Condo, 2019). Investigaciones

recientes destacan que diluyentes como Triladyl® mantienen motilidades superiores al 65% a las 48 horas bajo refrigeración controlada, correlacionándose directamente con tasas de concepción del 55-70% en inseminaciones artificiales, mientras que descensos por debajo del 40% comprometen la fertilidad (Ojeda et al., 2021). Este parámetro, combinado con integridad de membrana vía eosina-nigrosina, permite predecir con precisión la viabilidad funcional y optimizar el manejo genético en poblaciones ovinas. Por ello, el objetivo del presente estudio fue evaluar la curva de sobrevivencia espermática del semen ovino almacenado en un cooler bajo refrigeración controlada (5 °C) en distintos intervalos de tiempo, con el fin de aportar información útil para mejorar las prácticas de conservación seminal en condiciones reales.

METODOLOGÍA

El estudio se llevó a cabo en los laboratorios de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Católica de Cuenca, bajo condiciones ambientales estandarizadas.

Las variables dependientes evaluadas fueron la viabilidad espermática, determinada mediante las pruebas de Eosina-Nigrosina y Yoduro de Propidio (Paucar Quito et al., 2025); la permeabilidad de la membrana plasmática, evaluada a través de la prueba HOST (Lema Guamán et al., 2025); y la cinética espermática, analizada por medio del sistema CASA (Valdez-Pinargote et al., 2024).

La variable independiente correspondió al tiempo de refrigeración, establecido en los intervalos de 0, 1, 2, 6 y 24 horas.

Para la ejecución del experimento se seleccionaron reproductores ovinos con condición corporal óptima y antecedentes de alta fertilidad. La obtención del semen se realizó mediante el método de vagina artificial, lo que permitió recolectar los eyaculados a una temperatura controlada de 37 °C, reduciendo el impacto térmico inicial.

Inmediatamente después de la colecta, cada muestra fue sometida a una evaluación macroscópica y microscópica (Primostar 3-Zeiss) (Valdez-Pinargote et al., 2024). Solo se incluyeron en el estudio aquellos eyaculados que presentaron una motilidad superior al 70 % y una concentración espermática adecuada, los cuales fueron destinados al proceso de refrigeración.

Las muestras seleccionadas fueron diluidas con el medio Triladyl® suplementado con yema de huevo. El enfriamiento se realizó de manera gradual hasta alcanzar una temperatura estable de 5 °C, tras lo cual las dosis seminales fueron colocadas en un cooler para simular las condiciones habituales de almacenamiento y transporte (Farfán-Alvarado et al., 2025).

Para la determinación de la curva de sobrevivencia, se realizaron evaluaciones periódicas de la cinética espermática utilizando un sistema de Análisis Espermático Asistido por Computadora (CASA), este sistema permitió medir parámetros como la velocidad curvilínea (VCL), la velocidad promedio de trayectoria (VAP) y los índices de linealidad (LIN) y rectitud (STR), brindando información detallada sobre el comportamiento espermático en cada tiempo de refrigeración (Guamarrigra Sanchez et al., 2025).

Finalmente, el análisis estadístico se basó en un diseño de bloques completos al azar para cada tiempo realizando un ANOVA y la prueba de comparación de medias de Tukey, considerando un nivel de significancia de $p < 0,05$.

Posteriormente, se realizó una regresión lineal y cuadrática para determinar los tiempos óptimos de refrigeración en relación a los valores referenciales.

RESULTADOS

Tabla 1.

ANOVA de Eosina, Host y Progresividad de 0 a 24 horas.

Horas	EOSINA (Media \pm D.E.)	HOST (Media \pm D.E.)	PROGRESIVOS (%) (Media \pm D.E.)
0	0,47 \pm 0,22	0,86 \pm 0,09	40,05 \pm 12,13
1	0,44 \pm 0,22	0,82 \pm 0,10	34,29 \pm 12,16
2	0,51 \pm 0,23	0,79 \pm 0,16	39,74 \pm 17,45
6	0,64 \pm 0,22	0,84 \pm 0,12	36,45 \pm 18,19
24	0,46 \pm 0,19	0,81 \pm 0,14	31,50 \pm 12,80
Valor p	0,921	0,704	0,464

El análisis de varianza (ANOVA) realizado para evaluar el efecto del tiempo de almacenamiento bajo refrigeración en Cooler, sobre la calidad del semen ovino mostró que no se registraron diferencias estadísticamente significativas entre las horas ($p > 0,05$) evaluadas para ninguna de las variables estudiadas.

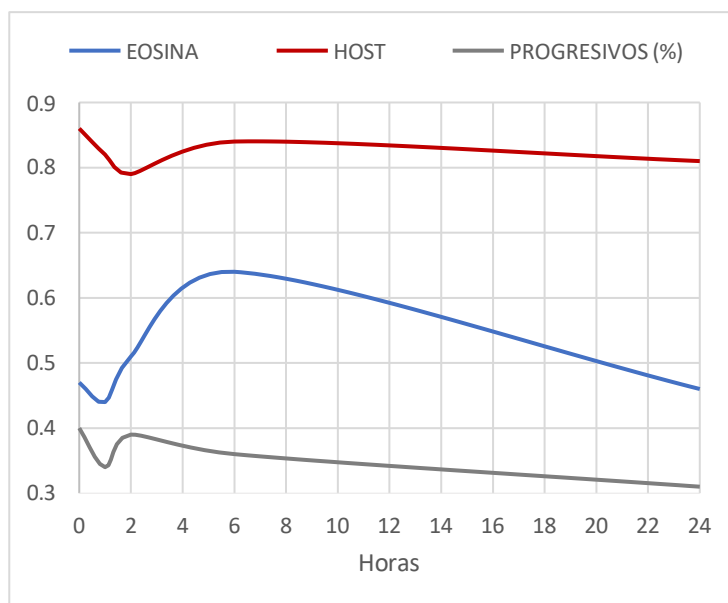
En relación con la viabilidad espermática evaluada mediante la tinción eosina-negrosina, los promedios obtenidos en las diferentes horas post colección presentaron variaciones leves, sin un patrón claro de aumento o disminución con el tiempo. El valor de significancia ($p = 0,921$) indica que estas variaciones no son relevantes lo que sugiere que la refrigeración en Cooler permitió mantener la viabilidad espermática durante todo el periodo de 24 horas evaluación.

De manera similar, la integridad de la membrana plasmática, determinada mediante la prueba HOST, mostró valores medios relativamente constantes entre las distintas horas de almacenamiento. El análisis estadístico ($p = 0,704$) evidencia que el tiempo de refrigeración no tuvo un efecto significativo sobre la permeabilidad de la membrana, lo que refleja una adecuada estabilidad celular de los espermatozoides bajo las condiciones del estudio.

En cuanto a la motilidad progresiva, se observó una tendencia a la disminución gradual a las 24 horas post colección, sin embargo, esta reducción no alcanzó significancia estadística ($p = 0,464$), lo que indica que, a pesar de la disminución numérica, la variabilidad observada entre muestras impidió detectar diferencias significativas entre los tiempos evaluados.

Figura 1

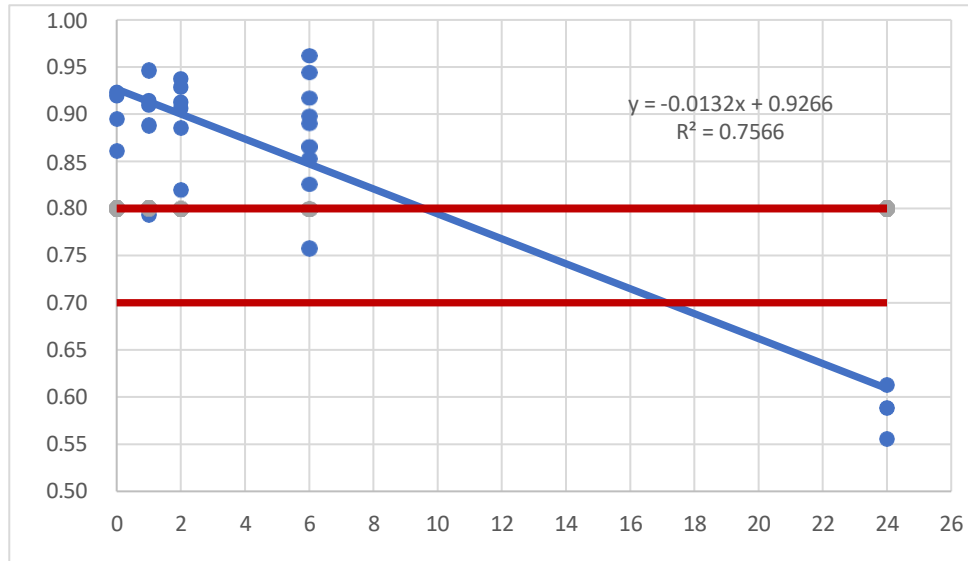
Curvas de Variación percentil para Eosina, Host y Progresividad.



Los resultados del ANOVA indican que el almacenamiento del semen ovino en Cooler con refrigeración controlada no produjo cambios estadísticamente significativos en la viabilidad espermática, la integridad de la membrana plasmática ni la motilidad progresiva durante las primeras 24 horas post colección, lo que sugiere que este método de conservación permite mantener parámetros espermáticos aceptables en el tiempo. Las curvas representadas en la Figura 1. refleja un proceso de disminución de la calidad espermática en las primeras horas de evaluación (2-4horas), para su posterior estabilización.

Figura 2

Disminución de Integridad de la membrana (HOST), dentro de las primeras 24 horas en relación a los valores óptimos.

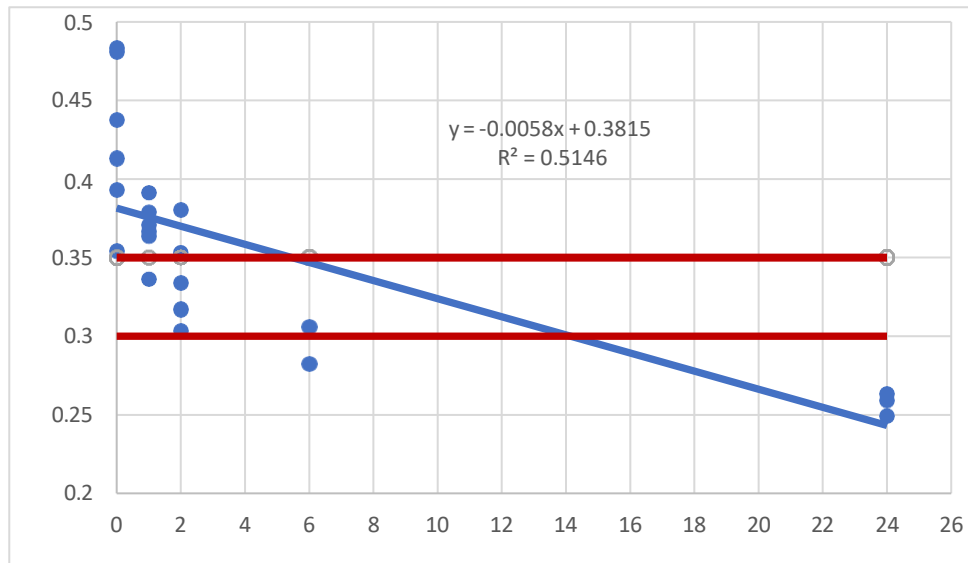


La Figura 2. muestra la relación entre el tiempo de almacenamiento (horas) y la integridad de la membrana espermática, evaluada mediante la prueba HOST, en semen ovino conservado en Cooler bajo refrigeración. Los puntos representan los valores individuales obtenidos en cada tiempo, mientras que la línea azul corresponde a la regresión lineal del comportamiento de la variable a lo largo del tiempo.

La ecuación de la recta ($y = -0,0132x + 0,9266$) indica una tendencia negativa, es decir, a medida que aumentan las horas de almacenamiento, la respuesta positiva al HOST disminuye de forma progresiva. Esto sugiere que el tiempo ejerce un efecto gradual sobre la integridad de la membrana plasmática de los espermatozoides. El valor de $R^2 = 0,7566$ muestra una alta relación entre el tiempo y la variable evaluada, lo que indica que una proporción importante de la variación observada puede explicarse por el tiempo de almacenamiento. Podemos ver que el porcentaje óptimo corta a las 9,5 horas y corta en el punto mínimo a las 17,5 horas.

Figura 3

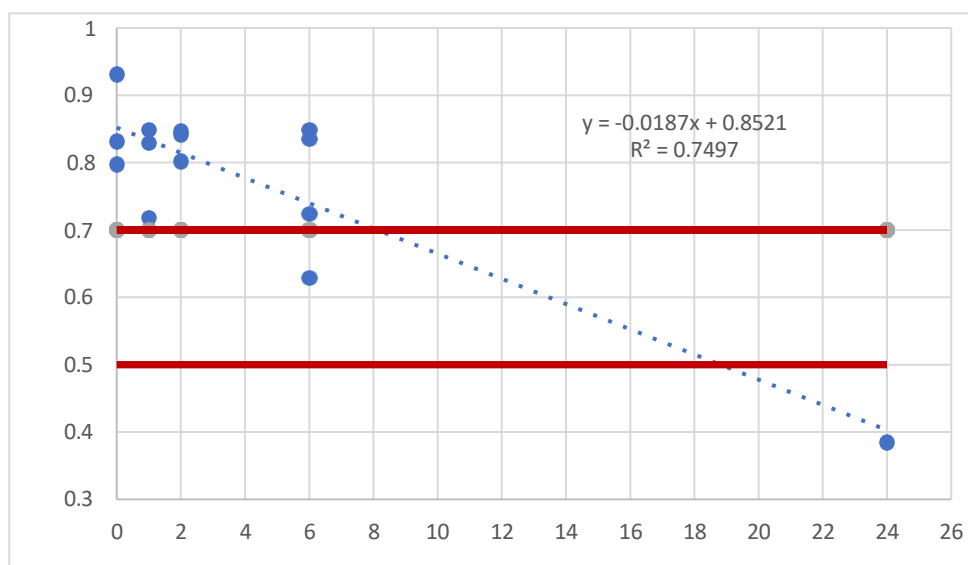
Disminución de Progresividad (EOSINA), dentro de las primeras 24 horas en relación a los valores óptimos.



La Figura 3, representa la disminución de progresividad, dentro de las primeras 24 horas en relación a los valores óptimos, donde la ecuación de la regresión ($y = -0,0058x + 0,3815$) indica una tendencia descendente, lo que sugiere que, conforme aumenta el tiempo de almacenamiento, se produce una disminución progresiva en la viabilidad espermática. El valor de $R^2 = 0,5146$ muestra una relación moderada entre el tiempo y la respuesta a la eosina, indicando que parte de la variación observada se explica por el efecto del tiempo de refrigeración. Mi valor óptimo en las 24 horas fue a las 5,5 horas y alcanzo el mínimo a las 14 horas.

Figura 4

Disminución de Viabilidad, dentro de las primeras 24 horas en relación a los valores óptimos.



La ecuación de regresión ($y = -0,0058x + 0,3815$) indica una tendencia negativa leve, lo que sugiere que la viabilidad espermática disminuye progresivamente conforme aumenta el tiempo de conservación. El valor de $R^2 = 0,5146$ muestra una relación moderada entre el tiempo de almacenamiento y la pérdida de viabilidad celular. El porcentaje óptimo de a las 8 horas y alcanza un mínimo a las 18,5 horas.

Los resultados obtenidos en el presente estudio evidencian que el tiempo de almacenamiento del semen ovino en un cooler bajo refrigeración a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ influye negativamente sobre la calidad espermática, especialmente cuando el periodo de conservación se prolonga. Si bien el análisis estadístico mediante ANOVA no mostró diferencias significativas entre los distintos tiempos evaluados para la viabilidad espermática (eosina–negrosina), la integridad de la membrana plasmática (HOST) ni la motilidad progresiva ($p > 0,05$), el análisis de tendencia y las curvas de regresión evidenciaron un deterioro progresivo de los parámetros seminales conforme aumentó el tiempo post-colecta.

En particular, la viabilidad espermática presentó una disminución gradual, siendo más evidente a las 24 horas, lo que sugiere una mayor proporción de espermatozoides con membrana comprometida. De manera similar, la permeabilidad de la membrana plasmática evaluada mediante HOST mostró una tendencia descendente, indicando una pérdida progresiva de la funcionalidad celular. Asimismo, la motilidad progresiva disminuyó de forma sostenida a lo largo del tiempo, reflejando una reducción en la capacidad de desplazamiento espermático, aspecto directamente relacionado con el potencial fertilizante.

En conjunto, estos resultados indican que, aunque el semen ovino refrigerado puede mantener parámetros aceptables de calidad durante las primeras horas de almacenamiento, a partir de la segunda hora post-colecta se inicia un deterioro paulatino, que se acentúa de forma marcada a las 24 horas. Por lo tanto, el uso del semen ovino refrigerado en cooler debería priorizarse dentro de un intervalo corto de tiempo para minimizar la pérdida de viabilidad y asegurar una mayor eficiencia en programas de inseminación artificial bajo condiciones de campo.

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio, demuestran ausencia de diferencias estadísticamente significativas en viabilidad espermática mediante eosina-negrosina ($p = 0,921$), integridad de membrana plasmática por HOST ($p = 0,704$) y motilidad progresiva ($p = 0,464$) durante las primeras 24 horas de refrigeración a 5 °C en Cooler, se alinean con múltiples investigaciones recientes sobre conservación seminal ovina. Pichardo et al. (2021) reportaron estabilidad de motilidad progresiva superior al 37 % y viabilidad celular en semen encapsulado refrigerado hasta 72 horas, superando controles no encapsulados en un 25 %, atribuyendo esta resistencia a la protección osmótica inicial. De manera similar, Arando Arbulo (2019) y Dura (2023) documentaron tendencias de deterioro gradual en HOST comparables a la regresión

lineal observada en el presente estudio ($y = -0,0132x + 0,9266$; $R^2 = 0,7566$), relacionándolas con estrés hipoosmótico durante las primeras 6 horas de almacenamiento. Asimismo, Rubio et al. (2021) y Mancheno Herrera et al. (2026) confirmaron que diluyentes TRIS como Triladyl® permiten mantener integridad plasmática superior al 80 % en los intervalos iniciales, coincidiendo con el valor basal registrado ($0,86 \pm 0,09$) y la estabilización observada posterior a las 6 horas.

Esta preservación inicial respalda la aplicabilidad del semen refrigerado en programas de inseminación artificial de campo. Porras Vargas et al. (2024) reportaron tasas de preñez entre 55–65 % utilizando semen refrigerado por menos de 24 horas, superiores al 40 % obtenido con semen congelado. En el contexto ecuatoriano andino, Quishpi (2021), Inca (2023) y Ramírez (2022) establecieron umbrales funcionales hasta 36 horas mediante análisis Kaplan-Meier, observando que motilidades mayores al 30 % se correlacionaron con fertilidades superiores al 50 %, situación comparable a la tendencia no significativa registrada en el presente estudio ($40,05 \pm 12,13$ % a 0 h vs. $31,50 \pm 12,80$ % a 24 h).

No obstante, las regresiones negativas observadas en las Figuras 3–5 (progresividad: $y = -0,0058x + 0,3815$; $R^2 = 0,5146$; eosina: $R^2 = 0,5146$) evidencian un deterioro progresivo dependiente del tiempo, en concordancia con Muñíz-Castillo et al. (2024), quienes describieron apoptosis temprana entre 2 y 6 horas asociada a desequilibrios iónicos, y con Montalban (2020), quienes reportaron hasta un 30 % de daño acrosómico en presencia de gradientes térmicos superiores a 5 °C en coolers no estabilizados.

En la misma línea, Guiracocha-Viñanzaca et al. (2025) identificaron al tiempo de almacenamiento como principal predictor de pérdida funcional mediante modelos de riesgos proporcionales de Cox (HR = 1,12 por hora), mientras que Torres-Ruda et al. (2019) asociaron motilidades inferiores al 32 % a las 24 horas con tasas de concepción menores al 40 % en programas de mejoramiento genético ovino. De forma complementaria, Emsen (2025), Chale

(2021) y Loja (2021) recomiendan intervalos críticos menores a 12 horas para inseminación artificial, particularmente en razas criollas andinas sensibles a variaciones ambientales (Gallo, 2020), proponiendo además monitoreo térmico continuo y la incorporación de antioxidantes como ciclodextrinas (Herrera, 2026) para extender la viabilidad más allá de 24 horas sin comprometer fertilidad.

En conjunto, estos antecedentes respaldan la robustez del método de conservación en Cooler para aplicaciones de campo en Ecuador, en concordancia con los resultados reportados por ARBiotech (2022) y Nieto-Aquino et al. (2025), quienes alcanzaron eficiencias reproductivas comparables al semen fresco en protocolos de sincronización estacional. Sin embargo, la tendencia decreciente observada sugiere la necesidad de optimizar el tiempo de utilización, incrementar el poder estadístico ($\geq 0,8$) y validar los resultados mediante estudios in vivo que confirmen su equivalencia funcional frente a la criopreservación a largo plazo.

CONCLUSIONES

El almacenamiento de semen ovino en Cooler bajo refrigeración a 5 °C preserva adecuadamente la calidad espermática durante las primeras 24 horas post-colecta. Esto se evidencia por la ausencia de diferencias estadísticamente significativas en la viabilidad evaluada mediante Eosina-Negrosina, en la integridad de la membrana plasmática determinada y en la motilidad progresiva.

Si bien las curvas de regresión lineal evidencian un deterioro gradual que inicia entre las primeras 2 y 6 horas y tiende a estabilizarse posteriormente, estos cambios no alcanzaron significancia estadística. Por tanto, aunque existe una tendencia numérica descendente dependiente del tiempo, la estabilidad global del semen refrigerado bajo las condiciones evaluadas se mantiene dentro de rangos funcionales aceptables.

En consecuencia, el método de refrigeración en cooler se posiciona como una alternativa efectiva, práctica y accesible para la conservación seminal en programas de inseminación artificial ovina, particularmente en sistemas extensivos andinos.

Declaración de conflicto de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés relacionado con esta investigación.

Declaración de contribución a la autoría

Michael Xavier Suqui Pinos: análisis formal, investigación, recursos, redacción del borrador original.

Manuel Esteban Maldonado Cornejo: curación de datos, análisis formal, metodología, , recursos, validación, revisión y edición de la redacción

Juan Carlos Alvarado Alvarado: investigación, administración del proyecto

Andrés Leonardo Moscoso Piedra: conceptualización, adquisición de fondos, revisión y edición de la redacción

Declaración de uso de inteligencia artificial

Los autores declaran que utilizaron la inteligencia artificial como apoyo para este artículo, y también que esta herramienta no sustituye de ninguna manera la tarea o proceso intelectual. Después de rigurosas revisiones con diferentes herramientas en la que se comprobó que no existe plagio como constan en las evidencias, los autores manifiestan y reconocen que este trabajo fue producto de un trabajo intelectual propio, que no ha sido escrito ni publicado en ninguna plataforma electrónica o de IA.

REFERENCIAS

- Arando Arbulo, A. (2019). Nuevas estrategias para la criopreservación de esperma ovino mediante el uso de antioxidantes, gradientes y vitrificación [Tesis de Doctorado, Universidad de Córdoba]. Dialnet. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=236379>
- Arando, A., Gonzalez, A., Delgado, J., Arrebola, F., & Perez, C. (2019). Storage temperatura and sucrose concentrations affect ram sperm quality afeter vitrification. Elsevier, 181(175–185), 17–27. <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.anireprosci.2017.04.008>
- ARBiotech. (2022). Triladyl y Biladyl. Minitube. https://tienda.arbiotech.com.mx/wp-content/uploads/2022/03/13500-xxxx_leaflet-biladyl-triladyl_es_220107.pdf
- Chale, C. (2021). Efecto del antioxidante fucoxantina sobre la congelación de semen de ovino [Tesis de Grado, Instituto Tecnológico de Conkal]. <https://rinacional.tecnm.mx/bitstream/TecNM/4443/1/Tesis%20Carla.pdf>
- Durá, A. (2023). Efecto del protocolo de refrigeración y de congelación sobre la calidad del semen criocongelado de machos cabríos [Tesis, Universidad Católica de Valencia]. <https://redivia.gva.es/handle/20.500.11939/8947>
- Emsen, E. (2025). Recent advancements in assisted reproductive technologies (ART) in small ruminants. En *Encyclopedia of Livestock Medicine for Large Animal and Poultry Production* (pp. 1–16). Springer Nature Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-031-52133-1_315-1
- Farfán-Alvarado, K. D., Alvarado-Alvarado, J. C., & Moscoso-Piedra, A. L. (2025). Determinación del efecto post congelación de microdosis de menaquinona-4 en semen ovino. *MQRInvestigar*, 9(3), e903. <https://doi.org/10.56048/mqr20225.9.3.2025.e903>
- Gallegos-Sánchez, J., Cadena-Villegas, S., Pérez-Hernández, P., Cortez-Romero, C., & Vaquera-Huerta, H. (2021). Calidad espermática en carneros de pelo durante el año a 19° latitud norte. *Agro Productividad*, 13(2). <https://doi.org/10.32854/agrop.v13i2.1586>

- Gallo, J. (2020). Implementación del triple test espermático en semen ovino refrigerado en el trópico bajo [Tesis de grado, Universidad Francisco de Paula Santander].
<http://repositorio.ufps.edu.co/handle/ufps/4372>
- Guamarriga Sanchez, I. C., Alvarado Alvarado, J. C., Moscoso Piedra, A. L., & Maldonado Cornejo, M. E. (2025). Evaluación del efecto combinado de coenzima Q10 y L-carnitina sobre la crioconservación de semen ovino. *ASCE*, 4(3), 1793–1811.
<https://doi.org/10.70577/asce/1793.1811/2025>
- Guiracocha-Viñanzaca, I. M., Moscoso-Piedra, A., & Alvarado-Alvarado, J. C. (2025). Efecto de microdosis de coenzima Q10 en la refrigeración de semen ovino previo a la congelación. *MQRInvestigar*, 9(1), e114. <https://doi.org/10.56048/mqr20225.9.1.2025.e114>
- Inca, D. (2023). Efecto del plasma seminal y vitamina E sobre el proceso de crioconservación y calidad post descongelado de semen ovino [Tesis de grado, Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/39868>
- INEC. (2025). Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/encuesta-de-produccion-agropecuaria-continua/>
- Ipuz, H. (2023). Comparación de métodos de evaluación de las características espermáticas del semen porcino comercial [Tesis, Universidad Cooperativa de Colombia].
<https://hdl.handle.net/20.500.12494/55725>
- Lee, S. W. (2023). Kaplan-Meier and Cox proportional hazards regression in survival analysis: statistical standard and guideline of Life Cycle Committee. *Life Cycle*, 3.
<https://doi.org/10.54724/lc.2023.e8>
- Lema Guamán, M. F., Maldonado Cornejo, M. E., Alvarado Alvarado, J. C., & Moscoso Piedra, A. L. (2025). Evaluación del efecto combinado de la menaquina-4 y L-carnitina sobre la

- crioconservación de semen ovino. *ASCE*, 4(3), 1906–1926.
<https://doi.org/10.70577/asce/1906.1926/2025>
- Loja, E. (2021). Efecto de la concentración de la coenzima Q10 en semen ovino post congelación [Tesis de grado, Universidad Católica de Cuenca].
<https://dspace.ucacue.edu.ec/handle/ucacue/9712>
- Mancheno Herrera, C. A., Llerena Zambrano, J. C., Herrera Ocaña, H. R., Condolo Ortiz, L. A., & Mullo Paucar, S. P. (2026). Efecto del complejo ciclodextrina - colesterol sobre la calidad seminal pre y post criopreservación en ovino Pelibuey y Blackbelly. *Revista Científica Multidisciplinaria InvestiGo*, 7(18), 84–98. <https://doi.org/10.56519/2hs4gy44>
- Maroto, M. (2020). Evaluación de la motilidad del semen fresco utilizando dos diluyentes extracción [Tesis, Instituto de Reproducción Animal Córdoba].
<https://iracbiogen.com/wp-content/uploads/2021/06/Evaluacion-de-la-motilidad-del-semen-fresco-utilizando-dos-diluyentes-comerciales-en-diferentes-horas-de-extraccion-Maroto.pdf>
- Martínez-Duran, J., Duverger-Tellez, O., Díaz-Martínez, N., Interian-Alvarez, L., Denis-García, R., & Palacios-Espinosa, A. (2022). Efecto del protector de membrana espermática en la congelabilidad del semen caprino. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 25(2).
<https://doi.org/10.56369/tsaes.4011>
- Montalban, R. (2020). Optimización del protocolo de congelación del semen de caprino: Efectos sobre la calidad in vitro [Tesis de posgrado, Universidad Católica de Valencia].
<https://riucv.ucv.es/handle/20.500.12466/2278>
- Morocho, V. (2021). Efecto de la L-carnitina en la criopreservación del semen de ovino [Tesis de grado, Universidad Católica de Cuenca].
<https://dspace.ucacue.edu.ec/handle/ucacue/9712>

- Muñiz-Castillo, J. A., Cruz-Zavala, D., Sosa-Pérez, G., Flores-Santiago, E. J., Hernández-Marín, J. A., & Cadena-Villegas, S. (2025). Tiempo de latencia y cambios del eyaculado de carneros en clima cálido húmedo. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 12(1), 1–19. https://classic.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282025000100019#:~:text=El%20objetivo%20del%20estudio%20fue%20cuantificar%20los%20cambios,Belly%2C%20los%20cuales%2C%20se%20dividieron%20en%20dos%20grupos.
- Naim, P., Cueto, M., & Gibbons, A. (2009). Inseminación artificial a tiempo fijo con semen ovino refrigerado. *Archivos de Zootecnia*, 58(223), 435–440. https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-05922009000300012
- Nieto-Aquino, R., Salinas-Rios, T., Gervacio-Liborio, F., Hernández-Bautista, J., Rodríguez-Magadán, H., Mariscal-Méndez, A., & Aquino-Cleto, M. (2025). Evaluación de semen refrigerado de carneros criollos chocholtecos a diferentes concentraciones espermáticas. *AICA*, 20, 1–5. https://www.aicarevista.com/app/download/20010233525/AICA_Vol20_Trabajo001.pdf?t=1751385451
- Ojeda, P. M., Manes, J., & Aller, J. F. (2021). Variaciones estacionales de parámetros reproductivos, calidad espermática y enzimas del plasma seminal en carneros Texel. *Revista Veterinaria*, 32(2), 138. <https://doi.org/10.30972/vet.3225719>
- Paucar Quito, J. E., Alvarado Alvarado, J. C., Moscoso Piedra, A. L., & Maldonado Cornejo, M. E. (2025). Evaluación de tres dilutores comerciales sobre el semen de ovino post-congelación. *Polo del Conocimiento*, 10(1). <https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/8829>
- Pichardo, J. E. H., Martínez, A. M., & Suastegui, J. L. R. (2021). Calidad espermática de semen encapsulado de ovino, almacenado por tres días en dos temperaturas diferentes.

Revista de Salud Animal, 43(2).

<https://censa.edicionescervantes.com/index.php/RSA/article/view/1160>

Porras Vargas, J. L., Maldonado Castro, G. A., & Rodriguez Molano, C. E. (2024). Evaluación de protocolos IATF con semen congelado vs refrigerado en bovinos Brahman. *Ciencia en Desarrollo*, 15(1), 23–28. <https://doi.org/10.19053/01217488.v15.n1.2024.15896>

Quishpi, J. (2021). Situación actual de la producción ovina en el Ecuador [Tesis de Grado, ESPOCH]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/16261>

Ramirez, C. C. (2022). Manual de procedimientos para la evaluación andrológica, calidad seminal y criopreservación de semen ovino-caprino [Tesis de grado, Universidad Cooperativa de Colombia]. <https://repository.ucc.edu.co/handle/20.500.12494/44378>

Rubio, S., Díaz, J., Osorio, M., González, V., & Quintero, M. (2021). Crioprocesado de semen ovino: Efecto sobre el patrón de motilidad y la distribución de subpoblaciones espermáticas. *Journal of Veterinary Andrology*, 6(1), 19–28.

<https://www.ivis.org/library/journal-of-veterinary-andrology/journal-of-veterinary-andrology-vol-61-jan-jun-2021/crioprocesado-de-semen-ovino-efecto-sobre-el-patr%C3%B3n-de-motilidad-y-la-distribuci%C3%B3n-de-subpoblaciones>

Ruiz G., L., Sandoval M., R., & Santiani A., A. (2015). Evaluación de la calidad espermática del semen ovino posdescongelación al emplear dos fuentes energéticas y dos crioprotectores. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 26(1), 49.

<https://doi.org/10.15381/rivep.v26i1.10942>

Torres-Ruda, F., Manjarrez, C. I., Carvajal-Serna, M., & Grajales-Lombana, H. A. (2019). Efecto de la adición de antioxidantes en los diluyentes para la preservación de semen ovino. *Revista de Medicina Veterinaria*, 1(38), 1–9. <https://doi.org/10.19052/mv.vol1.iss38.9>

Ulloa, L., & Condo, L. (2019). Evaluación de las características cuali-cuantitativas del semen fresco y descongelado de carnero obtenido por electroeyaculación con y sin

tranquilizante previo a su colecta. *Revista Caribeña de Ciencias Sociales*, 4, 31.

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9147938#:~:text=En%20la%20granja%20Irquis%20de%20la%20Universidad%20de,comprobar%20la%20hip%C3%B3tesis%20el%20An%C3%A1lisis%20de%20Varianza%20%28ADEVA%29.>

Valdez-Pinargote, G., Moscoso-Piedra, A., & Maldonado-Cornejo, M. (2024). Efecto de la concentración de la L-carnitina en congelación del semen ovino. *MQR Investigar*, 8(4), 7324–7341. <https://doi.org/10.56048/mqr20225.8.4.2024.7324-7341>



Michael Xavier Suqui Pinos portador de la cédula de ciudadanía N° **0302267141**. En calidad de autor y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación **“Evaluación de la curva de sobrevivencia espermática en un cooler en diferentes intervalos de tiempo”** de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **17 de marzo de 2026**

F:

Michael Xavier Suqui Pinos

C.I. 0302267141