



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y AMBIENTAL
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

INFORME FINAL DE PROYECTO DE SERVICIO SOCIAL

Evaluación de la adición de jitomate en polvo a diluyente y su efecto en la calidad de
semen bovino criopreservado.

Diana Laura García Sánchez

PRESTADOR DE SERVICIO SOCIAL

Matrícula: 2193028261

Fecha de inicio y término: 01/07/2025 – 01/01/2026

Asesores:

Jesús Alberto Guevara González
No. Eco. 17187

Miguel Ángel Giles Rogel
Céd. Prof. 1338288

Introducción

La eficiencia reproductiva es fundamental en la medicina veterinaria, especialmente en especies de interés zootécnico, donde la rentabilidad productiva depende en gran medida de las tasas de fertilidad. Entre los factores determinantes de la eficiencia reproductiva, la calidad seminal ocupa un lugar central, ya que influye directamente en el éxito de la fecundación y, por ende, en la productividad animal (Vigolo, 2022). Sin embargo, durante los procesos de manipulación, enfriamiento y criopreservación, los espermatozoides pueden experimentar alteraciones estructurales y funcionales que comprometen su viabilidad y capacidad fecundante (Tamargo *et al.*, 2024).

La criopreservación de semen bovino constituye una herramienta esencial en los programas de inseminación artificial y mejora genética, al permitir el almacenamiento prolongado del material genético. No obstante, este procedimiento genera un entorno desfavorable para las células espermáticas, principalmente por el estrés oxidativo inducido por la formación excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la disminución de las defensas antioxidantes naturales (Long *et al.*, 2024). Este desequilibrio puede ocasionar peroxidación lipídica, oxidación proteínica y fragmentación del ADN, con la consiguiente reducción de la motilidad y la fertilidad (Sapanidou *et al.*, 2023).

Con el fin de mitigar estos efectos, la adición de compuestos bioactivos como los antioxidantes en los diluyentes seminales se ha convertido en una estrategia ampliamente explorada. En este contexto, el jitomate (*Solanum lycopersicum*) representa una fuente importante de carotenoides como licopeno y β -caroteno, así como vitaminas C y E junto con polifenoles, todos ellos con reconocida capacidad para neutralizar radicales libres y reducir el daño oxidativo (Lu *et al.*, 2022; Imran *et al.*, 2020). Diversos estudios han reportado que el jitomate deshidratado y sus derivados poseen una elevada actividad antioxidante *in vitro*, lo que sugiere su potencial aplicación en la protección de células sensibles al proceso de congelación (Campos-Lozada *et al.*, 2022). Por ello, su incorporación a los diluyentes utilizados en la criopreservación bovina podría favorecer la integridad y funcionalidad espermática, además de ser un recurso accesible, natural y compatible con prácticas sustentables en la producción animal.

El propósito de este proyecto es evaluar el efecto del polvo de jitomate deshidratado adicionado al diluyente seminal en la calidad del semen bovino criopreservado, considerando parámetros como motilidad, integridad de membrana, morfología espermática y estabilidad post-descongelación. La estrategia experimental contempla

el uso de polvo comercial y polvo preparado de forma casera, con el fin de identificar si el método de obtención influye en su eficacia biológica. Las muestras seminales serán procesadas bajo condiciones estandarizadas y sometidas a curvas de enfriamiento controlado, a fin de minimizar variaciones atribuidas al procedimiento técnico.

Se espera que la adición de jitomate deshidratado contribuya a reducir el daño celular inducido por el proceso de congelación-descongelación, evidenciándose en una mayor criotolerancia y mantenimiento de la viabilidad espermática. Asimismo, se prevé que las diferencias entre ambas presentaciones permitan identificar cuál ofrece mejores resultados bajo las condiciones experimentales planteadas. En conjunto, los hallazgos derivados de este estudio podrían aportar una alternativa natural, económica y funcional para optimizar la preservación seminal en la reproducción bovina.

Planteamiento del problema y Justificación

La eficiencia reproductiva es crucial para la rentabilidad en la producción animal. La calidad del semen utilizado en técnicas de reproducción asistida, como la inseminación artificial, es determinante para alcanzar altas tasas de fertilidad. Sin embargo, durante el proceso de manipulación y conservación del semen, los espermatozoides están expuestos a factores que pueden inducir estrés oxidativo, comprometiendo su viabilidad y funcionalidad.

El estrés oxidativo es un factor clave en la disminución de la calidad espermática, afectando directamente la capacidad fecundante del semen. La búsqueda de antioxidantes eficaces es crucial para mejorar la calidad del semen post-descongelación. El extracto de jitomate constituye una fuente económica y abundante de licopeno y otros compuestos fenólicos con actividad antioxidante, por lo que su evaluación como aditivo en diluyentes es prometedora para la industria pecuaria (Vigolo, 2022; Lu *et al.*, 2022).

Este estudio busca evaluar el efecto del polvo de jitomate como agente protector en la calidad espermática en semen bovino. La implementación de esta estrategia podría mejorar la eficiencia de las técnicas de reproducción asistida, beneficiando a productores y contribuyendo al mejoramiento genético en diversas especies animales.

Objetivo General

Evaluar el efecto de la adición de polvo de jitomate al diluyente seminal sobre la calidad espermática del semen bovino antes y después del proceso de criopreservación.

Objetivos Específicos

1. Determinar la influencia de diferentes concentraciones de polvo de jitomate incorporado al diluyente sobre parámetros como motilidad, integridad de membrana y viabilidad espermática post-descongelación.
2. Comparar la calidad espermática post-criopreservación entre muestras tratadas con polvo de jitomate y un grupo control sin adición del compuesto.
3. Analizar la relación costo-beneficio y factibilidad técnica de incorporar jitomate en polvo en protocolos de criopreservación.

Antecedentes

La inseminación artificial (IA) constituye una herramienta fundamental para la mejora genética del ganado bovino, ya que permite la difusión de características deseables y contribuye a optimizar la eficiencia reproductiva. Una parte importante de esta biotecnología es la criopreservación del semen, la cual posibilita el almacenamiento y transporte de material genético de alta calidad por periodos prolongados. Sin embargo, el proceso de congelación y descongelación pueden afectar negativamente la viabilidad y funcionalidad de los espermatozoides ya que son sensibles a los cambios de temperatura, lo cual podría generar estrés oxidativo y otros factores adversos (Tamargo *et al.*, 2024).

El manejo del semen bovino debe realizarse bajo condiciones estrictas de higiene y control térmico. Después de la colecta, el semen es sometido a una evaluación inicial y posteriormente diluido, enfriado de forma progresiva y empajillado en pajillas de 0.25 o 0.5 ml, antes de su congelación en nitrógeno líquido. Durante estas etapas, factores como el contacto con el aire, variaciones bruscas de temperatura, exposición prolongada a la luz y la presencia de contaminantes en las muestras puede afectar negativamente la calidad espermática. La implementación de cabinas térmicas, las técnicas de baños María con temperatura controlada y el uso de diluyentes son alternativas para minimizar el daño celular y preservar la viabilidad y funcionalidad espermática (Neubert *et al.*, 2025).

Un elemento importante en la criopreservación del semen es el uso de diluyentes seminales que cumplen funciones esenciales como el aporte de nutrientes para fuente de energía, un buffer ante cambios perjudiciales en el pH, mantienen la presión osmótica, previenen el crecimiento bacteriano, protegen contra el choque térmico durante el enfriamiento y contienen crioprotectores que reducen el daño por la formación de cristales de hielo (Castro *et al.*, 2025). Aunque los diluyentes para

conservar espermatozoides son diferentes, sus componentes básicos siguen siendo los mismos, los diluyentes para semen bovino suelen estar basados en yema de huevo y/o leche descremada, buffer (fosfato, tampones de citrato o Tris), azúcares simples (como la dextrosa o fructosa) y antibióticos. La concentración final del diluyente depende de la calidad seminal y se ajusta para lograr aproximadamente 20–30 millones de espermatozoides por dosis (Carvalho *et al.*, 2023).

Una vez diluido, el semen se somete a una etapa de enfriamiento lento, conocida como precongelación, en la cual la temperatura se reduce progresivamente de 37 °C a 4–5 °C. Esta fase es crucial para permitir la adaptación de los espermatozoides al frío y minimizar el choque térmico. Posteriormente, el semen es congelado a –196 °C en nitrógeno líquido, utilizando métodos manuales, como la exposición al vapor de nitrógeno progresivamente, o sistemas automatizados mediante congeladores programables. Estos últimos ofrecen una mayor precisión, ya que permiten controlar de manera exacta la curva de enfriamiento (Sharafi *et al.*, 2022).

La curva de enfriamiento es crucial para mantener la integridad de la membrana espermática y evitar la formación de cristales intracelulares de hielo. Un enfriamiento rápido puede causar un choque térmico y daño irreversible, mientras que un proceso lento puede promover la deshidratación excesiva y daño osmótico (Singh *et al.*, 2022). Estudios recientes han demostrado que curvas programadas, con descensos de 0.25 a 0.5 °C/min hasta alcanzar 5 °C, seguidos de una fase de estabilización y un enfriamiento controlado hasta –120 °C, son más eficaces para preservar la viabilidad espermática posdescongelación (Simsek *et al.*, 2025).

La evaluación del eyaculado constituye una etapa esencial para determinar la calidad seminal antes y después de la criopreservación. Entre los parámetros macroscópicos se consideran el volumen, pH, color y consistencia, mientras que la concentración espermática se determina por cámara de Neubauer o espectrofotometría. La motilidad espermática puede evaluarse mediante microscopía de campo claro o a través de sistemas automatizados de análisis computarizado de semen (CASA), los cuales han demostrado ser buenos predictores de la criotolerancia del semen bovino. Asimismo, la morfología espermática se analiza mediante tinciones vitales, integridad acrosomal con lectinas marcadas, actividad mitocondrial con fluorocromos específicos y cuantificación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y el malondialdehído (MDA) (Vigolo, 2022; Sapanidou *et al.*, 2023). La tinción de eosina-nigrosina permite diferenciar espermatozoides viables de no viables y detectar alteraciones estructurales de la membrana, constituyendo un método accesible en la evaluación de la calidad seminal (Calle Crespo *et al.*, 2025; Tamargo *et al.*, 2024).

En condiciones de campo, la generación de las curvas de enfriamiento y congelación suele realizarse con equipos simples, como cajas térmicas con hielo, refrigerantes o contenedores de poliestireno con nitrógeno líquido. Aunque estos métodos son de bajo costo, presentan una alta variabilidad debido a diferencias en tamaño, grosor, marca y condiciones de uso del equipo, lo que dificulta la estandarización del proceso y genera resultados inconsistentes en la calidad seminal posdescongelación (Simsek *et al.*, 2025; Chicaiza-Cabezas *et al.*, 2023).

Durante el proceso de enfriamiento, la congelación y la descongelación del semen, se generan ROS que pueden provocar peroxidación lipídica, daño en el ADN y disminución de la motilidad espermática. Diversos estudios han demostrado que la adición de antioxidantes al medio de congelación puede mitigar estos efectos negativos (Sapanidou *et al.*, 2023; Tuncer *et al.*, 2021).

El estrés oxidativo es un desequilibrio entre la producción de ROS y la capacidad antioxidante del sistema biológico. En los espermatozoides, un exceso de ROS puede dañar lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, comprometiendo su funcionalidad. La criopreservación incrementa la producción de ROS, exacerbando el estrés oxidativo. La incorporación de antioxidantes en los diluyentes de semen ha demostrado ser eficaz para reducir el daño oxidativo y preservar la integridad espermática (Yadav *et al.*, 2022; Tuncer *et al.*, 2021).

Diversos antioxidantes han sido evaluados por su capacidad para proteger los espermatozoides durante la criopreservación, por ejemplo, el α -tocoferol (vitamina E) ha mostrado mejorar la motilidad y viabilidad espermática al reducir la concentración de peróxido de hidrógeno (Sapanidou *et al.*, 2023). Asimismo, el resveratrol ha demostrado aumentar la capacidad antioxidante y reducir la producción de ROS en semen bovino congelado (Tuncer *et al.*, 2021). Otros antioxidantes como la epigallocatequina-3-galato (EGCG) y los flavonoides de hoja de bambú también han mostrado efectos positivos en la calidad del semen post-descongelación (Li *et al.*, 2022; Hu *et al.*, 2022).

Distintos estudios han explorado el uso de antioxidantes para mitigar estos efectos. Por ejemplo, Ali *et al.*, (2024) adicionaron con antioxidantes al medio de congelación en semen de machos cabríos, observando mejoras en la integridad de la membrana plasmática y la motilidad espermática. Además, Moagi *et al.*, (2025) revisaron el papel de los antioxidantes en el almacenamiento en frío de espermatozoides de mamíferos, destacando la eficacia de compuestos como el licopeno en la preservación de la calidad espermática.

El jitomate (*Solanum lycopersicum*) ha cobrado interés por su alto contenido de licopeno, un carotenoide con una estructura poliinsaturada que le confiere una elevada capacidad para neutralizar ROS, así como por su aporte de vitamina C, tocoferoles y polifenoles que actúan de forma sinérgica para proteger las membranas celulares y el ADN frente al estrés oxidativo (Imran *et al.*, 2020; Long *et al.*, 2024).

La aplicación de extractos de jitomate en reproducción animal no es meramente teórica ya que experimentos recientes han demostrado que la adición de diferentes presentaciones como jugo, polvos o extracto de jitomate en diluyentes seminales mejora la motilidad, la viabilidad y la integridad acrosomal en semen de especies como bovinos, caprinos y porcinos, lo que sugiere que el efecto protector no se debe únicamente al licopeno, sino a un conjunto de compuestos que actúan sobre la membrana plasmática y la mitocondria durante el enfriamiento y la congelación (Afriani *et al.*, 2023; Torocio *et al.*, 2025; Castro *et al.*, 2022). Estos hallazgos son consistentes con investigaciones específicas sobre licopeno puro, en las que se observó una reducción significativa de la concentración de MDA, un marcador de peroxidación lipídica, así como mejoras en motilidad progresiva y estabilidad estructural de la membrana en especies como bovinos, búfalos y ovinos (Singh *et al.*, 2024; Elvania *et al.*, 2024).

Métodos de secado controlado a temperaturas moderadas y en condiciones de oscuridad minimizan la degradación de carotenoides, mientras que técnicas de extracción como la maceración en etanol 70%, la mezcla de solventes polares y no polares, o la extracción asistida por ultrasonido han mostrado un rendimiento elevado y preservación de la actividad antioxidante (Badin *et al.*, 2021; Marinaccio *et al.*, 2024). Estos aspectos tecnológicos son clave para garantizar que el extracto mantenga su potencial protector durante la preparación y almacenamiento antes de su incorporación en el diluyente seminal.

La combinación de una técnica de enfriamiento óptima con antioxidantes naturales como el extractos o polvos de jitomate podría reducir significativamente la incidencia de daño oxidativo, manteniendo la integridad funcional y estructural de los espermatozoides. Además, se deben establecer concentraciones seguras y efectivas del extracto, ya que dosis excesivas de compuestos vegetales podrían ejercer un efecto pro-oxidante o interferir con la fisiología espermática. De esta manera, la integración de extractos de jitomate en protocolos de criopreservación no solo tiene un sustento bioquímico sólido, sino que también se alinea con principios de sostenibilidad y economía circular al valorizar un subproducto agroindustrial (Shi *et al.*, 2022; Moretti *et al.*, 2024).

Metodología

La presente investigación corresponde a un estudio experimental, comparativo y longitudinal, se empleó jitomate como fuente natural de antioxidantes en la criopreservación de semen bovino para evaluar su efecto protector frente al estrés oxidativo inducido por el proceso de congelación y descongelación, así como las diferentes concentraciones del polvo de jitomate de dos presentaciones que serán jitomate en polvo casero y polvo comercial. Las actividades experimentales se llevaron a cabo en el Laboratorio de Imagenología del edificio W bis de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, ubicada en Calzada del Hueso 1100, Colonia Villa Quietud, Delegación Coyoacán, C. P. 04960, Ciudad de México. En este laboratorio se realizó inicialmente la obtención del polvo de jitomate casero mediante el proceso de deshidratación y molienda del material vegetal, así como la ejecución de pruebas preliminares destinadas a verificar la viabilidad del producto obtenido, el cálculo de las concentraciones y su posible aplicación en las muestras seminales. Posteriormente, en el mismo laboratorio, se efectuó la evaluación de las muestras seminales, empleando las técnicas y el equipo correspondiente para el análisis espermático.

En el caso del jitomate en polvo comercial, el producto fue obtenido en bolsa sellada de un proveedor alimentario, el cual se seleccionó un producto libre de aditivos que pudiera afectar a la muestra. La bolsa se abrió con tijeras desinfectadas y el contenido se transfirió cuidadosamente a frascos ámbar previamente lavados con agua destilada y enjuagados con etanol. Los frascos se cerraron herméticamente y se conservaron a temperatura ambiente (25 °C) en un sitio seco hasta su utilización (Zadeh *et al.*, 2023; Castro *et al.*, 2022).

Para la elaboración del polvo casero se seleccionaron jitomates maduros, libres de daños mecánicos o signos visibles de deterioro microbiológico, asegurando así una materia prima de calidad. Los frutos se lavaron minuciosamente con agua potable y posteriormente se enjuagaron con agua destilada para eliminar posibles residuos de cloro y partículas en suspensión.

Se deshidrataron 5 jitomates, para esto se realizaron pesajes en diferentes etapas de la deshidratación, las cuales fueron pesaje inicial con el jitomate completo, después al cortarlo en rodajas de aproximadamente 0.5 cm de grosor y posteriormente al secarlos tratando de absorber la mayor cantidad de agua posible con sanitas aplicando presión para después deshidratarlo mediante secado por aire caliente en estufa de secado con circulación de aire a temperatura controlada de 45 a 55°C por 8 horas, volteándolos cierto tiempo para favorecer un secado uniforme. Al retirarlos de la estufa se realizó otro pesaje de las rodajas deshidratadas, tras enfriarse durante 20 min a temperatura ambiente el material fue pulverizado en un mortero para obtener un polvo más fino y

homogéneo, el cual al final se pesó para posteriormente almacenarlo en frascos ámbar conservado a 4 °C hasta su uso (Lu *et al.*, 2022; Zadeh *et al.*, 2023).

Se utilizaron muestras de semen obtenidas de 2 toros adultos de las razas Charolais y Angus con edades similares, mantenidos bajo condiciones y alimentación estandarizadas, localizados en la región de Tequisquiapan, Querétaro. El universo de estudio estuvo constituido por semen de toros bovinos reproductores, mientras que la unidad experimental estuvo representada por cada eyaculado sometido a los tratamientos experimentales. Se recolectaron 5 eyaculados por toro en diferentes tiempos, obteniendo un total de diez eyaculados, donde se evaluó la calidad espermática inicial por medio de los parámetros seminales macroscópicamente como el color, olor y volumen. Microscópicamente se evaluó la motilidad, viabilidad y morfología, antes y después del tratamiento.

El número de animales y muestras fue establecido con base en la disponibilidad de reproductores, las condiciones logísticas del manejo seminal y el carácter exploratorio y comparativo del estudio. Diversos trabajos en evaluación seminal bovina han empleado diseños similares utilizando múltiples eyaculados por individuo como unidades experimentales, debido a que cada eyaculado puede presentar variaciones fisiológicas independientes y representar una repetición biológica válida (Kishore *et al.*, 2021). Este enfoque permitió incrementar el número de observaciones experimentales y evaluar la respuesta espermática frente a los tratamientos antioxidantes bajo condiciones controladas de laboratorio.

El semen se colectó mediante vagina artificial con agua precalentada a 48°C, obteniendo los eyaculados directamente en tubos Falcon de 15 ml estériles precalentados. Se registraron el color, el aspecto inmediatamente después de la colecta. La evaluación microscópica inicial se determinó bajo microscopio de luz a 100× en portaobjetos precalentados aproximadamente a 37 °C, donde se determinó de la motilidad masal y progresiva, así como la concentración espermática, (Kishore *et al.*, 2021).

Cada eyaculado se dividió en cinco fracciones iguales correspondientes a los tratamientos T0, T1, T2, T3 y T4. Para la preparación de los tratamientos experimentales, se utilizó el diluyente comercial Optidyl (IMV Technologies, Francia). Previamente a su adición al semen, el diluyente fue suplementado con polvo de jitomate deshidratado según el tratamiento experimental.

-T0 (Grupo control o testigo): Eyaculado con diluyente comercial sin adición de antioxidantes.

-T1: Eyaculado con diluyente suplementado con 5 % de polvo de jitomate deshidratado casero.

-T2: Eyaculado con diluyente suplementado con 8 % de polvo de jitomate deshidratado casero.

-T3: Eyaculado con diluyente suplementado con 5 % de polvo de jitomate deshidratado comercial.

-T4: Eyaculado con diluyente suplementado con 8 % de polvo de jitomate deshidratado comercial.

Para la preparación de los diluyentes suplementados, la cantidad de polvo de jitomate se calculó con base en el volumen final del diluyente mediante una relación peso/volumen (p/v). Para la concentración al 5 %, se adicionaron 5 g de polvo de jitomate por cada 100 mL de diluyente, mientras que para la concentración al 8 % se adicionaron 8 g por cada 100 mL de diluyente. Las cantidades correspondientes se ajustaron proporcionalmente al volumen requerido en cada tratamiento experimental. Posteriormente, el polvo de jitomate se incorporó al diluyente y se mezcló manualmente en vasos de vidrio estériles durante tres minutos hasta obtener una suspensión homogénea.

Una vez preparados los tratamientos, el diluyente correspondiente se adicionó al semen de forma gradual, gota a gota, a 37 °C, manteniendo una proporción 1:1 (volumen semen: volumen diluyente) para favorecer la adaptación espermática (Kishore *et al.*, 2021). Posteriormente, se midió el pH mediante un potenciómetro portátil, ajustándolo entre 6.8 y 7.2 mediante pequeñas adiciones de buffer fosfato preparado con agua destilada estéril. Finalmente, las mezclas fueron filtradas mediante papel filtro para eliminar partículas de gran tamaño y garantizar la homogeneidad de las muestras (Younus *et al.*, 2024).

El semen diluido se empajillo en pajillas de 0.5 ml previamente etiquetadas, se sellaron con polvo sellador (Alcohol Polivinílico) y se colocaron en un frasco de muestras de forma vertical, se mantuvieron en equilibrio a 5 °C durante 1 hora en refrigeración controlada, permitiendo la estabilización de las membranas espermáticas antes del proceso de congelación. Posteriormente, se colocaron en una rejilla metálica o rack para ser sometidas a congelación programada, primero durante 10 minutos en baño de vapores de nitrógeno de aproximadamente -80 a -120 °C colocando las pajillas a 4 cm por encima del nivel del nitrógeno y finalmente sumergidas en nitrógeno líquido a -196 °C y almacenadas hasta su evaluación.

Para el análisis post-descongelación, las pajillas se retiraron del nitrógeno y se descongelaron en agua a temperatura de 35-37 °C por 30-35 segundos. Tras la descongelación, se evaluó la motilidad progresiva bajo microscopio de contraste de fases a 200× y la viabilidad espermática mediante la técnica de tinción eosina-nigrosina. Para ello, se mezclaron 10 µL de semen con 10 µL de la tinción medidos con una micropipeta, se elaboraron frotis finos sobre portaobjetos limpios y se dejaron secar al aire. Para la cuantificación, se seleccionaron aleatoriamente cinco campos o cuadrantes microscópicos por preparación. En cada cuadrante se contabilizaron los espermatozoides vivos (sin tinción) y los espermatozoides muertos (con tinción rosada o rojiza), registrando además el número total de espermatozoides observados. Posteriormente, se calculó el porcentaje de viabilidad espermática mediante la relación entre el número de espermatozoides vivos y el número total de espermatozoides contados, multiplicado por 100. Asimismo, se evaluó la morfología espermática clasificando las anormalidades de cabeza, pieza intermedia y cola. Estas determinaciones se efectuaron siguiendo los criterios de Younus (2024), quienes señalan que la integridad morfofuncional del espermatozoide se correlaciona directamente con la capacidad fecundante post-criopreservación.

Para este trabajo se establecieron variables independientes y dependientes para evaluar el efecto del polvo de jitomate sobre la calidad espermática bovina, en el cual la variable independiente correspondió al tipo y concentración del suplemento antioxidante añadido al diluyente seminal, considerando cinco tratamientos experimentales: diluyente comercial sin suplemento (T0), diluyente suplementado con 5 % y 8 % de polvo de jitomate deshidratado casero (T1 y T2), y diluyente suplementado con 5 % y 8 % de polvo de jitomate deshidratado comercial (T3 y T4). Las variables dependientes fueron los parámetros de calidad espermática evaluados antes y después del proceso de criopreservación, incluyendo motilidad progresiva, viabilidad y morfología espermáticas. Como variables controladas se mantuvieron constantes las condiciones de manejo de los animales, método de colecta seminal, tipo de diluyente base, temperatura de procesamiento, curva de enfriamiento y procedimientos de congelación y descongelación, con el fin de minimizar la interferencia de factores externos.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos de los parámetros de calidad espermática fueron registrados en hojas de cálculo de Microsoft Excel. Posteriormente, se calcularon medias y desviaciones estándar para cada tratamiento. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para evaluar el efecto de los cinco tratamientos experimentales sobre los parámetros de calidad seminal, utilizando un nivel de significancia de $p \leq 0.05$,

con el objetivo de determinar la existencia de diferencias estadísticas entre los grupos evaluados. Cuando se detectaron diferencias significativas, se aplicó una prueba de comparación múltiple de medias mediante el método de Tukey-Kramer, con el fin de identificar las diferencias específicas entre tratamientos.

El análisis estadístico fue realizado mediante software especializado, considerando los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas.

El análisis univariante (Figura 1) de los parámetros seminales evaluados permitió determinar el efecto de los diferentes tratamientos con polvo de jitomate sobre la calidad espermática post-criopreservación. En la variable de motilidad progresiva post-descongelación, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales (ANOVA, $F = 4.4365$; $p = 0.0042$), lo que indica que al menos uno de los tratamientos influyó de manera relevante sobre este parámetro. El análisis de comparación múltiple (Tukey-Kramer) evidenció que el tratamiento con polvo comercial al 5% presentó la mayor media (72.2%), diferenciándose del grupo control y del tratamiento con polvo casero al 5%, los cuales mostraron los valores más bajos (65%). Este comportamiento sugiere que la adición de antioxidantes en concentraciones específicas mejora la capacidad de los espermatozoides para mantener su motilidad tras el proceso de congelación-descongelación.

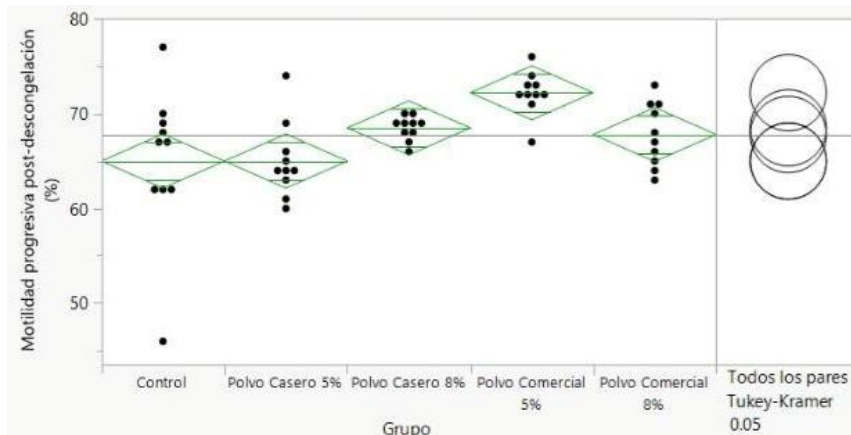


Figura 1. Análisis univariante de Motilidad progresiva post-descongelación (%) con respecto a un Grupo.

En contraste, la viabilidad espermática no mostró diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 1), indicando que la integridad de la membrana plasmática no se vio afectada de manera diferencial por la inclusión del polvo de jitomate. Los valores obtenidos oscilaron dentro de rangos fisiológicamente aceptables (aproximadamente 65–75%), lo que sugiere que todos los tratamientos, incluido el control, mantuvieron condiciones adecuadas para la supervivencia celular.

Variable	R ²	RMSE	Media	F	p
MPPD (%)	0.33	3.12	67.7	4.4365	0.0042*
V (%)	0.07	4.21	70.8	0.7541	0.5606 NS
CT (%)	0.18	5.02	48.2	2.4895	0.0565 T
PPC (%)	0.14	4.65	14.2	1.9342	0.1211 NS

Tabla 1. Resumen de ajustes y análisis de varianza para los parámetros seminales evaluados.

R²: coeficiente de determinación; RMSE: raíz del error cuadrático medio; MPPD: motilidad progresiva post-descongelación; V: viabilidad; CT: criosupervivencia total; PPC: pérdida por congelación; NS: no significativo; T: tendencia estadística; * diferencia significativa (p < 0.05).

Por su parte, la criosupervivencia total (Tabla 1) presentó una tendencia hacia diferencias entre tratamientos (ANOVA, F = 2.4895; p = 0.0565), sin alcanzar significancia estadística. Sin embargo, es importante destacar que el grupo tratado con polvo comercial al 5% mostró consistentemente los valores más elevados, lo cual sugiere un posible efecto biológico positivo que podría confirmarse con un mayor tamaño de muestra o menor variabilidad experimental.

Finalmente, en la variable de pérdida por congelación (Tabla 1), no se observaron diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA, F = 1.9342; p = 0.1211). A pesar de ello, se identificó una tendencia a menores pérdidas en los grupos tratados con antioxidantes, particularmente en el polvo comercial al 5%, en comparación con el grupo control, el cual presentó mayores porcentajes de daño celular asociado al proceso de criopreservación.

Tratamiento	MPPD (%)	V (%)	CT (%)	PPC (%)
T0	65.0 ± 1.41 ^b	69.8 ± 2.10	45.2 ± 3.11	16.5 ± 2.40
T1	65.0 ± 1.41 ^b	70.4 ± 2.85	46.0 ± 3.55	17.2 ± 2.93
T2	68.5 ± 1.41 ^{ab}	71.6 ± 2.37	49.8 ± 2.71	13.4 ± 1.98
T3	72.2 ± 1.41 ^a	73.1 ± 2.65	52.7 ± 3.02	10.1 ± 1.76
T4	67.8 ± 1.41 ^{ab}	69.0 ± 2.94	47.1 ± 3.40	13.9 ± 2.11

Tabla 2. Efecto de los tratamientos con polvo de jitomate sobre los parámetros de calidad seminal post-descongelación en semen bovino.

MPPD: motilidad progresiva post-descongelación; V: viabilidad; CT: criosupervivencia total; PPC: pérdida por congelación; T0: Grupo control eyaculado con diluyente, T1: Eyaculado con polvo casero al 5%; T2: Eyaculado con polvo casero al 8%; T3: Eyaculado con polvo comercial al 5%; T4: Eyaculado con polvo comercial al 8%. Valores expresados como media ± error estándar (EE). Superíndices diferentes (a,b) en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos (p < 0.05), según la prueba de Tukey-Kramer.

En términos generales, el tratamiento T3 presentó el mejor desempeño, registrando la mayor motilidad progresiva post-descongelación (72.2 ± 1.41%), la mayor viabilidad espermática (73.1 ± 2.65%) y la mayor criosupervivencia total (52.7 ± 3.02%).

Asimismo, este tratamiento presentó la menor pérdida por congelación ($10.1 \pm 1.76\%$), lo que sugiere una mejor protección frente al daño ocasionado por el proceso de criopreservación (Tabla 2).

Los tratamientos T2 y T4 mostraron valores intermedios en la mayoría de las variables evaluadas, mientras que el grupo Control y T1 presentaron los menores porcentajes de motilidad progresiva post-descongelación. En conjunto, estos resultados indican que la suplementación con polvo de jitomate, particularmente en su presentación comercial al 5%, favoreció la conservación de la calidad espermática después de la descongelación.

En conjunto, los resultados indican que el uso de polvo de jitomate tiene un efecto positivo principalmente sobre la motilidad espermática post-descongelación, mientras que su impacto sobre otros parámetros es menos evidente desde el punto de vista estadístico.

Resultados

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que la suplementación del diluyente seminal con polvo de jitomate favoreció la conservación de la calidad espermática después del proceso de criopreservación. De manera general, los tratamientos suplementados presentaron un comportamiento más favorable que el grupo control, observándose una mejor conservación de la función espermática posterior a la descongelación.

La respuesta más evidente se observó en la motilidad progresiva post-descongelación, donde los tratamientos con polvo de jitomate mostraron una mayor capacidad para mantener el movimiento espermático después de ser sometidos al estrés térmico generado durante la congelación y descongelación, lo que sugiere que la incorporación de antioxidantes naturales puede contribuir a preservar la funcionalidad celular durante la criopreservación. Este efecto podría estar relacionado con la presencia de compuestos antioxidantes como el licopeno, vitamina C y compuestos fenólicos presentes en el jitomate. Estos compuestos son capaces de neutralizar especies reactivas de oxígeno generadas durante la congelación, disminuyendo el daño oxidativo sobre las membranas plasmáticas y mitocondriales. Debido a que la motilidad depende en gran medida de la integridad de estas estructuras y de la producción de energía celular, una menor afectación oxidativa puede traducirse en una mejor capacidad de desplazamiento de los espermatozoides después de la descongelación.

Aunque no se observaron diferencias marcadas de la viabilidad espermática entre grupos, los tratamientos suplementados mostraron una tendencia a conservar una

mayor proporción de espermatozoides viables en comparación con el grupo control. Este comportamiento sugiere que la adición de polvo de jitomate no afectó negativamente la integridad celular y pudo contribuir al mantenimiento de las membranas espermáticas durante el proceso de congelación. En cuanto a la La criosupervivencia mostró una tendencia favorable en los tratamientos suplementados en comparación con el control. Asimismo, se observó una menor pérdida por congelación, lo que sugiere una mayor resistencia de los espermatozoides al proceso de criopreservación. Estos resultados indican una posible reducción del daño celular asociado al estrés térmico, osmótico y oxidativo.

La ausencia de diferencias significativas en algunos parámetros podría estar asociada a la variabilidad biológica inherente de los estudios seminales. En este trabajo se utilizaron diez eyaculados procedentes de únicamente dos sementales de razas diferentes, por lo que factores individuales relacionados con la capacidad de congelación del semen pudieron influir en la respuesta observada. Diversos autores han señalado que existen diferencias importantes entre toros en cuanto a resistencia al estrés oxidativo, integridad de membrana y capacidad de recuperación post-descongelación, aun cuando se mantengan bajo condiciones similares de alimentación y manejo.

Asimismo, la calidad seminal puede variar entre eyaculados obtenidos de un mismo individuo debido a factores fisiológicos, nutricionales y ambientales. Aunque se procuró mantener condiciones estandarizadas durante la colecta, procesamiento y criopreservación, estas fuentes de variación no pueden eliminarse completamente y deben considerarse al interpretar los resultados.

Otro aspecto relevante fue la diferencia observada entre las presentaciones del polvo de jitomate. En general, el producto comercial mostró un comportamiento superior al elaborado de forma casera. Esta diferencia podría atribuirse a una mejor conservación de los compuestos bioactivos durante los procesos industriales de secado y almacenamiento. Por el contrario, durante la elaboración casera pueden ocurrir pérdidas parciales de licopeno y otros antioxidantes debido a la exposición al calor, la luz y el oxígeno, reduciendo potencialmente su capacidad protectora.

Desde el punto de vista práctico, la incorporación de polvo de jitomate al diluyente seminal demostró ser técnicamente viable, ya que pudo integrarse al protocolo convencional de criopreservación sin modificar significativamente las etapas de procesamiento, enfriamiento, congelación y descongelación. Además, debido a su bajo costo y amplia disponibilidad, especialmente en México, representa una alternativa accesible para complementar los protocolos de conservación seminal.

En relación con los objetivos planteados, fue posible determinar la influencia de diferentes concentraciones y presentaciones de polvo de jitomate sobre la calidad espermática post-descongelación, observándose efectos favorables principalmente sobre la motilidad progresiva. Finalmente, los resultados obtenidos sugieren que el uso de polvo de jitomate constituye una opción técnicamente factible y potencialmente rentable como fuente natural de antioxidantes en protocolos de criopreservación de semen bovino.

Conclusión y Recomendaciones

Los resultados obtenidos permiten concluir que la incorporación de polvo de jitomate al diluyente seminal constituye una alternativa prometedora para la conservación de la calidad espermática bovina durante el proceso de criopreservación. La suplementación con este antioxidante natural favoreció la preservación de parámetros relacionados con la funcionalidad espermática después de la descongelación, evidenciando el potencial de los compuestos bioactivos presentes en el jitomate para reducir los efectos del estrés oxidativo asociado a la congelación.

Asimismo, el estudio permitió demostrar la factibilidad técnica de incorporar polvo de jitomate a protocolos convencionales de criopreservación, sin modificar significativamente los procedimientos habituales de procesamiento seminal. Debido a su disponibilidad, bajo costo y origen natural, el jitomate representa una alternativa viable para futuras investigaciones orientadas al desarrollo de estrategias que mejoren la conservación de semen bovino.

Aunque los resultados obtenidos muestran cambios en la calidad, se requieren estudios complementarios con un mayor número de muestras y evaluaciones adicionales para confirmar los efectos observados y determinar con mayor precisión el potencial del polvo de jitomate como suplemento antioxidante en programas de reproducción animal. Algunas alternativas para este estudio podrían ser:

- Incrementar el número de toros y eyaculados evaluados para reducir la variabilidad biológica y aumentar la potencia estadística del estudio.
- Complementar la evaluación seminal con pruebas específicas de integridad de membrana, integridad acrosomal, actividad mitocondrial y cuantificación de especies reactivas de oxígeno.
- Determinar la concentración exacta de licopeno y otros antioxidantes presentes en los polvos de jitomate utilizados para relacionar la composición química con la respuesta biológica observada.

- Evaluar concentraciones intermedias (2%, 3%, 4%, 6% y 7%) con el fin de identificar la dosis óptima de suplementación.
- Realizar pruebas de fertilidad in vivo mediante inseminación artificial para confirmar si las mejoras observadas en laboratorio se traducen en mayores tasas de preñez.
- Estandarizar el proceso de elaboración del polvo de jitomate casero para disminuir la variabilidad asociada al secado, molienda y almacenamiento del producto.
- Considerar estudios de estabilidad del diluyente suplementado para determinar tiempos máximos de conservación y uso antes de la congelación.}

Metas Alcanzadas

- Se evaluó el efecto de la suplementación del diluyente seminal con polvo de jitomate en la calidad espermática post-descongelación.
- Se compararon los parámetros de calidad seminal entre el grupo control y los tratamientos suplementados, identificando diferencias en su comportamiento.
- Se determinó la influencia de diferentes concentraciones y presentaciones de polvo de jitomate sobre variables como motilidad, viabilidad y criosupervivencia.
- Se evidenció un efecto protector general de la suplementación, asociado a una posible acción antioxidante frente al estrés de la criopreservación.
- Se comprobó la viabilidad técnica de incorporar polvo de jitomate al protocolo de criopreservación sin afectar el procedimiento estándar.
- Se identificó una concentración con mejor desempeño global dentro de las evaluadas, como base para futuras investigaciones.

Referencias

1. Afriani, T., Jaswandi, R. A., Al Razzak, M. C., & Wahyudi, D. (2023). Addition of tomato juice as additive in diluent of egg yolk citrate on the quality of Pesisir Cattle Semen. *Journal of Animal Health and Production*, 11(1), 62-7.
2. Ali, N., Memon, A., Kaka, A., Mirani, A., Panhwar, M., Solangi, N., & Vistro, M. A. (2024). In-vitro and in-vivo fertilizing potential of kamohri buck semen frozen in tris-based egg yolk extender supplemented with selenium. *Journal of Animal Health and Production*, 12, 64-70.
3. Badin, E. E., Quevedo-Leon, R., Ibarz, A., Ribotta, P. D., & Lespinard, A. R. (2021). Kinetic modeling of thermal degradation of color, lycopene, and ascorbic acid in crushed tomato. *Food and Bioprocess Technology*, 14(2), 324-333.

4. Calle Crespo, C., Villacrés Matías, J. C., Solís Lucas, L. G., & Delgado Mena, F. A. (2025). Parámetros de calidad del semen bovino utilizando diferentes medios de criopreservación. *Archivos de Zootecnia*, 74(287), 1–10.
5. Campos-Lozada, G., Pérez-Marroquín, X. A., Callejas-Quijada, G., Campos-Montiel, R. G., Morales-Peñaloza, A., León-López, A., & Aguirre-Álvarez, G. (2022). The effect of high-intensity ultrasound and natural oils on the extraction and antioxidant activity of lycopene from tomato (*Solanum lycopersicum*) waste. *Antioxidants*, 11(7), 1404.
6. Carvalho, F. E., Ferraz, J. B. S., Pedrosa, V. B., Matos, E. C., Eler, J. P., Silva, M. R., ... & Brito, L. F. (2023). Genetic parameters for various semen production and quality traits and indicators of male and female reproductive performance in Nellore cattle. *BMC Genomics*, 24(1), 150.
7. Castro, C. D. S., Cotrim, C. F. C., Santos, I. R. D., Santos, K. J. G. D., Paula, J. A. M. D., Caramori, S. S., & Borges, L. L. (2022). Application of natural antioxidants in animal reproduction. *Ciência Animal Brasileira*, 23, e-73601E.
8. Castro, M., Leal, K., Pezo, F., & Contreras, M. J. (2025). Sperm Membrane: Molecular Implications and Strategies for Cryopreservation in Productive Species. *Animals*, 15(12), 1808.
9. Chicaiza-Cabezas, N., Garcia-Herreros, M., & Aponte, P. M. (2023). Germplasm cryopreservation in bulls: Effects of gonadal tissue type, cryoprotectant agent, and freezing-thawing rates on sperm quality parameters. *Cryobiology*, 110, 24–35.
10. Elvania, R., Rostini, T., Sakiman, S. A., Adriani, E., & Malik, A. (2024). Frozen semen quality of Kalang buffalo using lycopene. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 12(1), 189–193.
11. Hu, Y., Lu, Z., Hu, J., Zhou, Y., & Zhao, G. (2022). Bamboo leaf flavonoids improve the quality of frozen-thawed bull semen by enhancing antioxidant capacity. *Animal Reproduction Science*, 247, 107137.
12. Imran, M., Ghorat, F., Ul-Haq, I., Ur-Rehman, H., Aslam, F., Heydari, M., ... & Rebezov, M. (2020). Lycopene as a natural antioxidant used to prevent human health disorders. *Antioxidants*, 9(8), 706.
13. Kishore, N., Reddy, K. S., Ghosh, S. K., & Maurya, S. K. (2021). Effect of lycopene supplementation on the quality and antioxidant capacity of frozen-thawed bull semen. *Andrologia*, 53(9), e14144.
14. Li, Z., Wang, H., Yuan, C., Lu, P., Zhou, Y., Lu, W., ... & Wang, J. (2022). Epigallocatechin 3-gallate improves the quality of bull semen cryopreservation. *Andrologia*, 54(1), e14310.
15. Long, Y., Paengkoum, S., Lu, S., Niu, X., Thongpea, S., Taethaisong, N., ... & Paengkoum, P. (2024). Physicochemical properties, mechanism of action of

- lycopene and its application in poultry and ruminant production. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, 1364589.
16. Lu, S., Chen, S., Li, H., Paengkoum, S., Taethaisong, N., Meethip, W., ... & Paengkoum, P. (2022). Sustainable valorization of tomato pomace (*Lycopersicon esculentum*) in animal nutrition: a review. *Animals*, 12(23), 3294.
 17. Marinaccio, L., Zengin, G., Bender, O., Cichelli, A., Novellino, E., Stefanucci, A., & Mollica, A. (2024). Ultrasound assisted lycopene extraction from tomato skin waste by volatile natural deep eutectic solvent. *Food Chemistry Advances*, 4, 100656.
 18. Moagi, K. C., Chitura, T. E. E. D. Z. A. I., & Raseona, A. M. (2025). Additives used as stimulative and cryoprotective agents in bovine semen cryopreservation: a systematic review. *Animal Production Science*, 65(12), AN25104.
 19. Moretti, E., Signorini, C., Corsaro, R., Liguori, L., Saso, L., & Collodel, G. (2024). Compounds with antioxidant activity as a supplement of media used for human semen cryopreservation: a narrative review. *Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents*, 38(3), 1779-1795.
 20. Neubert, M. L., Khan, M. U., Jung, M., Bajcsy, Á. C., & Schulze, M. (2025). Effect of the freezer and straw positioning on the post-thaw quality of bull spermatozoa: A comparative study. *Animal reproduction science*, 282, 108021.
 21. Sapanidou, V., Tsantarliotou, M. P., & Lavrentiadou, S. N. (2023). A review of the use of antioxidants in bovine sperm preparation protocols. *Reproduction in Domestic Animals*.
 22. Sharafi, M., Borghei-Rad, S. M., Hezavehei, M., Shahverdi, A., & Benson, J. D. (2022). Cryopreservation of semen in domestic animals: A review of current challenges, applications, and prospective strategies. *Animals*, 12(23), 3271
 23. Shi, L., Jin, X., Xu, Y., Xing, Y., Yan, S., Guo, Y., ... & Shi, B. (2022). Effects of total flavonoids of *artemisia ordosica* on growth performance, oxidative stress, and antioxidant status of lipopolysaccharide-challenged broilers. *Antioxidants*, 11(10), 1985.
 24. Simsek, S., Hitit, M., Bodu, M., & Memili, E. (2025). Sperm Cell Membranes of Bulls and Bucks Associated with Sperm Fertility and Freezability. *Animals*, 15(22), 3248.
 25. Singh, A. K., Saxena, A., Swain, D. K., Yadav, B., Kumar, A., Kumar, M., & Agrawal, J. K. (2024). Cryoprotective assessment of lycopene in tris-based extender on freezability of bull semen. *Indian Journal of Animal Research*, 1(6).
 26. Singh, P., Bedi, M. K., Singhal, S., Singh, A. K., Kumar, A., & Honparkhe, M. (2022). Effect of graphene oxide as cryoprotectant on post-thaw sperm functional and kinetic parameters of cross bred (HF X Sahiwal) and Murrah buffalo (*Bubalus bubalis*) bulls. *Cryobiology*, 106, 102-112.

27. Tamargo, C., Garriga, F., Yeste, M., Pinart, E., Muiño, R., Carbajo, M. T., & Hidalgo, C. O. (2024). Predictive Indicators of Cryotolerance and Fertility in Bovine Sperm: Evaluating Fresh Semen Quality to Improve AI Outcomes With Frozen–Thawed Sperm. *Reproduction in Domestic Animals*, 59(11), e14742.
28. Torocio, S. M. B., Compendio, J. D. Z., & Ordanel, T. A. (2025). Possibility of Tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit juice as Semen Extender Supplemented and its effect on the Quality of Large White Boar (*Sus scrofa domestica*) Spermatozoa. *IJSAT-International Journal on Science and Technology*, 16(2).
29. Tuncer, P. B., Sariözkan, S., Bucak, M. N., & Büyükleblebici, S. (2021). Antioxidant supplementation ameliorates bull sperm parameters and fertilizing ability following the freeze-thaw process. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 45(3), 457-462.
30. Vigolo, V. (2022). Relationships between biomarkers of oxidative stress in seminal plasma and sperm motility in bulls before and after cryopreservation. *Animals*, 12(19), 2534.
31. Yadav, D. K., Kumar, A., Gupta, S., Sethi, M., Kumar, G., Swain, D. K., & Saxena, A. (2022). Effect of addition of Melatonin in Tris egg yolk glycerol extender on post-thaw seminal attributes of Haryana bull. *Biochemical & Cellular Archives*, 22(2).
32. Younus, A. M., Yamanaka, T., & Shimada, M. (2024). The protective effects of antioxidants against endogenous and exogenous oxidative stress on bull sperm. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 60(9), 969-982.
33. Zadeh, A. M., Mirghelenj, S. A., Daneshyar, M., Eslami, M., Torshizi, M. A. K., & Zhandi, M. (2023). Effects of dietary supplementation of tomato pomace (*Solanum lycopersicum* L.) and L-Arg on reproductive performance of aged male broiler breeders. *Poultry Science*, 102(5), 102614.