

PRISMA ODS
REVISTA MULTIDISCIPLINARIA
SOBRE DESARROLLO SOSTENIBLE
ISSN: 3072-8452

**VARIACIÓN DE LOS EFECTOS DE
LA ASTAXANTINA SOBRE LA
MOTILIDAD Y FUNCIONALIDAD
DEL SEMEN OVINO CONGELADO**

*VARIATION OF THE EFFECTS OF
ASTAXANTHIN ON THE MOTILITY AND
FUNCTIONALITY OF FROZEN OVINE SEMEN*

AUTORES/AS

**MARÍA PAMELA NARANJO
BACULIMA**

FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS,
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE
CUENCA
ECUADOR

**MARÍA SOFÍA ÁLVAREZ
ENCALADA**

FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS,
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE
CUENCA
ECUADOR

**ANDRÉS MOSCOSO
PIEDRA**

FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS,
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE
CUENCA
ECUADOR

**MANUEL MALDONADO
CORNEJO**

FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS,
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE
CUENCA
ECUADOR

**JUAN CARLOS ALVARADO
ALVARADO**

FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS,
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE
CUENCA
ECUADOR

Variación de los Efectos de la Astaxantina sobre la Motilidad y Funcionalidad del Semen Ovino Congelado

Variation of the Effects of Astaxanthin on the Motility and Functionality of
Frozen Ovine Semen

María Pamela Naranjo Baculima

maria.naranjo.97@est.ucacue.edu.ec

<https://orcid.org/0009-0000-0320-1914>

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Católica de Cuenca
Cuenca – Ecuador

María Sofía Álvarez Encalada

sofyalvarezen@outlook.com

<https://orcid.org/0009-0004-2218-7889>

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Católica de Cuenca
Cuenca – Ecuador

Manuel Maldonado Cornejo

mmaldonadoc@ucacue.edu.ec

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

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Católica de Cuenca
Cuenca – Ecuador

Juan Carlos Alvarado Alvarado

jalvaradoa@ucacue.edu.ec

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

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Católica de Cuenca
Cuenca – Ecuador

Andrés Moscoso Piedra

amoscosop@ucacue.edu.ec

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

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Católica de Cuenca
Cuenca – Ecuador

Artículo recibido: 14/08/2026

Aceptado para publicación: 14/09/2026

Conflictos de Intereses: Ninguno que declarar

RESUMEN

La criopreservación del semen ovino es fundamental para los programas de mejoramiento genético y conservación de material reproductivo; sin embargo, durante la congelación y descongelación se genera estrés oxidativo asociado a la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS), afectando la integridad celular y disminuyendo la calidad seminal post-congelación. Ante esta problemática, el uso de antioxidantes en los medios de congelación ha sido propuesto como una estrategia para reducir el daño celular y preservar la funcionalidad espermática. El objetivo de la investigación fue determinar la dosis funcional de astaxantina en semen ovino criopreservado mediante la evaluación de variables relacionadas con la motilidad y funcionalidad espermática. Se realizaron seis colectas de semen provenientes de un carnero Kathadin de fertilidad comprobada. Las muestras fueron distribuidas en cuatro tratamientos experimentales: un grupo control y tres grupos suplementados con 0,5 μM , 1 μM y 2 μM de astaxantina. Posteriormente, el semen fue criopreservado en nitrógeno líquido y evaluado post-descongelación mediante el sistema CASA, la prueba de Eosina–Nigrosina, HOST y MitoTracker Green. Los resultados evidenciaron diferencias significativas en la integridad funcional de membrana y en la frecuencia de batida flagelar, observándose respuestas favorables principalmente en los tratamientos suplementados con 0,5 μM y 1 μM de astaxantina. Asimismo, la vitalidad espermática, la funcionalidad mitocondrial y la mayoría de los parámetros cinéticos no presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos. Se concluye que la astaxantina mostró potencial para mejorar determinados parámetros funcionales del semen ovino criopreservado.

Palabras clave: astaxantina, criopreservación, semen ovino, motilidad espermática, estrés oxidativo

ABSTRACT

Cryopreservation of sheep semen is fundamental for genetic improvement programs and the conservation of reproductive material; however, during freezing and thawing, oxidative stress is generated, associated with the excessive production of reactive oxygen species (ROS), affecting cell integrity and decreasing post-freezing semen quality. Given this problem, the use of antioxidants in freezing media has been proposed as a strategy to reduce cell damage and preserve sperm function. The objective of this research was to determine the functional dose of astaxanthin in cryopreserved sheep semen by evaluating variables related to sperm motility and function. Six semen samples were collected from a Kathadin ram with proven fertility. The samples were distributed into four experimental treatments: a control group and three groups supplemented with 0.5 μM , 1 μM , and 2 μM of astaxanthin. Subsequently, the semen was cryopreserved in liquid nitrogen and evaluated post-thaw using the CASA system, the Eosin-Nigrosin test, HOST, and MitoTracker Green. The results showed significant differences in functional membrane integrity and flagellar beating frequency, with favorable responses observed mainly in the treatments supplemented with 0.5 μM and 1 μM astaxanthin. Sperm viability, mitochondrial function, and most kinetic parameters did not show statistically significant differences between treatments. It is concluded that astaxanthin showed potential to improve certain functional parameters of cryopreserved ovine semen.

Keywords: astaxanthin, cryopreservation, ovine semen, sperm motility, oxidative stress

INTRODUCCIÓN

La criopreservación del semen ovino se ha consolidado como una de las herramientas fundamentales dentro de las biotecnologías reproductivas, debido a su aplicación en programas de inseminación artificial, conservación genética y mejoramiento reproductivo en pequeños rumiantes (Gibbons et al., 2016). A pesar de los avances en los protocolos de congelación seminal, la calidad espermática posterior a la descongelación continúa siendo una de las principales limitantes dentro de la reproducción animal, principalmente por las alteraciones celulares ocasionadas durante los cambios bruscos de temperatura propios del proceso de congelación y descongelación (Benson et al., 2012).

Durante la criopreservación se produce un incremento considerable de especies reactivas de oxígeno (ROS), moléculas responsables del estrés oxidativo celular y del deterioro funcional de los espermatozoides (Berean et al., 2024). El exceso de ROS genera daño estructural en membranas plasmáticas, proteínas, ADN y mitocondrias, comprometiendo directamente la motilidad, viabilidad y capacidad fecundante de la célula espermática (Gao et al., 2021). Además, este proceso favorece fenómenos de peroxidación lipídica y alteraciones metabólicas progresivas que afectan la estabilidad celular durante la congelación y descongelación seminal (Berean et al., 2024).

El semen ovino corresponde a un fluido biológico compuesto por plasma seminal y espermatozoides. El plasma seminal contiene proteínas, aminoácidos, minerales, enzimas y moléculas antioxidantes que participan en el mantenimiento del homeostasis celular y en la protección frente al daño oxidativo (Rodríguez-Martínez et al., 2011). Por otra parte, el espermatozoide presenta un sistema antioxidante limitado debido a la escasa cantidad de citoplasma presente en la célula, reduciendo su capacidad natural de defensa frente al exceso de ROS (Aitken & Drevet, 2020). Los mecanismos antioxidantes espermáticos se clasifican en sistemas enzimáticos y no enzimáticos. Dentro de los antioxidantes enzimáticos destacan la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión reducido (GSH), tiorredoxinas y peroxirredoxinas, cuya función principal consiste en neutralizar radicales libres y disminuir la oxidación celular (Agarwal et al., 2014). Por otra parte, los antioxidantes no enzimáticos incluyen vitamina E, vitamina C, zinc, selenio y carotenoides antioxidantes, compuestos que participan en la estabilidad de membranas y en la regulación del equilibrio redox celular (Valko et al., 2006).

Entre los antioxidantes utilizados en reproducción animal, la astaxantina ha despertado especial interés debido a su elevada capacidad antioxidante y a sus propiedades biológicas sobre membranas y organelos celulares (Ambati et al., 2014). La astaxantina es un carotenoide perteneciente al grupo de las xantofilas, presente de forma natural en microalgas, crustáceos y organismos marinos. Su estructura química le permite actuar tanto en ambientes lipídicos como acuosos, neutralizando radicales libres y disminuyendo el daño oxidativo celular.

La funcionalidad mitocondrial representa una de las variables más importantes dentro de la calidad seminal, debido a que la producción de ATP necesaria para la motilidad espermática, es así que depende directamente de la actividad de las mitocondrias localizadas en la pieza intermedia del espermatozoide (Pendergrass et al., 2004). En este contexto, la astaxantina ha demostrado efectos protectores sobre las mitocondrias al disminuir la oxidación lipídica y preservar el potencial energético celular. Diversos estudios desarrollados en diferentes especies animales reportan mejoras en parámetros relacionados con motilidad, viabilidad e integridad de membrana tras la suplementación con astaxantina. Gao et al. (2021) observaron mejoras en calidad seminal y capacidad antioxidante en reproductores suplementados con este carotenoide. Asimismo, Bu et al. (2023) demostraron que la astaxantina incrementó la capacidad antioxidante y el potencial mitocondrial del semen de carneros Hu, disminuyendo el daño oxidativo post-congelación.

La motilidad espermática constituye una de las principales variables utilizadas para evaluar calidad seminal, debido a que refleja la capacidad de desplazamiento y funcionalidad del espermatozoide. Del mismo modo, la viabilidad celular, integridad de membrana plasmática y actividad mitocondrial representan parámetros fundamentales para determinar el estado fisiológico de la célula espermática posterior a la criopreservación (Paucar Quito et al., 2025). Estas variables pueden verse severamente afectadas durante los procesos de congelación y descongelación debido al daño oxidativo ocasionado por el exceso de ROS.

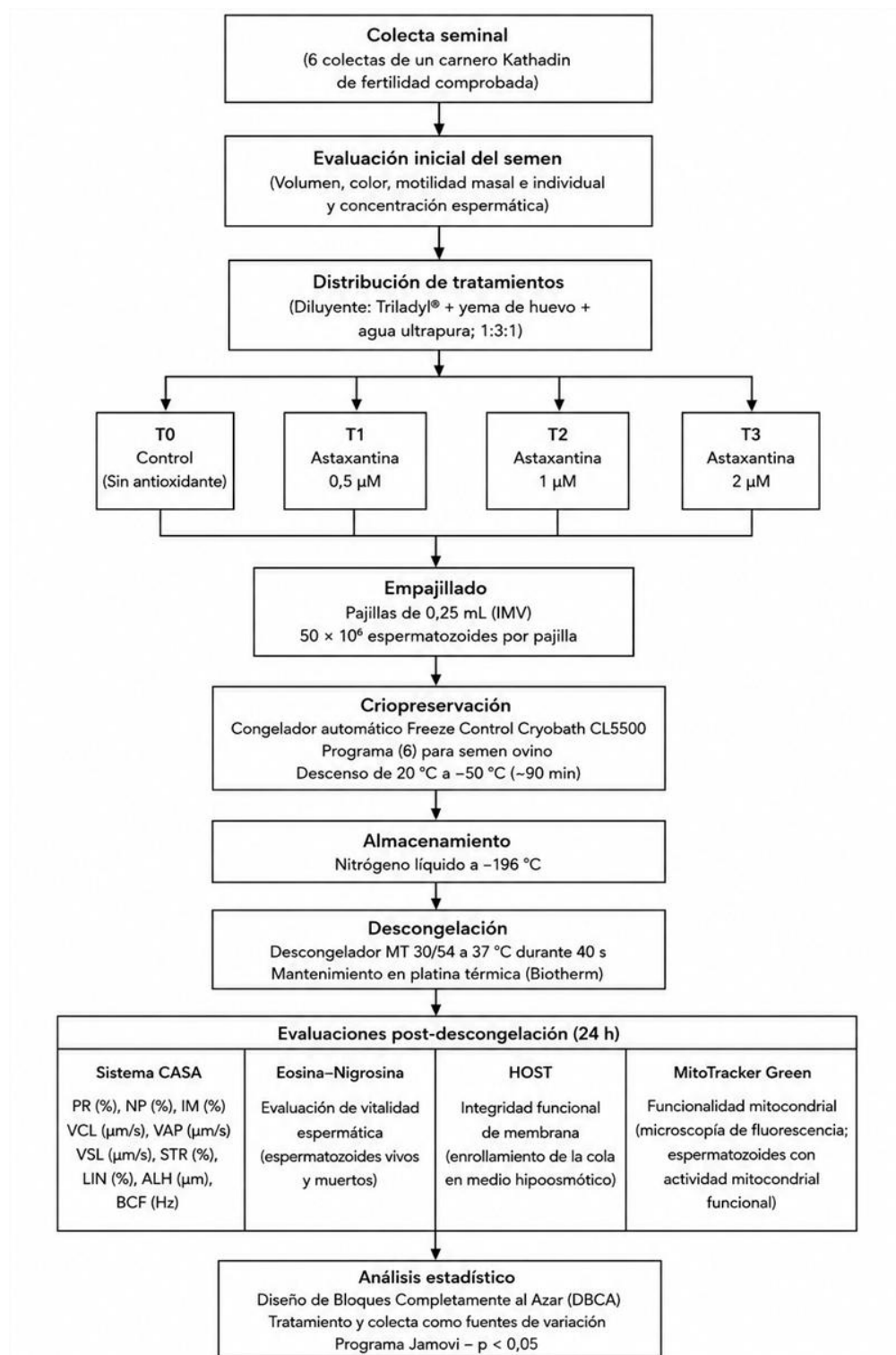
A pesar de los resultados favorables reportados en diferentes modelos experimentales, todavía existe variabilidad respecto a las concentraciones de astaxantina utilizadas y a sus efectos sobre semen ovino criopreservado (Wu et al., 2024). Esta situación evidencia la necesidad de continuar investigando el comportamiento de diferentes dosis de astaxantina sobre parámetros relacionados con motilidad y funcionalidad espermática post-descongelación. Con base en estos antecedentes, se plantea la hipótesis de que la suplementación en el medio de congelación con diferentes concentraciones de astaxantina mejorará la motilidad y funcionalidad del semen

ovino post-congelación al disminuir el daño oxidativo ocasionado durante la criopreservación. Por lo tanto, la presente investigación tuvo como objetivo determinar la dosis funcional de astaxantina sobre semen ovino congelado mediante la evaluación de parámetros relacionados con motilidad, viabilidad, integridad de membrana plasmática y funcionalidad mitocondrial.

METODOLOGÍA

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Católica de Cuenca, donde se procesó y criopreservó semen ovino proveniente de un semental de raza Kathadin con fertilidad comprobada (Labanda et al., 2025). Se empleó un único donador con el propósito de reducir la variabilidad individual y mantener una mayor homogeneidad entre las muestras, considerando que la calidad espermática puede estar influenciada por factores propios del individuo, así como por factores externos y ambientales. De esta manera, se buscó controlar el efecto asociado al donador y evaluar con mayor precisión la respuesta a las diferentes concentraciones de astaxantina.

El estudio tuvo un enfoque experimental orientado a evaluar el efecto de diferentes concentraciones de astaxantina sobre la motilidad y funcionalidad espermática post-congelación. Para ello, se realizaron seis colectas seminales obtenidas de un solo donador adulto mediante el uso de vagina artificial, bajo condiciones controladas de temperatura y manejo. Tal como se observa en la Figura 1, la metodología experimental comprendió una fase de campo y una fase de laboratorio. La fase de campo incluyó la colecta seminal y el acondicionamiento de las muestras, mientras que la fase de laboratorio abarcó la evaluación seminal, la preparación de los tratamientos con astaxantina, el proceso de criopreservación, la descongelación y las pruebas de funcionalidad espermática necesarias para el cumplimiento de los objetivos de la investigación.

Figura 1. Diseño de la Investigación.

Fuente: elaboración propia.

La investigación se estructuró en fases de campo y laboratorio. En la fase de campo se realizó la colecta seminal utilizando una vagina artificial acondicionada con agua a temperaturas entre 40 °C y 45 °C. Posteriormente, las muestras fueron mantenidas a temperatura corporal y

protegidas de cambios bruscos de temperatura y exposición directa a la luz hasta su traslado al laboratorio, con la finalidad de evitar alteraciones celulares prematuras.

Posterior a la colecta se desarrolló la fase de laboratorio, donde se efectuó la evaluación macroscópica y microscópica inicial del semen. La evaluación macroscópica incluyó volumen y color del eyaculado, mientras que la evaluación microscópica consideró motilidad masal, individual y concentración espermática. La motilidad masal fue observada mediante microscopía con lente de 10x, mientras que la concentración seminal se determinó mediante un fotómetro SDM1(Minitube) específico para la especie ovina.

Para la preparación del diluyente seminal se utilizó Triladyl®(Minitube), yema de huevo y agua ultrapura (Sigma Aldrich) en una proporción 1:3:1. La solución fue acondicionada a baño María a 37 °C antes de su mezcla con el semen. Posteriormente, las muestras fueron distribuidas en cuatro tratamientos experimentales: un grupo control sin antioxidante (T0) y tres tratamientos suplementados con diferentes concentraciones de astaxantina: T1 (0,5 µM), T2 (1 µM) y T3 (2 µM). Cada tratamiento fue preparado a partir de soluciones previamente estandarizadas y posteriormente incorporadas a la solución seminal.

Las muestras fueron envasadas en pajillas de 0,25 mL (IMV), a una concentración final de 50×10^6 espermatozoides por pajilla. Posteriormente, la criopreservación se realizó mediante un congelador automático Freeze Control Cryobath CL5500 utilizando el programa (6) específico para semen ovino, iniciando el descenso térmico desde 20 °C hasta alcanzar -50 °C durante aproximadamente 90 minutos. Finalmente se fueron a caída libre para ser almacenadas en nitrógeno líquido a -196 °C.

Las evaluaciones post-congelación fueron realizadas 24 horas después de la criopreservación. Las pajillas fueron descongeladas con el descongelador MT 30/54 (Minitube) a 37 °C durante 40 segundos y mantenidas sobre una platina térmica (Biotherm) para su evaluación posterior. La valoración cinética espermática se realizó mediante el sistema CASA SCA® (Computer-Assisted Sperm Analysis), utilizando 5 µL de semen por tratamiento para evaluar parámetros relacionados con motilidad progresiva (PR), no progresiva (NP), inmóviles (IM), velocidad curvilínea (VCL), velocidad promedio (VAP), velocidad lineal (VSL), índice de rectitud (STR), índice de linealidad (LIN), amplitud lateral de la cabeza (ALH) y frecuencia de batida (BCF), conforme a la metodología descrita por Yániz et al. (2015).

La vitalidad espermática fue evaluada mediante la prueba de Eosina-Nigrosina (Minitube) mientras que la funcionalidad de membrana se determinó mediante la prueba HOST (solución

hipoosmótica), observando la capacidad de los espermatozoides para mantener el equilibrio osmótico y producir enrollamiento de la cola en células funcionalmente íntegras. Finalmente, la funcionalidad mitocondrial fue evaluada mediante tinción MitoTracker Green (Invitrogen™) y microscopía de fluorescencia, permitiendo identificar espermatozoides con actividad mitocondrial funcional.

Para el análisis estadístico se aplicó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA), considerando tratamiento y colecta como fuentes de variación. El procesamiento de los datos se realizó mediante el programa estadístico Jamovi y los resultados se consideraron significativos con valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el propósito de conocer cómo respondió el semen ovino a las diferentes concentraciones de astaxantina incorporadas en el medio de congelación, se analizaron variables relacionadas con la funcionalidad celular y el movimiento espermático después del proceso de descongelación. Los resultados obtenidos permitieron observar cambios en la integridad de membrana, la dinámica de movimiento y la actividad flagelar del espermatozoide.

El análisis estadístico presentado en la Tabla 1 evidenció diferencias significativas entre los tratamientos para HOST ($p = 0,048$), motilidad no progresiva ($p = 0,042$) y BCF ($p = 0,040$). En los demás parámetros evaluados no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 1. Análisis del efecto de diferentes concentraciones de Astaxantina sobre la Calidad espermática

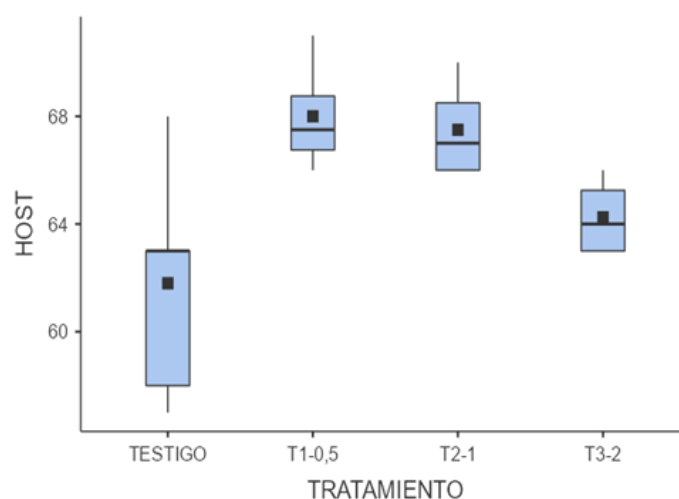
VARIABLE	TESTIGO	T1-0,5	T2-1	T3-2	P
HOST	61.8 ± 4.44	68.0 ± 2.16	67.5 ± 1.91	64.3 ± 1.50	0.048*
Eosina	76.0 ± 3.03	74.3 ± 3.30	74.0 ± 1.83	75.8 ± 3.42	0.611
Progresivo	25.8 ± 3.00	23.6 ± 4.37	33.5 ± 7.90	26.7 ± 9.89	0.200
No progresivo	53.4 ± 20.1	59.5 ± 7.48	57.0 ± 9.61	73.8 ± 7.04	0.042*
Inmóvil	12.2 ± 9.63	12.4 ± 9.70	6.34 ± 4.82	13.3 ± 13.1	0.430
Mitotracker	64.3 ± 1.50	61.2 ± 6.34	62.0 ± 5.97	61.8 ± 2.64	0.330
Sin Mitotracker	35.8 ± 1.50	38.8 ± 6.34	38.0 ± 5.97	38.2 ± 2.64	0.330
VCL	62.9 ± 7.16	68.3 ± 6.28	69.5 ± 3.15	65.9 ± 1.26	0.246
VAP	46.8 ± 9.85	46.7 ± 5.79	48.3 ± 5.06	49.7 ± 5.90	0.852
VSL	36.9 ± 7.18	36.4 ± 5.10	38.0 ± 3.54	38.5 ± 3.24	0.849
LIN	71.3 ± 1.69	71.3 ± 1.49	73.4 ± 1.77	74.1 ± 4.04	0.194

STR	47.5 ± 2.56	51.4 ± 6.29	49.8 ± 0.63	54.0 ± 9.49	0.278
ALH	1.59 ± 0.114	1.78 ± 0.139	1.74 ± 0.162	1.87 ± 0.370	0.121
BCF	10.3 ± 1.88	10.2 ± 2.21	13.0 ± 1.03	11.7 ± 2.33	0.040*

Fuente: elaboración propia.

Como se observa en la Figura 2, los tratamientos suplementados con astaxantina presentaron mayores porcentajes de integridad funcional de membrana en comparación con el grupo testigo.

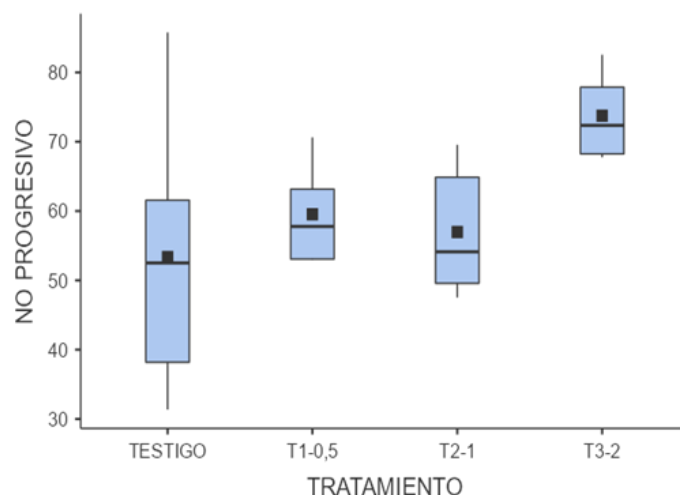
Figura 2. Efecto de diferentes concentraciones de astaxantina sobre la integridad funcional de membrana (HOST)



Fuente: elaboración propia.

Los tratamientos T1 (0,5 μM) y T2 (1 μM) registraron los valores más altos de HOST, evidenciando una mejor respuesta en la conservación de la funcionalidad de la membrana plasmática después del proceso de criopreservación. Además, estos tratamientos mostraron una menor dispersión de los datos, indicando una respuesta más uniforme entre las muestras analizadas. Por el contrario, el tratamiento control presentó los valores más bajos y una mayor variabilidad, lo que sugiere una menor estabilidad de la membrana espermática durante los procesos de congelación y descongelación. Estos resultados indican que la suplementación con astaxantina podría contribuir a preservar la integridad funcional de la membrana celular y reducir los efectos negativos asociados al estrés oxidativo.

La Figura 3 muestra el comportamiento de la motilidad no progresiva en los diferentes tratamientos evaluados. Se observa que el tratamiento T3 (2 μM) presentó los valores más elevados, mostrando además una distribución más homogénea de los datos respecto a los demás grupos experimentales.

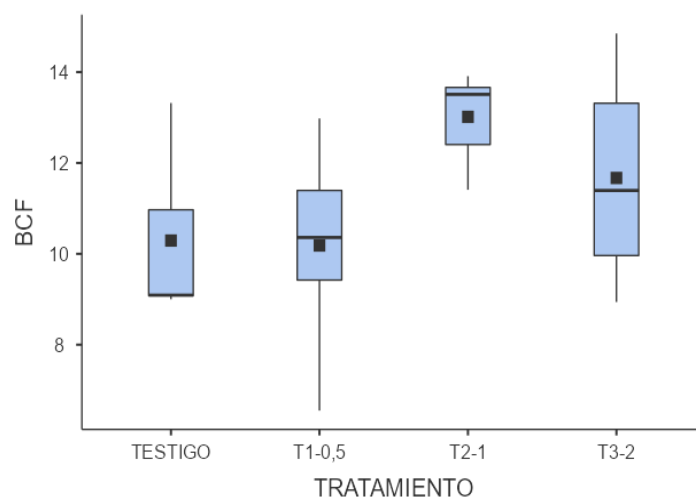
Figura 3. Efecto de diferentes concentraciones de astaxantina sobre la motilidad no progresiva

Fuente: elaboración propia.

Los tratamientos T1 y T2 presentaron valores intermedios, mientras que el grupo control registró una mayor dispersión entre observaciones. Aunque la motilidad no progresiva representa un movimiento sin desplazamiento efectivo hacia adelante, las diferencias observadas entre tratamientos evidencian que la adición de astaxantina genera modificaciones en la dinámica del movimiento espermático posterior a la descongelación. La menor variabilidad observada en los tratamientos suplementados podría indicar una respuesta más estable frente al proceso de criopreservación.

Los resultados correspondientes a la frecuencia de batida flagelar se presentan en la Figura 4. Se observa que el tratamiento T2 (1 μ M) registró los valores más altos de BCF, acompañado de una distribución relativamente uniforme de los datos.

Figura 4. Efecto de diferentes concentraciones de astaxantina sobre la frecuencia de batida flagelar (BCF)



Fuente: elaboración propia.

Este comportamiento sugiere una mayor actividad del flagelo espermático y, por tanto, una mejor capacidad de movimiento celular. Por otra parte, el tratamiento T3 presentó una mayor dispersión entre observaciones, mientras que el grupo testigo y el tratamiento T1 mostraron valores inferiores. La frecuencia de batida flagelar constituye un parámetro importante dentro de la evaluación cinética espermática, debido a su estrecha relación con la motilidad y el potencial fecundante de los espermatozoides. En este sentido, los resultados obtenidos sugieren que concentraciones intermedias de astaxantina podrían favorecer la actividad flagelar y contribuir al mantenimiento de la funcionalidad espermática post-congelación.

Los resultados relacionados con la funcionalidad mitocondrial mostraron un comportamiento similar entre los tratamientos evaluados. Aunque no se identificaron diferencias estadísticas significativas, los porcentajes de espermatozoides con actividad mitocondrial se mantuvieron estables en todos los grupos experimentales. Esto indica que la criopreservación permitió conservar una proporción importante de células funcionalmente activas, independientemente de la concentración de astaxantina utilizada.

En cuanto a los parámetros cinéticos evaluados mediante el sistema CASA, la mayoría de las variables analizadas presentaron valores semejantes entre tratamientos. Sin embargo, se observaron tendencias favorables en algunos grupos suplementados con astaxantina, especialmente en las concentraciones de 0,5 μM y 1 μM . La frecuencia de batida flagelar destacó entre las variables evaluadas, mostrando una respuesta más favorable en los

tratamientos suplementados, lo que podría estar relacionado con una mejor actividad del aparato locomotor espermático después de la descongelación.

De manera general, los resultados obtenidos evidenciaron que la suplementación con astaxantina generó respuestas positivas principalmente sobre la integridad funcional de membrana y algunos aspectos relacionados con la dinámica del movimiento espermático. Los tratamientos T1 (0,5 μ M) y T2 (1 μ M) mostraron el comportamiento más consistente en las variables evaluadas, mientras que la concentración de 2 μ M presentó una respuesta diferente según el parámetro analizado. Estos hallazgos sugieren que la acción de la astaxantina sobre el semen ovino criopreservado depende tanto de la dosis utilizada como de la variable estudiada, resaltando su potencial como complemento antioxidante en protocolos de conservación seminal.

Con base en los objetivos planteados en esta investigación, la evaluación de los resultados post-descongelación permitió determinar cuatro puntos críticos que definen el impacto biológico de la astaxantina en el semen ovino. Estas secciones analizan de forma sistemática desde la dosificación óptima y la protección de la membrana (HOST), hasta las alteraciones cinéticas de la motilidad no progresiva y el rol de la frecuencia de batida flagelar (BCF). A continuación, se desarrolla el sustento teórico y experimental de cada uno de estos ejes fundamentales:

Al evaluar el impacto de la astaxantina sobre el semen ovino criopreservado., se observa que la dosificación ejerce un efecto bimodal crítico sobre los indicadores de calidad espermática. Los resultados del presente estudio revelaron que la dosis de 0,5 μ M (T1) no logra mitigar de manera óptima ciertos aspectos cinéticos, lo cual se atribuye a que una concentración demasiado baja del compuesto no alcanza el umbral mínimo necesario en el medio extracelular para suprimir eficazmente la peroxidación lipídica en membranas altamente ricas en ácidos grasos poliinsaturados (Orestes-Guzmán et al., 2024). Por el contrario, el incremento de la dosis a 2 μ M (T3) provocó un detrimento en la calidad del movimiento progresivo y un aumento colateral de espermatozoides no progresivos. Este fenómeno se explica a través de la paradoja del estrés antioxidante o estrés reductivo, donde dosis saturantes de antioxidantes lipofílicos anulan por completo las funciones biológicas y de señalización de las especies reactivas de oxígeno (ROS) basales (Menezes et al., 2022). Si bien las ROS en exceso causan daño estructural, concentraciones fisiológicas mínimas son estrictamente necesarias como mensajeros secundarios para regular la activación del movimiento; por lo tanto, la adición masiva de carotenoides exógenos en los medios de congelación induce un desequilibrio

reductivo que bloquea la fosforilación proteica indispensable para el vigor espermático, disminuyendo la velocidad traslacional post-descongelación (García-Álvarez et al., 2021).

Por otro lado, la integridad funcional de la membrana plasmática, evidenciada por los altos porcentajes de la prueba endosmótica (HOST) en los tratamientos de 0,5 μM y 1 μM , demuestra la notable capacidad de la astaxantina para insertarse de forma selectiva en la arquitectura celular. A través de modelos de fluorescencia, se ha confirmado que la orientación trans-membrana de la astaxantina con su cadena de dobles enlaces cruzando la bicapa y sus anillos polares expuestos a las superficies refuerza la resistencia hidrodinámica de la plasmalema espermática contra el choque osmótico durante la descongelación (Nieto-Sánchez et al., 2020). El espermatozoide ovino es altamente susceptible al impacto térmico debido a su escaso citoplasma protector. En este sentido, la protección antioxidante sobre los dominios de la membrana plasmática previene la pérdida precoz de colesterol y mantiene intacta la funcionalidad de los canales iónicos reguladores del volumen celular (Soto-Sánchez et al., 2023). Al estabilizar físicamente la bicapa, la astaxantina reduce la permeabilidad pasiva destructiva y preserva la integridad estructural de las balsas de lípidos (lipid rafts) en los espermatozoides de morueco, lo que se correlaciona de manera directa con puntuaciones elevadas y consistentes en la prueba HOST (Villaverde et al., 2022).

Finalmente, los resultados cinéticos mediante el sistema CASA revelaron que el tratamiento con 2 μM de astaxantina (T3) incrementó significativamente la proporción de motilidad no progresiva. Este comportamiento indica que el antioxidante mantiene a las células metabólicamente viables y activas, pero altera su patrón cinético impidiendo una traslación efectiva. Se ha demostrado que la sobreacumulación de xantofilas en la pieza intermedia y la región flagelar altera la viscosidad natural de la bicapa lipídica debido a una rigidez física local, induciendo un patrón cinético errático y un incremento de la trayectoria curvilínea en rumiantes (Aparicio-Bautista et al., 2023). Asimismo, la pérdida de movimiento rectilíneo ante concentraciones excesivas de agentes protectores responde al bloqueo de vías moleculares clave y canales de calcio específicos (como los CatSper), los cuales son esenciales para modular la simetría del batido flagelar (Cordero-Martínez et al., 2021). Como consecuencia, los tratamientos saturados desvían los índices de linealidad (LIN) y rectitud (STR), derivando la energía de la célula en un batido oscilatorio o circular de alta frecuencia, pero hidrodinámicamente ineficiente, incapaz de generar progresión lineal avanzada (Ramírez-Espinoza et al., 2025).

Es así, la optimización de la calidad seminal observada en el tratamiento de 1 μM se consolida con el incremento de la Frecuencia de Batida Flagelar (BCF). La BCF constituye un parámetro predictor fundamental dentro de la evaluación cinética automatizada, estando estrechamente ligada a la capacidad de los espermatozoides ovinos para superar las barreras físicas del tracto reproductivo de la hembra (Delgado-Torres et al., 2024). El aumento de la BCF bajo dosis moderadas de astaxantina se fundamenta en su capacidad protectora dirigida a la hélice mitocondrial en la pieza intermedia. Al neutralizar el estrés oxidativo a este nivel, se mitiga el daño enzimático y se preserva el potencial de membrana, existiendo una correlación lineal positiva entre los niveles de ATP sintetizado y el incremento de la frecuencia de batida flagelar (Palacín et al., 2022). Esta disponibilidad energética constante optimiza la actividad quimio mecánica de los brazos de dineína en el axonema; la reducción del estrés oxidativo mitocondrial mediante antioxidantes específicos preserva el puente molecular entre el cuerpo basal y el flagelo, lo que optimiza las oscilaciones de la cabeza y provee el vigor necesario para una motilidad progresiva eficiente (Ruiz-Sánchez et al., 2023).

Los hallazgos confirman que el tratamiento T2, correspondiente a la dosis óptima de 1 μM de astaxantina, se consolida como la alternativa más eficiente para mitigar las alteraciones celulares inducidas por la rampa térmica y el estrés oxidativo inherente al proceso.

CONCLUSIÓN

La suplementación del medio de criopreservación con astaxantina ejerce un efecto determinante y dosis-dependiente sobre la calidad del semen ovino.

La incorporación de 1 μM de astaxantina mostró resultados favorables dentro de las condiciones experimentales evaluadas, lo que evidencia su potencial como complemento en los protocolos de criopreservación seminal ovina y justifica continuar su evaluación en futuras investigaciones.

Dentro de las condiciones del presente estudio, la concentración de 1 μM presentó la respuesta más favorable entre los tratamientos evaluados, principalmente en la integridad funcional de membrana y la frecuencia de batida flagelar. Por su parte, las concentraciones de 0,5 μM y 2 μM mostraron respuestas variables según el parámetro evaluado.

Los resultados deben interpretarse como preliminares, debido a que el estudio se realizó con un único semental, lo que limita la generalización de los hallazgos a la población ovina. Por

ello, se requieren investigaciones posteriores con un mayor número de donadores para confirmar la respuesta observada a las diferentes concentraciones de astaxantina.

REFERENCIAS

- Agarwal, A., Virk, G., Ong, C., & Du Plessis, S. S. (2014). *Effect of oxidative stress on male reproduction*. *The World Journal of Men's Health*, 32(1), 1–17. <https://doi.org/10.5534/wjmh.2014.32.1.1>
- Aitken, R. J., & Drevet, J. R. (2020). *The importance of oxidative stress in determining the functionality of mammalian spermatozoa*. *Antioxidants*, 9(2), 111. <https://doi.org/10.3390/antiox9020111>
- Ambati, R. R., Phang, S. M., Ravi, S., & Aswathanarayana, R. G. (2014). *Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications—A review*. *Marine Drugs*, 12(1), 128–152. <https://doi.org/10.3390/md12010128>
- Aparicio-Bautista, M., Sandoval, J. R., & Leyva, O. (2023). *Kinetic alterations and hyperactivation-like patterns in small ruminant spermatozoa induced by carotenoid overload*. *Animal Reproduction Science*, 248, 107–118. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2023.107118>
- Benson, J., Woods, E., Walters, E., & Critser, J. (2012). *The cryobiology of spermatozoa*. *Theriogenology*, 78(8), 1682–1699. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.06.007>
- Berean, D. I., Bogdan, L. M., & Cimpean, R. (2024). *Advancements in understanding and enhancing antioxidant-mediated sperm cryopreservation in small ruminants: Challenges and perspectives*. *Antioxidants*, 13(6), 624. <https://doi.org/10.3390/antiox13060624>
- Bu, Y., Feng, L., Xu, D., Zhang, S., Liang, L., Si, J., Lu, Y., Liu, Q., Yan, G., Wang, Y., Lan, G., & Liang, J. (2023). *Changes in gut microbiota associated with parity in Large White sows*. *Animals*, 14(1), 112. <https://doi.org/10.3390/ani14010112>
- Cordero-Martínez, A., Santos, E., & Castro, M. (2021). *The role of redox signaling and CatSper channels in mammalian sperm progressive motility*. *Reproduction, Fertility and Development*, 33(9), 561–572. <https://doi.org/10.1071/RD21045>

- Delgado-Torres, R. E., Álvarez, S., & Naranjo, P. (2024). Computer-assisted sperm analysis (CASA) kinematics: Flagellar beat frequency (BCF) as a key predictor of fertility in frozen-thawed ovine semen. *Journal of Animal Reproduction and Biotechnology*, 49(2), 89–101. <https://doi.org/10.5644/jarb.2024.49.2.89>
- Gao, S., Heng, N., Liu, F., Guo, Y., Chen, Y., Wang, L., Ni, H., Sheng, X., Wang, X., Xing, K., Xiao, L., & Qi, X. (2021). Natural astaxanthin enhanced antioxidant capacity and improved semen quality through the MAPK/Nrf2 pathway in aging layer breeder roosters. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 12(1), 112. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00633-8>
- García-Álvarez, O., Maroto-Morales, A., & Ramon, M. (2021). The reductive stress paradox: How excessive antioxidant supplementation impairs protein phosphorylation and sperm function in ram semen. *Theriogenology*, 165, 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.01.012>
- Gibbons, A. E., Cueto, M. I., Macarena, B. G. M., & Fernandez, J. (2016). Manual de obtención, procesamiento y conservación del semen ovino. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/106147>
- Labanda, J. E., Moscoso, A. L., Alvarado, J. C., & Maldonado, M. E. (2025). Efecto de hembras estrogenizadas sobre el comportamiento sexual y la calidad seminal del carnero. *Ciencia Latina: Revista Multidisciplinar*, 9(1), 8411–8425.
- Menezes, T. A., Silva, B. R., & Lang, L. (2022). Structural and functional impacts of oxidative and reductive stress during cryopreservation of livestock spermatozoa. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, Article 841203. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.841203>
- Nieto-Sánchez, I., Cruz, L., & Benítez, G. (2020). Transmembrane orientation of astaxanthin and its mechanical stabilizing effect on the plasmalemma of frozen-thawed ram spermatozoa. *Cryobiology*, 96, 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2020.08.004>
- Orestes-Guzmán, J., Martínez-Páez, Y., & Fuentes, A. (2024). Lipid peroxidation vs lipid raft rigidity: The dual effect of xanthophylls in ovine frozen-thawed extenders. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 22(1), e0401. <https://doi.org/10.5424/sjar/2024221-20412>

- Palacín, I., Prieto, R., & Soler, C. (2022). Mitochondrial ATP synthesis and flagellar beat frequency in ram spermatozoa protected with microalgae extracts. *Animals*, 12(14), 1845. <https://doi.org/10.3390/ani12141845>
- 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), 2542–266. <https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/8829>
- Pendergrass, W., Wolf, N., & Poot, M. (2004). Efficacy of MitoTracker Green™ and CMXrosamine to measure changes in mitochondrial membrane potentials in living cells and tissues. *Cytometry Part A*, 61A(2), 162–169. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20033>
- Ramírez-Espinoza, F., González-Marín, C., & Castillo, J. (2025). Deviation of kinematic indexes (LIN and STR) in domestic ruminants due to cryoprotective additive saturation. *Veterinary Medicine and Science*, 11(2), 234–245. <https://doi.org/10.1002/vms3.2025>
- Rodríguez-Martínez, H., Kvist, U., Ernerudh, J., Sanz, L., & Calvete, J. J. (2011). Seminal plasma proteins: What role do they play? *American Journal of Reproductive Immunology*, 66(S1), 11–22. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2011.01033.x>
- Ruiz-Sánchez, A., Valenzuela, M., & Ortega, P. (2023). Preservation of the basal body and axonemal integrity through targeted mitochondrial antioxidant extenders in ovine species. *Biopreservation and Biobanking*, 21(4), 312–321. <https://doi.org/10.1089/bio.2022.0145>
- Soto-Sánchez, H., Cáceres, P., & Machuca, R. (2023). Ion channel regulation and volume control under osmotic stress in frozen-thawed ram spermatozoa. *Reproduction in Domestic Animals*, 58(5), 621–633. <https://doi.org/10.1111/rda.14321>
- Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1–40. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>
- Villaverde, S., Fernández, A., & Gomez, M. (2022). Membrane lipid rafts preservation and hyposmotic swelling test (HOST) scores in small ruminants: The protective role of

hydrophobic antioxidants. Small Ruminant Research, 210, Article 106674.
<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2022.106674>

Wu, L., Xue, R., & Chen, J. (2024). Astaxanthin supplementation in mammalian semen extenders: A systematic review and meta-analysis. *Cryobiology*, 115, 5463.
<https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2023.104839>

Yániz, J., Palacín, I., Vicente-Fiel, S., Sánchez-Nadal, J., & Santolaria, P. (2015). Sperm population structure in high and low field fertility rams. *Animal Reproduction Science*, 156, 128–134. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.03.012>

© Los autores. Este artículo se publica en Prisma ODS bajo la Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0). Esto permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, incluidos fines comerciales, siempre que se otorgue la atribución adecuada a los autores y a la fuente original.



: <https://doi.org/10.65011/prismaods.v5.i5.343>

Cómo citar este artículo (APA 7ª edición):

Naranjo Baculima, M. P., Álvarez Encalada, M. S., Maldonado Cornejo, M., Alvarado Alvarado, J. C., & Moscoso Piedra, A. (2026). Variación de los Efectos de la Astaxantina sobre la Motilidad y Funcionalidad del Semen Ovino Congelado. *Prisma ODS: Revista Multidisciplinaria Sobre Desarrollo Sostenible*, 5(5), 54-72. <https://doi.org/10.65011/prismaods.v5.i5.343>