593 Digital Publisher
Revista 593 Digital Publisher (593DP)
Vol. 11, No. 5, Septiembre-Octubre 2026
ISSN 2588-0705

Cómo citar: Cabascango-Tisalema, C., & Monteros-Pazmiño, J., (2026). Efecto de Diferentes Niveles de Vitamina C sobre las Características del Semen Bovino Vitrificado. Revista 593 Digital Publisher CEIT, 11(5), 5-16, https://doi.org/10.33386/593dp.2026.5.4269

Descargar para Mendeley y Zotero

Efecto de Diferentes Niveles de Vitamina C sobre las Características del Semen Bovino Vitrificado

doi.org/10.33386/593dp.2026.5.4269

Carlos Andrés Cabascango-Tisalema*
Jhonatan Adrián Monteros-Pazmiño**

Resumen

La presente revisión bibliográfica analiza el efecto de diferentes niveles de vitamina C (ácido ascórbico) sobre la calidad del semen bovino sometido a criopreservación, con énfasis en motilidad, viabilidad, integridad de membrana y acrosoma, y control del estrés oxidativo. La evidencia se integró considerando estudios con distintas concentraciones, resultados favorables y desfavorables, y comparaciones con otras especies domésticas. Los hallazgos muestran una respuesta dependiente de la dosis, del diluyente, de la raza y de la combinación con otros antioxidantes. En búfalos Murrah, 2,5 mM de vitamina C mejoró la motilidad progresiva, la viabilidad y la integridad acrosomal; en semen Bhadavari, 5 mM produjo mejoras en parámetros postdescongelación. En toros Holstein, 2,5 mM de vitamina C combinada con catalasa o glutatión reducido mostró ventajas frente al control. Sin embargo, en toros Nellore la vitamina C a 2,5 mM utilizada de manera individual no mejoró significativamente la motilidad, mientras que la asociación de 1,25 mM de vitamina C con 1,25 mM de glutatión reducido sí favoreció la preservación espermática. Otros estudios bovinos reportan un óptimo experimental de 4,5–5 mg/mL, pero evidencian pérdida de beneficio o deterioro cuando se emplean concentraciones muy elevadas. La evidencia en ovinos, caprinos y equinos confirma que la vitamina C puede proteger la membrana y mejorar la supervivencia espermática, aunque concentraciones excesivas pueden reducir la motilidad. En conjunto, no existe una dosis universal; el rango eficaz depende de la formulación y del contexto biológico. Se concluye que la vitamina C es un antioxidante útil para la criopreservación seminal, pero su incorporación debe validarse por especie, raza, diluyente y concentración antes de extrapolarla a protocolos de vitrificación bovina.

Palabras clave: ácido ascórbico; antioxidantes; criopreservación; estrés oxidativo; motilidad espermática; semen bovino.

* Ingeniero Zootecnista y estudiante de la Maestría en Ciencias Veterinarias de la Universidad Estatal de Bolívar. Universidad Estatal de Bolívar. E-mail: carlos.cabascango@ueb.edu.ec. ORCID: https://orcid.org/0009-0008-2432-3927

** Médico Veterinario y Zootecnista con una maestría en Producción Animal mención en bovinos de carne y leche. Catedrático en la Universidad Estatal De Bolívar, dictando las materias de Biotecnología de la reproducción animal, Fisiología, Embriología, Enfermedades Infecciosas. Universidad Estatal de Bolívar. E-mail: jhonatan.monteros@ueb.edu.ec. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9757-9757 (Autor de Correspondencia).

Recibido: 20 de julio del 2026 - Aceptado: 25 de agosto del 2026 (2 ronda rev.)

Disponible en: https://www.593dp.com/index.php/593_Digital_Publisher

Effect of Different Levels of Vitamin C on the Characteristics of Vitrified Bovine Semen

Abstract

This literature review analyzes the effect of different vitamin C (ascorbic acid) levels on the quality of bovine semen subjected to cryopreservation, focusing on motility, viability, plasma membrane and acrosome integrity, and oxidative stress control. The evidence base included different concentrations, both favorable and unfavorable outcomes, and comparative findings from other domestic species. The reviewed studies show a dose-, extender-, breed-, and antioxidant-combination-dependent response. In Murrah buffalo, 2.5 mM vitamin C improved progressive motility, viability, and acrosomal integrity, while 5 mM improved post-thaw parameters in Bhadavari buffalo semen. In Holstein bulls, 2.5 mM vitamin C combined with catalase or reduced glutathione produced better post-cryopreservation results than the control. Conversely, in Nellore bulls, 2.5 mM vitamin C alone did not significantly improve motility, whereas the combination of 1.25 mM vitamin C and 1.25 mM reduced glutathione enhanced sperm preservation. Other bovine studies have reported experimental optima around 4.5–5 mg/mL, while very high concentrations may lead to loss of benefit or impaired sperm quality. Evidence from rams, goats, and stallions also indicates that ascorbic acid can protect sperm membranes and post-storage survival, although excessive concentrations may reduce motility. Overall, no universal dose can be recommended because effectiveness depends on formulation and biological context. Vitamin C is therefore a useful antioxidant for semen cryopreservation, but its inclusion should be validated according to species, breed, extender, and concentration before direct extrapolation to bovine sperm vitrification protocols.

Keywords: ascorbic acid; antioxidants; bovine semen; cryopreservation; oxidative stress; sperm motility.

Introducción

La criopreservación de semen bovino constituye una herramienta central de la reproducción asistida y del mejoramiento genético, porque permite almacenar y distribuir material seminal de reproductores de alto valor, facilita los programas de inseminación artificial y reduce las barreras geográficas para el intercambio genético. Sin embargo, la congelación y descongelación someten a los espermatozoides a estrés térmico, osmótico y oxidativo, lo que puede disminuir la motilidad progresiva, alterar la membrana plasmática, comprometer el acrosoma y reducir la capacidad fecundante (Watson, 2000; Silva & Gadella, 2006).

Uno de los mecanismos más relevantes del daño criogénico es el aumento de especies reactivas de oxígeno (ERO). Los espermatozoides son especialmente sensibles a la peroxidación lipídica por la elevada proporción de ácidos grasos poliinsaturados presentes en sus membranas. Cuando la producción de ERO supera la capacidad antioxidante del plasma seminal y de la propia célula, se favorecen alteraciones de membrana, disfunción mitocondrial, reducción de la motilidad y daño del material genético (Alvarez & Storey, 1995; Sikka, 2004). Este problema se intensifica durante el procesamiento seminal porque la dilución y la separación del plasma seminal disminuyen parte de las defensas antioxidantes naturales.

La vitamina C o ácido ascórbico es un antioxidante hidrosoluble capaz de donar electrones y neutralizar radicales libres. Su acción se concentra principalmente en la fase acuosa y puede contribuir a limitar la propagación de reacciones oxidativas. En reproducción animal se ha utilizado como aditivo de diluyentes seminales, de forma individual o combinada con otros antioxidantes. No obstante, la literatura no demuestra un efecto lineal de "más dosis = mayor protección". Por el contrario, existen resultados variables en función de la concentración, la composición del diluyente, la raza, la especie y el momento en que se añade el antioxidante (Hu et al., 2010; Pinto et al., 2020).

La revisión inicial identificó un conjunto de estudios que apoyaban especialmente el uso de 2,5 mM; sin embargo, esta concentración no puede considerarse universal. Mientras Sandeep et al. (2015) comunicaron resultados favorables con 2,5 mM en búfalos Murrah, Pinto et al. (2020) observaron que la misma concentración, aplicada de manera individual en toros Nellore, no generó una mejora significativa de la motilidad. A su vez, otros trabajos bovinos encontraron efectos favorables con 5 mM, 10 mM o concentraciones expresadas en mg/mL, lo que obliga a interpretar la evidencia en términos de rangos y condiciones experimentales, no como una única dosis ideal (Mittal et al., 2014; Paudel et al., 2010; Singh et al., 2020).

Además, es necesario diferenciar la congelación convencional de la vitrificación. La mayor parte de la evidencia disponible sobre vitamina C en semen bovino corresponde a protocolos de congelación-descongelación y no a vitrificación espermática estricta. Por tanto, los resultados son biológicamente relevantes para comprender el daño oxidativo y orientar formulaciones antioxidantes, pero su transferencia directa a protocolos de vitrificación requiere validación experimental específica.

El objetivo de esta revisión es analizar críticamente cómo diferentes niveles de vitamina C afectan las principales características del semen bovino criopreservado, identificar patrones de respuesta asociados a dosis bajas, intermedias y altas, confrontar resultados entre razas y protocolos, incorporar evidencia comparativa de otras especies domésticas y establecer vacíos de conocimiento útiles para futuras investigaciones en vitrificación y congelación seminal bovina.

Metodología

La investigación se desarrolló mediante una revisión documental de carácter descriptivo, analítico y comparativo. Se examinó la literatura relacionada con el uso de vitamina C o ácido ascórbico en semen bovino sometido a congelación, criopreservación o vitrificación, y se incorporó evidencia de otras especies domésticas cuando aportó información útil sobre respuesta

a la dosis, protección de membrana, motilidad, viabilidad o posibles efectos prooxidantes.

La búsqueda se estructuró en bases y motores académicos utilizados en ciencias veterinarias y reproducción animal, entre ellos PubMed, Scopus, ScienceDirect, Google Scholar y repositorios institucionales. Se emplearon términos en español e inglés combinados con operadores booleanos: "vitamina C" AND "semen bovino"; "ácido ascórbico" AND "criopreservación seminal"; "bovine semen" AND "ascorbic acid"; "bull sperm" AND "vitamin C"; "oxidative stress" AND "bull semen"; "ascorbic acid" AND "ram semen"; "ascorbic acid" AND "goat semen"; y "ascorbic acid" AND "stallion semen".

Se priorizaron estudios experimentales y revisiones con información explícita sobre concentración, tipo de diluyente, especie o raza y variables de calidad seminal. La revisión se concentró en publicaciones de las últimas décadas, incorporando trabajos clásicos cuando resultaron necesarios para explicar la fisiopatología del estrés oxidativo o la sensibilidad de la membrana espermática. Con el fin de caracterizar mejor la relación dosis–respuesta, la búsqueda incluyó deliberadamente estudios que compararan más de una dosis, evaluaran niveles elevados o reportaran ausencia de efecto y resultados adversos.

Los criterios de inclusión comprendieron: a) artículos científicos o tesis con respaldo institucional; b) evaluación de vitamina C/ácido ascórbico como antioxidante seminal, individual o combinado; c) reporte de al menos una variable de interés —motilidad, viabilidad, integridad de membrana, integridad acrosomal, morfología, estrés oxidativo o actividad antioxidante—; y d) información suficiente para interpretar la concentración y el contexto experimental. Se excluyeron documentos duplicados, fuentes sin metodología identificable y trabajos sin relación directa con preservación seminal o estrés oxidativo.

La síntesis se organizó en cinco categorías: mecanismo antioxidante; efecto de la dosis en bovinos y búfalos; evidencia comparativa en otras especies; sinergia con otros antioxidantes; y factores que explican resultados contradictorios. Debido a la heterogeneidad de unidades utilizadas en la literatura, se conservaron las unidades originales de cada estudio y, cuando fue útil para la interpretación, se consideró la equivalencia aproximada de la vitamina C usando un peso molecular de 176,12 g/mol (1 mg/mL ≈ 5,68 mM). Esta conversión se utilizó únicamente con fines comparativos y no para redefinir las formulaciones originales.

No se realizó metaanálisis porque los estudios difieren ampliamente en especie, raza, diluyente, concentración, tiempo de equilibración, protocolo de congelación, métodos de evaluación y variables de respuesta. En consecuencia, los resultados se interpretaron como una síntesis crítica de tendencias y contradicciones, evitando presentar una concentración única como recomendación universal.

Resultados

Mecanismo de Acción de la Vitamina C en la Célula Espermática

Durante la criopreservación, la reducción de temperatura, la formación de hielo, los cambios osmóticos y el proceso de descongelación favorecen la producción de ERO. Estas especies pueden iniciar la peroxidación de los lípidos de membrana, alterar proteínas, reducir la eficiencia mitocondrial y comprometer la estabilidad del ADN. La membrana espermática es particularmente vulnerable porque su riqueza en ácidos grasos poliinsaturados facilita la propagación de reacciones oxidativas (Alvarez & Storey, 1995; Sikka, 2004).

La vitamina C actúa como antioxidante no enzimático, principalmente mediante la cesión de electrones a especies oxidantes. Esta característica puede contribuir a preservar la integridad de membrana y disminuir productos asociados con peroxidación lipídica. Sin embargo, el ácido ascórbico no protege por igual todos los compartimentos celulares y su efecto depende del sistema redox del diluyente. Por

Licencia de Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0)
https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es

esta razón, en algunos estudios la combinación con catalasa, glutatión reducido o vitamina E ha mostrado ventajas frente a su empleo aislado (Eidan, 2016; Pinto et al., 2020).

La evidencia también muestra una respuesta bifásica: dosis insuficientes pueden no modificar de forma apreciable el equilibrio oxidativo, mientras que concentraciones excesivas pueden alterar el pH, la osmolalidad o el balance redox y disminuir la motilidad. Este patrón explica por qué estudios con diferentes formulaciones pueden llegar a conclusiones distintas aun cuando todos evalúan el mismo antioxidante.

Efecto de Diferentes Niveles de Vitamina C sobre la Calidad Seminal Bovina y Bufalina

En búfalos Murrah, Sandeep et al. (2015) evaluaron 2,5 mM de vitamina C en un diluyente Tris–ácido cítrico–yema de huevo–glicerol. Los autores encontraron mejoras significativas en motilidad progresiva, porcentaje de espermatozoides vivos e integridad acrosomal, junto con una disminución del malondialdehído (MDA), indicador indirecto de peroxidación lipídica. Este estudio respalda la utilidad de 2,5 mM en un contexto bufalino y con una formulación concreta.

En búfalos Bhadavari, Mittal et al. (2014) emplearon 5 mM de vitamina C y observaron mejoras significativas de los parámetros seminales postdescongelación y reducción de anomalías frente al control. Este resultado es relevante porque amplía la concentración favorable por encima de 2,5 mM y demuestra que el nivel eficaz puede variar entre estudios y biotipos.

En toros Holstein, Eidan (2016) no evaluó la vitamina C de forma aislada, sino que utilizó 2,5 mM combinada con catalasa (100 IU/mL) o con glutatión reducido (2 mM). Las combinaciones mejoraron motilidad, viabilidad, integridad de membrana plasmática e integridad acrosomal frente al control. Por tanto, este trabajo no debe interpretarse como evidencia de que 2,5 mM sea por sí sola la dosis óptima en Holstein; su principal aporte es demostrar un efecto sinérgico dentro de un sistema antioxidante combinado.

Pinto et al. (2020) aportaron un resultado que matiza la interpretación anterior. En toros Nellore, la suplementación individual con vitamina C a 2,5 mM no mejoró significativamente la motilidad progresiva respecto del control, mientras que la combinación de 1,25 mM de vitamina C con 1,25 mM de glutatión reducido produjo mayor motilidad y mejor preservación conjunta de las membranas plasmática y acrosomal. Esta diferencia evidencia que una concentración efectiva en una raza o diluyente puede no reproducirse en otro contexto.

Hu et al. (2010) realizaron uno de los estudios más útiles para analizar la respuesta a múltiples niveles de ácido ascórbico. Evaluaron 2,5, 4,5, 6,5 y 8,5 mg/mL en semen bovino congelado. La concentración de 4,5 mg/mL mostró los mejores valores de motilidad, características cinéticas e integridad de acrosoma y membrana. No obstante, al aumentar la dosis se observaron cambios desfavorables en algunos indicadores del sistema antioxidante, y 8,5 mg/mL produjo los valores más bajos de actividad de GSH-Px y GSH entre los grupos suplementados. Este hallazgo confirma que la respuesta no aumenta indefinidamente con la concentración.

En toros cruzados, Singh et al. (2020) reportaron que 5 mM de ácido ascórbico aumentó el porcentaje de espermatozoides vivos, la integridad acrosomal y la respuesta al test hiposmótico, al tiempo que disminuyó anormalidades y MDA. Paudel et al. (2010), por su parte, encontraron que 10 mM de ácido ascórbico mejoró motilidad, viabilidad, respuesta HOSST y actividad de enzimas asociadas a la función espermática, además de reducir MDA. Estos resultados muestran que una dosis que podría considerarse “alta” frente a otros estudios no es necesariamente tóxica si el diluyente y el sistema experimental son diferentes.

La evidencia de dosis muy elevadas aporta una señal de cautela. Priyanto et al. (2024) evaluaron 5, 10 y 15 mg/mL de ácido ascórbico en semen de toros Brahman tropicales.

La concentración de 5 mg/mL produjo mejores resultados de motilidad, viabilidad e integridad de membrana; en contraste, 10 y 15 mg/mL redujeron la motilidad por debajo del control. Este patrón apoya la existencia de un umbral a partir del cual la suplementación deja de ser protectora y puede resultar perjudicial.

En conjunto, los estudios bovinos y bufalinos no permiten definir una concentración universal. La evidencia más consistente se sitúa en niveles bajos a intermedios dentro de cada formulación, pero la amplitud de unidades y protocolos impide trasladar directamente una cifra de un estudio a otro. La interpretación correcta exige considerar concentración, unidad, pH final, composición del diluyente, raza y presencia de otros antioxidantes.

Evidencia Comparativa en otras Especies Domésticas

La incorporación de estudios en otras especies ayuda a comprender la naturaleza dependiente de la dosis. En carneros Noemi, Shehab-El-Deen et al. (2023) evaluaron 0,1, 0,5 y 1,0 mM de ácido ascórbico en diluyentes con yema de huevo o goma arábiga. La suplementación con 0,5 mM en el diluyente con goma arábiga produjo mejores resultados postcriopreservación en varios parámetros cinéticos, lo que demuestra que concentraciones menores que las utilizadas en bovinos pueden ser eficaces bajo una matriz de diluyente diferente.

En carneros Sapudi, Sigit et al. (2024) compararon 1, 2, 3 y 4 mg de ácido ascórbico por 100 mL de diluyente. La dosis de 3 mg/100 mL produjo el mejor desempeño global en motilidad, viabilidad e integridad de membrana; al elevar la concentración a 4 mg/100 mL se observó una disminución relativa del rendimiento respecto de la dosis óptima. Este comportamiento refuerza la idea de una curva dosis–respuesta no lineal.

En semen caprino, Castilho et al. (2009) evaluaron ácido ascórbico a 0,05% y 0,25% en medios de criopreservación y concluyeron que el antioxidante contribuyó a mantener la integridad estructural de la membrana y la viabilidad después del test de termorresistencia. Aunque las unidades no son directamente comparables con los estudios bovinos, el trabajo confirma el potencial protector del ácido ascórbico en pequeños rumiantes.

En sementales equinos, Aurich et al. (1997) observaron que el ácido ascórbico a 0,45 y 0,9 g/L protegió la integridad de membrana durante almacenamiento refrigerado. Sin embargo, la concentración de 0,9 g/L redujo la motilidad progresiva en uno de los diluyentes utilizados. Este resultado es particularmente importante porque demuestra que la preservación de una estructura celular no siempre se acompaña de una mejora simultánea de la función motora.

En ovinos, Sönmez y Demirci (2004) informaron que el incremento de ácido ascórbico no mejoró las características espermáticas después de la congelación y que concentraciones elevadas podían asociarse con pérdida de motilidad. La comparación entre especies confirma que la vitamina C no debe considerarse un aditivo universalmente beneficioso en cualquier dosis, sino un componente cuyo efecto depende de la interacción con el medio de conservación y la fisiología espermática de cada especie.

Sinergia con otros Antioxidantes

La combinación con otros antioxidantes constituye uno de los patrones más consistentes de la literatura. En Holstein, Eidan (2016) mostró que 2,5 mM de vitamina C combinada con catalasa o glutatión reducido mejoró múltiples parámetros postcriopreservación. En Nellore, Pinto et al. (2020) observaron que la asociación de 1,25 mM de vitamina C y 1,25 mM de glutatión reducido superó al control en motilidad y preservación de membranas, mientras que 2,5 mM de vitamina C por sí sola no produjo el mismo efecto.

Esta sinergia puede explicarse por la complementariedad de los mecanismos antioxidantes. La vitamina C actúa principalmente en la fase acuosa, mientras que las enzimas y moléculas del sistema glutatión participan en la eliminación de peróxidos y en la conservación

Licencia de Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0)
https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es

del equilibrio redox intracelular. De esta manera, una dosis menor de vitamina C puede resultar más eficaz cuando forma parte de un sistema antioxidante combinado que una dosis mayor utilizada de manera aislada.

Desde el punto de vista práctico, este hallazgo sugiere que la optimización de un diluyente no debería centrarse exclusivamente en aumentar la concentración de vitamina C. Resulta más razonable evaluar combinaciones equilibradas, controlar pH y osmolalidad, y medir simultáneamente variables funcionales y bioquímicas.

La Tabla 1 evidencia que la aparente contradicción entre estudios no implica necesariamente inconsistencia científica. En realidad, muestra que la vitamina C interactúa con múltiples variables experimentales y que el concepto de "dosis ideal" debe expresarse como un rango condicionado por el protocolo.

Tabla 1

S*íntesis comparativa de estudios sobre vitamina C y calidad seminal*

Autor (año)	Nivel de vitamina C	Especie/raza	Resultado principal	Interpretación
Sandeep et al. (2015)	2,5 mM	Búfalo Murrah	↑ motilidad progresiva, viabilidad e integridad acrosomal; ↓ MDA	Respuesta favorable en ese diluyente.
Mittal et al. (2014)	5 mM	Búfalo Bhadavari	↑ parámetros postdescongelación; ↓ anormalidades	Amplía el rango favorable por encima de 2,5 mM.
Eidan (2016)	2,5 mM + catalasa o GSH	Toro Holstein	↑ motilidad, viabilidad y membranas	Evidencia de sinergia, no de monoterapia.
Pinto et al. (2020)	2,5 mM sola; 1,25 mM + 1,25 mM GSH	Toro Nellore	2,5 mM sola sin mejora significativa; combinación favorable	La respuesta depende de la combinación.
Hu et al. (2010)	2,5–8,5 mg/mL	Bovino	4,5 mg/mL = mejor respuesta; 8,5 mg/mL altera indicadores antioxidantes	Curva dosis–respuesta no lineal.
Singh et al. (2020)	5 mM	Toro cruzado	↑ vivos, acrosoma y HOST; ↓ anormalidades y MDA	Resultado favorable a concentración intermedia.
Paudel et al. (2010)	10 mM	Toro cruzado	↑ motilidad, viabilidad y HOSST; ↓ MDA	Dosis relativamente alta puede ser útil según el sistema.
Priyanto et al. (2024)	5, 10 y 15 mg/mL	Toro Brahman	5 mg/mL favorable; 10–15 mg/mL reducen motilidad	Dosis muy altas pueden ser perjudiciales.
Shehab-El-Deen et al. (2023)	0,1–1,0 mM	Carnero Noemi	0,5 mM favorable postcriopreservación	Óptimo menor en otra especie/diluyente.
Sigit et al. (2024)	1–4 mg/100 mL	Carnero Sapudi	3 mg/100 mL mejor; 4 mg/100 mL disminuye respuesta	Confirma patrón bifásico.
Castilho et al. (2009)	0,05% y 0,25%	Caprino	Protección de membrana y viabilidad	Apoya utilidad en pequeños rumiantes.
Aurich et al. (1997)	0,45 y 0,9 g/L	Equino	Protege membrana; 0,9 g/L puede ↓ motilidad	Protección estructural no garantiza función motora.

Tabla 2

Clasificación operativa de los niveles de vitamina C según la evidencia revisada

Rango operativo	Concentración aproximada	Lectura de la evidencia	Implicación
A. Bajo	≤ 2,5 mM	Puede ser suficiente en algunos sistemas; 0,5 mM fue favorable en carneros y 2,5 mM en búfalos. En Nellore, 2,5 mM sola no mejoró significativamente la motilidad.	No asumir eficacia universal; evaluar combinación y diluyente.
B. Intermedio	> 2,5 a ~30 mM (≈0,44–5,3 mg/mL)	Incluye 5–10 mM favorables en varios estudios y 4,5–5 mg/mL con buenos resultados en determinados bovinos.	Es el rango con mayor concentración de resultados favorables, pero sigue siendo dependiente del protocolo.
C. Alto	> 30 mM (≈>5,3 mg/mL)	A partir de ~48 mM (8,5 mg/mL) se observan alteraciones de indicadores antioxidantes; 10–15 mg/mL (≈56,8–85,2 mM) redujeron motilidad en Brahman.	Mayor riesgo de pérdida de beneficio, alteración del medio o efecto prooxidante; requiere validación estricta.

Nota. Clasificación orientativa para organizar la evidencia, no una recomendación clínica o productiva universal. Conversión aproximada basada en un peso molecular del ácido ascórbico de 176,12 g/mol: 1 mg/mL ≈ 5,68 mM.

Discusión

La comparación crítica de la literatura indica que 2,5 mM no debe presentarse como la "dosis óptima" universal de vitamina C. Esa concentración produjo efectos favorables en búfalos Murrah (Sandeep et al., 2015) y fue útil en combinación con catalasa o glutatión en Holstein (Eidan, 2016), pero en Nellore la vitamina C a 2,5 mM aplicada de forma individual no mejoró significativamente la motilidad (Pinto et al., 2020). Por tanto, la respuesta depende de la realidad experimental de cada estudio.

La confrontación entre Sandeep et al. (2015), Mittal et al. (2014), Singh et al. (2020) y Paudel et al. (2010) muestra que concentraciones de 2,5, 5 y 10 mM pueden ser beneficiosas en distintos contextos. Esto sugiere que la eficacia no está determinada únicamente por la cantidad de ácido ascórbico, sino por el conjunto formado por raza, calidad seminal inicial, diluyente, pH, crioprotector, tiempo de equilibración y protocolo de congelación. Una diferencia metodológica en cualquiera de estos elementos puede cambiar la biodisponibilidad del antioxidante y el grado de estrés oxidativo que debe neutralizarse.

Los estudios que expresan la concentración en mg/mL refuerzan esta interpretación. Hu et al. (2010) encontraron el mejor desempeño con 4,5 mg/mL, mientras que Priyanto et al. (2024) observaron buenos resultados con 5 mg/mL en toros Brahman y una reducción marcada de motilidad con 10 y 15 mg/mL. Al convertir estas concentraciones a valores molares aproximados, se observa que los "óptimos" experimentales pueden ser mucho mayores que 2,5–5 mM. Esta heterogeneidad impide combinar las cifras sin considerar el diluyente, el método de preparación y la química final del medio.

La evidencia comparativa en otras especies también demuestra que el efecto no es lineal. En carneros Noemi, 0,5 mM fue suficiente para mejorar diversos parámetros postcriopreservación (Shehab-El-Deen et al., 2023); en carneros Sapudi, 3 mg/100 mL superó a 4 mg/100 mL (Sigit et al., 2024); y en sementales equinos una concentración mayor de ácido ascórbico protegió la membrana pero redujo la motilidad progresiva en determinado diluyente (Aurich et al., 1997). Estos hallazgos muestran que una variable estructural favorable no necesariamente se traduce en mejor función espermática global.

El posible efecto prooxidante o citotóxico de dosis altas debe interpretarse con prudencia. La vitamina C es un agente reductor, pero en determinadas condiciones puede participar en reacciones redox con metales de transición, modificar el pH o alterar el equilibrio osmótico. En el contexto seminal, una concentración excesiva puede generar un medio menos compatible con la motilidad, aunque el mecanismo concreto varía entre estudios. Por ello, el uso de concentraciones elevadas debe

Licencia de Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0)
https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es

justificarse experimentalmente y acompañarse de mediciones de pH, osmolalidad, MDA, ERO y capacidad antioxidante, no solamente de motilidad.

La sinergia con catalasa y glutatión reducido ofrece una alternativa más coherente que el simple aumento de dosis. Eidan (2016) y Pinto et al. (2020) muestran que combinaciones de antioxidantes pueden preservar mejor la motilidad y las membranas, incluso utilizando menores niveles de vitamina C. Esta observación tiene relevancia aplicada: en lugar de buscar una concentración máxima de ácido ascórbico, sería preferible diseñar sistemas antioxidantes complementarios que actúen sobre diferentes especies reactivas y compartimentos celulares.

También se identificó una brecha entre la evidencia sobre congelación convencional y la vitrificación. El título del trabajo se refiere al semen bovino vitrificado; sin embargo, la mayoría de los estudios disponibles utilizan congelación en pajuelas y almacenamiento en nitrógeno líquido mediante protocolos convencionales. La vitrificación espermática implica velocidades de enfriamiento y condiciones fisicoquímicas distintas. En consecuencia, la evidencia revisada sustenta el papel de la vitamina C frente al estrés oxidativo de la criopreservación, pero no permite afirmar que una dosis eficaz en congelación convencional sea automáticamente la más adecuada para vitrificación.

En razas tropicales y criollas persiste otro vacío relevante. La literatura se concentra en Holstein, Nellore, Brahman y diversos tipos de búfalo, mientras que los biotipos criollos latinoamericanos cuentan con menor cantidad de estudios comparativos. Investigaciones locales previas han señalado la necesidad de evaluar antioxidantes en condiciones y genotipos específicos (Barragán, 2017; Ludeña, 2019). Este punto es importante para sistemas productivos donde el clima, la alimentación y la variabilidad genética pueden influir en la calidad seminal inicial y en la resistencia a la criopreservación.

Desde una perspectiva de aplicación productiva, la evidencia disponible permite proponer una estrategia escalonada. Primero debe establecerse la calidad basal del semen y el desempeño del diluyente sin antioxidante. Posteriormente conviene evaluar un rango bajo e intermedio de vitamina C y, si se desea explorar niveles mayores, hacerlo con control estricto de pH, osmolalidad y marcadores de estrés oxidativo. Finalmente, los resultados in vitro deberían contrastarse con fertilidad real mediante inseminación o con pruebas funcionales de mayor nivel, porque una mejora de motilidad o integridad de membrana no garantiza por sí sola un aumento de preñez.

Limitaciones y Líneas de Investigación

La principal limitación de la evidencia revisada es la elevada heterogeneidad metodológica. Los estudios utilizan diferentes razas, especies, diluyentes, crioprotectores, unidades de concentración, tiempos de equilibración, métodos de congelación y sistemas de evaluación. Esta variabilidad reduce la posibilidad de establecer una relación dosis–respuesta universal y explica parte de las discrepancias observadas.

Además, algunos estudios expresan la concentración en mM y otros en mg/mL o porcentaje. Aunque es posible realizar conversiones aproximadas, la equivalencia molar no elimina las diferencias del medio experimental. Por ello, cualquier comparación debe considerar la formulación completa y no solo el número asociado a la vitamina C.

Las investigaciones futuras deberían comparar de forma controlada al menos tres niveles de vitamina C dentro de un mismo protocolo: un nivel bajo, uno intermedio y uno alto. Asimismo, deberían incorporar un grupo con combinación antioxidante, medir pH y osmolalidad, evaluar ERO y MDA, incluir integridad de membrana y acrosoma, cinética por CASA, potencial mitocondrial, fragmentación de ADN y, cuando sea posible, fertilidad in vivo. En el caso específico de la vitrificación bovina, es indispensable validar los rangos de

concentración en protocolos verdaderamente vitrificados y no extrapolarlos únicamente desde la congelación convencional.

Conclusiones

La vitamina C tiene potencial para reducir el daño oxidativo del semen bovino criopreservado, pero su efecto es claramente dependiente de la concentración, el diluyente, la raza y la presencia de otros antioxidantes. Por esta razón, no existe evidencia suficiente para recomendar una única dosis universal.

Para responder de forma precisa a los rangos de dosis, la evidencia puede organizarse operativamente en tres niveles: A) dosis bajas, hasta 2,5 mM, que pueden ser eficaces en algunos sistemas pero no muestran un beneficio constante cuando se emplean solas; B) dosis intermedias, aproximadamente entre 2,5 y 30 mM —incluyendo formulaciones cercanas a 5–10 mM y 4,5–5 mg/mL—, donde se concentra una parte importante de los resultados favorables; y C) dosis altas, por encima de aproximadamente 30 mM, especialmente cuando superan 8,5–10 mg/mL, en las que aumenta la probabilidad de pérdida de beneficio, alteraciones antioxidantes o disminución de motilidad. Estos rangos son una clasificación de la literatura y no una prescripción universal.

La concentración de 2,5 mM constituye un nivel de referencia útil, especialmente por los resultados obtenidos en búfalos Murrah y en combinaciones antioxidantes, pero no puede considerarse por sí sola la dosis ideal para todas las razas bovinas. En toros Nellore, por ejemplo, la vitamina C a 2,5 mM aislada no mejoró significativamente la motilidad, mientras que su combinación a menor concentración con glutatión reducido fue más favorable.

Las combinaciones de vitamina C con catalasa o glutatión reducido muestran una tendencia prometedora, ya que permiten actuar sobre diferentes componentes del sistema oxidativo y pueden mejorar la protección de membrana, acrosoma y motilidad sin depender exclusivamente de aumentar la concentración de ácido ascórbico.

La evidencia de ovinos, caprinos y equinos confirma que la vitamina C puede proteger la calidad seminal, pero también demuestra que una concentración excesiva puede disminuir la motilidad o perder eficacia. Este patrón comparativo respalda la necesidad de establecer curvas dosis–respuesta específicas para cada especie, raza y formulación.

Finalmente, la mayoría de los estudios analizados corresponde a congelación convencional. Por ello, antes de trasladar estos niveles a protocolos de vitrificación bovina, se requieren ensayos específicos que comparen dosis bajas, intermedias y altas, incorporen controles antioxidantes y evalúen tanto parámetros in vitro como fertilidad posterior.

Referencias Bibliográficas

Alvarez, J. G., & Storey, B. T. (1995). Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa. Molecular Reproduction and Development, 42(3), 334–346. https://doi.org/10.1002/mrd.1080420311

Aurich, J. E., Schönherr, U., Hoppe, H., & Aurich, C. (1997). Effects of antioxidants on motility and membrane integrity of chilled-stored stallion semen. Theriogenology, 48(2), 185–192. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)84066-6

Barragán, I. F. (2017). Evaluación del efecto crioprotector de diferentes fuentes de antioxidantes en el semen bovino [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/6698

Castilho, E. F., Guimarães, J. D., Martins, L. F., Pinho, R. O., Guimarães, S. E. F., & Espeschit, C. J. B. (2009). Use of propolis and ascorbic acid on goat semen cryopreservation. Revista Brasileira de Zootecnia, 38(12), 2335–

Licencia de Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0)
https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es

2345. https://doi.org/10.1590/S1516-35982009001200007

Eidan, S. M. (2016). Effect on post-cryopreserved semen characteristics of Holstein bulls of adding combinations of vitamin C and either catalase or reduced glutathione to Tris extender. Animal Reproduction Science, 167, 1–7. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.01.014

Hu, J.-H., Tian, W.-Q., Zhao, X.-L., Zan, L.-S., Wang, H., Li, Q.-W., & Xin, Y.-P. (2010). The cryoprotective effects of ascorbic acid supplementation on bovine semen quality. Animal Reproduction Science, 121(1–2), 72–77. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.04.180

Ludeña, E. A. (2019). Evaluación de dos antioxidantes en la calidad seminal post congelación de dos biotipos de ganado bovino criollo [Tesis de grado, Universidad Nacional de Loja]. https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/22378

Mittal, P. K., Anand, M., Madan, A. K., Yadav, S., & Kumar, J. (2014). Antioxidative capacity of vitamin E, vitamin C and their combination in cryopreserved Bhadavari bull semen. Veterinary World, 7(12), 1127–1131. https://doi.org/10.14202/vetworld.2014.1127-1131

Paudel, K. P., Kumar, S., Meur, S. K., & Kumaresan, A. (2010). Ascorbic acid, catalase and chlorpromazine reduce cryopreservation-induced damages to crossbred bull spermatozoa. Reproduction in Domestic Animals, 45(2), 256–262. https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01278.x

Pinto, S. C. C., Almeida, D. S., Alves, M. B. R., Florez-Rodriguez, S. A., Abreu Júnior, G. S., Britto e Alves, N., Celeghini, E. C. C., Laskoki, L. M., & Souza, F. A. (2020). Does supplementation of vitamin C, reduced glutathione or their association in semen extender reduce oxidative stress in bovine frozen semen? Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 72(1), 9–17. https://doi.org/10.1590/1678-4162-11293

Priyanto, L., Herdis, Santoso, Sitaresmi, P. I., Priyatno, T. P., Anwar, R. I., Mahari, D. A., Lupitasari, F. B. I., Surachman, M., Darmawan, I. W. A., Abrar, A., & Setiawan, A. (2024). The effects of various high dosage of α-tocopherol and ascorbic acid in Tris egg yolk extender on post-thawed sperm quality in tropical Brahman bulls. Pakistan Journal of Zoology, 56(5), 2097–2105. https://doi.org/10.17582/journal.pjz/20230131020144

Sandeep, Singh, P., Virmani, M., & Malik, R. K. (2015). Effect of vitamin C on the seminal and biochemical parameters of Murrah buffalo bull semen during different stages of freezing. The Haryana Veterinarian, 54(1), 15–18. https://www.luvas.edu.in/haryana-veterinarian/download/harvet2015/4.pdf

Shehab-El-Deen, M., Ali, M., & Al-Sharari, M. (2023). Effects of extenders supplementation with gum Arabic and antioxidants on ram spermatozoa quality after cryopreservation. Animals, 13(1), 111. https://doi.org/10.3390/ani13010111

Sigit, B., Maharani, D., Tavares, L., & Sitaresmi, P. I. (2024). Comparison various level ascorbic acid and lycopene additions in semen diluent enhanced sperm quality of Sapudi ram. Journal of Animal Science and Technology, 66(5), 891–904. https://doi.org/10.5187/jast.2023.e54

Sikka, S. C. (2004). Role of oxidative stress and antioxidants in andrology and assisted reproductive technology. Journal of Andrology, 25(1), 5–18. https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2004.tb02751.x

Silva, P. F. N., & Gadella, B. M. (2006). Detection of damage in mammalian sperm cells. Theriogenology, 65(5), 958–978. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.09.010

Singh, P., Agarwal, S., Singh, H., Singh, S., Verma, P. K., Butt, M. S., & Sharma, U. (2020). Effects of ascorbic acid as antioxidant semen additive in cryopreservation of cross-bred cattle bull semen. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 9(7), 3089–3099. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.907.364

Sönmez, M., & Demirci, E. (2004). The effect of ascorbic acid on the freezability of ram semen diluted with extenders containing different proportions of glycerol. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 28(5), 893–899.

Watson, P. F. (2000). The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. Animal Reproduction Science, 60–61, 481–492. https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00099-3

Licencia de Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0)
https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es