



UNIVERSIDAD  
CATÓLICA  
DE CUENCA

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA**

*Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo*

**UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS**

**AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

**EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE LA COENZIMA  
Q10 EN SEMEN OVINO POST CONGELACIÓN**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN  
DEL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO**

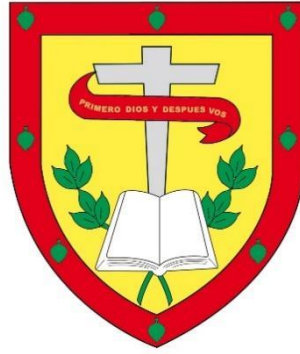
**AUTORA: EVELYN THAYNI LOJA JIMENEZ**

**DIRECTOR: DR. ANDRES LEONARDO MOSCOSO  
PIEDRA**

**CUENCA – ECUADOR**

**2024**

**DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA**

*Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo*

**UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS**

**AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

**EFEECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE LA COENZIMA  
Q10 EN SEMEN OVINO POST CONGELACIÓN**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN  
DEL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO**

**AUTORA: EVELYN THAYNI LOJA JIMENEZ**

**DIRECTOR: DR. ANDRES LEONARDO MOSCOSO  
PIEDRA**

**CUENCA - ECUADOR**

**2024**

**DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO**

### **Declaratoria de Autoría y Responsabilidad**

**Yo, Evelyn Thayni Loja Jiménez** portadora de la cédula de ciudadanía N° **1900857564**. Declaro ser la autora de la obra: **“Efecto de la concentración de la coenzima Q10 en semen ovino post congelación”**, sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, **22 de mayo de 2024**



**Evelyn Thayni Loja Jiménez**

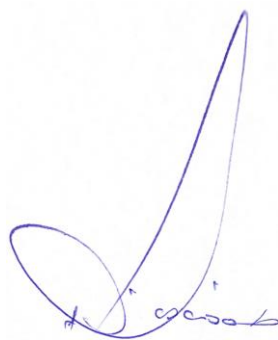
**C.I. 1900857564**

## CERTIFICACIÓN

Yo, **Andrés Leonardo Moscoso Piedra**, certifico que el presente trabajo “**Efecto de la concentración de la coenzima Q10 en semen ovino post congelación**” Fue desarrollado por **Evelyn Thayni Loja Jiménez**, y ha sido guiado y revisado periódicamente y cumple normas estatutarias establecidas por la Universidad Católica de Cuenca.

Debido que es una investigación particular con el propósito de cumplir un requisito previo a la obtención del Título de Médico Veterinario

**Cuenca, 22 de mayo del 2024**



Dr. Andrés Leonardo Moscoso Piedra

**DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**  
**UNIVERSIDAD CATOLICA DE CUENCA**

## **DEDICATORIA**

Con infinito amor y gratitud, a mi familia, cuyo apoyo incondicional ha sido mi faro en este viaje académico. A mis padres, Jorge Loja y Enma Jiménez que gracias a su amor y aliento han sido la fuerza que me ha impulsado a alcanzar este logro.

A mis queridos hermanos Mindre y Danex, ustedes son mi inspiración y mi sostén. Su apoyo incondicional y cariño inquebrantable han sido mi mayor fortaleza en este camino hacia la culminación de mi tesis, Gracias por ser mi familia, mi confianza y mis mejores amigos. Este logro también es de ustedes.

Isac, has sido tú mi roca, mi motivación y mi mayor fan en este viaje. Tu amor incondicional y apoyo constante han iluminado cada paso de mi camino hacia la realización de este sueño. Gracias por ser mi compañero, mi confidente y mi mayor alegría. Este logro también es tuyo, porque tú has sido parte de cada página escrita de esta historia.

## INDICE

### CONTENIDO

<b>1. RESUMEN</b> .....	<b>7</b>
<b>2. ABSTRACT</b> .....	<b>8</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>8</b>
<b>2. FUNDAMENTO TEÓRICO</b> .....	<b>9</b>
<b>1. Generalidades</b> .....	<b>9</b>
<b>2. Productividad</b> .....	<b>10</b>
<b>3. Coenzima Q10</b> .....	<b>10</b>
<b>4. Agentes Crioprotectores (ACP)</b> .....	<b>11</b>
<b>5. Triladyl</b> .....	<b>12</b>
<b>6. Análisis Seminal</b> .....	<b>12</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>13</b>
<b>7. Criopreservación del semen</b> .....	<b>13</b>
<b>8. Tiempo de estabilización</b> .....	<b>14</b>
<b>9. Congelación de Semen</b> .....	<b>14</b>
<b>10. Descongelación del semen</b> .....	<b>14</b>
<b>11. Vitalidad post descongelamiento</b> .....	<b>15</b>
<b>12. Viabilidad espermática post descongelamiento</b> .....	<b>15</b>
<b>13. Análisis de la funcionalidad mitocondrial</b> .....	<b>16</b>
<b>14. Análisis Estadístico</b> .....	<b>16</b>
<b>15. Diseño Experimental</b> .....	<b>17</b>
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>17</b>
<b>5. DISCUSIÓN</b> .....	<b>20</b>
<b>6. CONCLUSIONES</b> .....	<b>22</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>23</b>

## 1. RESUMEN

En los procesos de mejoramiento genético ovino, son fundamentales las biotecnologías de la reproducción para aumentar el rendimiento productivo. Estas herramientas abordan problemas de infertilidad y productividad de la especie. En este escenario la coenzima Q10 (ubiquinona) es una sustancia que juega un papel fundamental en la criopreservación seminal actuando como antioxidante en la supervivencia espermática. En esta investigación se evaluó el efecto de la concentración de la coenzima Q10 en semen ovino post-congelación, con diferentes dosis (0,2mM; 0,4 mM: 0,6 mM y 0,8 mM). Para esto se extrajo muestras de 3 fenotipos, con 5 repeticiones; dividiendo cada muestra en 4 dosis más un testigo, y contrastándolos con las muestras frescas que fueron previamente evaluadas y donde el individuo Katahdin fue el que nos demostró mejores características, sin embargo al adicionar coenzima Q10, su efecto sobre la muestras descongeladas fue poco alentador evidenciándose en los indicadores de Motilidad, definidos por el sistema CASA, (Computer Assisted Sperm Analysis System ) los cuales se redujeron significativamente ( $p < 0,05$ ), y asociándose esta reducción a la presencia de la coenzima Q10 en el medio congelado. Las pruebas de Funcionalidad de la Membrana y Viabilidad determinaron una reducción de estos indicadores asociadas a la concentración de la coenzima Q10. Se requiere una investigación más exhaustiva sobre esta respuesta de la coenzima Q10, para justificar su efecto letal y subletal, dado que no existe literatura específica sobre la misma, por lo que es necesario utilizar dosis inferiores para validar esta afirmación contrastándola con otras metodologías de congelación.

### **Palabras clave**

Sistema CASA; Funcionalidad de la Membrana; Viabilidad; Concentración.

## 2. ABSTRACT

Reproductive biotechnologies are essential in sheep genetic improvement processes to increase productive performance. These tools address problems of species infertility and productivity. In this scenario, coenzyme Q10 (ubiquinone) is a substance that plays a fundamental role in semen cryopreservation, acting as an antioxidant in sperm survival. In this research, the effect of coenzyme Q10 concentration in post-freezing sheep semen was evaluated, with different doses (0.2mM, 0.4mM, 0.6mM, and 0.8mM). In consequence, samples of three phenotypes were extracted, with five repetitions, dividing each sample into four doses plus one control. The samples were contrasted with the fresh samples that were previously evaluated, and where the Katahdin individual was the one that showed the best characteristics. However, when adding coenzyme Q10, its effect on the thawed samples was not encouraging and was evidenced by a significant reduction ( $p < 0.05$ ) in the motility indicators, defined by the CASA system (Computer Assisted Sperm Analysis System); this reduction was associated with the presence of coenzyme Q10 in the frozen medium. The membrane functionality and viability tests determined a reduction of these indicators associated with the concentration of coenzyme Q10. A more exhaustive investigation is required on this response of coenzyme Q10 to justify its lethal and sublethal effect due to the lack of specific literature about it; thus, it is necessary to use lower doses to validate this statement by contrasting it with other freezing methodologies.

### **Keywords**

CASA system; Membrane Functionality; Viability; Concentration.

## 1. INTRODUCCIÓN

La aplicación de biotecnologías de la reproducción asistida en la agricultura y la cría de animales tiene como objetivo primordial mejorar la productividad, ya que para lograrlo se emplean diferentes métodos de recolección del material genético, el uso de vaginas artificiales y electro eyaculación (Andia Salinas et al., 2019).

La evaluación de la productividad en la especie ovina es crucial para determinar su fertilidad, se ha evidenciado que muchos problemas reproductivos comunes no se consideran importantes hasta que estos impactan negativamente en la reproducción, lo que provoca consecuencias económicas adversas, por ello, surge la pregunta de cómo identificar ovinos fértiles para asegurar el éxito en la temporada reproductiva en el cual se pueden utilizar diferentes métodos que pueden servir para la identificación de la fertilidad de los ovinos y conocer el estado en el que se encuentra el reproductor y así conseguir un rendimiento reproductivo óptimo (Cardenas Riaño, 2011).

En el proceso de criopreservación de espermatozoides, nos enfrentamos a desafíos que afectan la integridad de la célula espermática, los cambios bruscos en osmolaridad y temperatura pueden causar daños en la cabeza, especialmente en la membrana plasmática, estos daños pueden reducir la viabilidad de los espermatozoides hasta un 50% y disminuir su capacidad de fertilización hasta 7 veces más (Watson, 2022). Esto afecta tanto la morfología como la fisiología, incluyendo la regulación del calcio intracelular, la integridad de la membrana plasmática, la permeabilidad, la composición lipídica, la pérdida de proteínas de la membrana y la actividad mitocondrial (Barbas & Mascarenhas, 2009).

En las biotecnologías de la reproducción asistida, la congelación de semen es una técnica común para preservar el material genético a largo plazo (Larbi et al., 2018). El conocimiento de las distintas razas de animales es fundamental para identificar la población en la que se llevan a cabo operaciones genéticas con fines productivos específicos, estas razas se diferencian por características externas que conforman su perfil fenotípico, es decir, lo que se puede observar a simple vista, lo que permiten establecer una jerarquía de las razas basada en su adaptación y funcionalidad (Vilaboa Arroniz et al., 2021).

La coenzima Q10 o también conocida como ubiquinona, es una sustancia liposoluble que se absorbe lentamente en el intestino delgado y se concentra en órganos importantes como el bazo, las glándulas suprarrenales, los pulmones, los riñones y el músculo cardíaco (Reza et al., 2019). Su principal función es proteger el ADN del daño oxidativo y generar una respuesta antioxidante (Chavoshi Nezhad et al., 2021), similar a la vitamina E, que también es importante para la reducción de la generación de radicales libres (Carneiro João et al., 2018).

El semen se congela a temperaturas ultra bajas para su almacenamiento a largo plazo generalmente a (-196°C), para mantener la viabilidad y fertilidad del espermatozoides durante más tiempo, también se utilizan diluyentes específicos que contienen nutrientes y

protegen las células espermáticas de los daños causados por la congelación (Kun Ko et al., 2014). Es esencial utilizar los diluyentes adecuados y seguir una técnica de conservación homogénea para garantizar una máxima viabilidad de los espermatozoides y fertilidad (Reza et al., 2018).

Los estudios realizados en animales sobre la coenzima Q10 han arrojado resultados prometedores en diversos aspectos de la salud, en primer lugar, se ha observado que la suplementación de la misma en animales puede mejorar la función cardiovascular, reduciendo la presión arterial, mejorando la función cardíaca y como protector contra enfermedades cardíacas. Además puede tener efectos beneficiosos en el metabolismo de la glucosa, ayudando a regular los niveles de azúcar en la sangre y reduciendo el riesgo de diabetes, también se ha demostrado que dicha coenzima tiene propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, lo que puede ayudar a proteger contra el daño celular y reducir el riesgo de enfermedades crónicas como el cáncer y patologías neurodegenerativas (Teixeira Pereira, 2022).

Con la siguiente hipótesis de la utilización de coenzima Q10 en concentraciones superiores a 0,2 mM afecta favorablemente las características cualitativas del semen ovino post congelación, conforme esta dosis se incrementa, indistintamente de los fenotipos y origen de cada biotipo, es por ello que esta investigación se estableció para evaluar el efecto de cuatro dosis de coenzima Q10 sobre los parámetros de calidad y cinéticos post congelación de carneros de tres diferentes razas.

Determinando el efecto de 0,2mM; 0,4 mM; 0,6 mM y 0,8 mM, de coenzima en la calidad espermática post congelación de tres ovinos donantes de líneas Katahdin, Dorper y Pelibuey, dentro de un programa de mejoramiento genético, así como también relacionar la dosis óptima de adición de coenzima Q10 para la crioconservación de semen ovino con las características fenotípicas de los animales y determinar los parámetros cinéticos y de calidad en semen testigo libre de coenzima.

## **2. FUNDAMENTO TEÓRICO**

### *1. Generalidades*

Los ovinos son pequeños rumiantes, que por su gran adaptación, pueden criarse en todos los climas, aunque para ello habrá que elegir la raza o tipo de animal más adecuado para una región dada, así mismo la cría de ovinos proporciona múltiples productos a la familia como carne que contiene proteínas de alta calidad y que puede cubrir los requerimientos proteicos y de hierro en los niños, leche para la elaboración de queso, lana dentro de la industria textil y estiércol, el mismo que es utilizado para la elaboración de abono orgánico (Sáenz García, 2015).

Los ovinos de la raza Pelibuey, son originarios de America Central y el Caribe, muy conocidos por su pelaje rizado de color café oscuro, esta raza se distingue por su resistencia y adaptación a climas cálidos y secos, siendo capaces de sobrevivir en

condiciones desfavorables, como escasez de agua y alimentos, alcanzando un peso promedio de entre 40-50 kg, y poseendo una excelente capacidad reproductiva, con partos múltiples y gestaciones fáciles, siendo muy utilizados en programas de mejoramiento genético para potenciar la reproducción en otras razas. (Aguilar Martínez et al., 2017).

Los ovinos de la raza katahdin son originarios de Estados Unidos, y son valorados por su versatilidad, ya que son criados tanto por su carne como por su lana, con un tamaño mediano y un peso de entre los 70 a 80 kg en adultos, su pelaje es blanco y denso, muy apreciado en la industria textil, por otro lado, los ovinos de la raza Dorper se caracterizan por su tamaño, alcanzando entre 70 y 120 kg en adultos, poseen un cuello musculoso y pelaje corto, mayormente blanco con una mancha negra en la cabeza, con alta capacidad de producción de carne de calidad, adaptándose bien a diferentes climas y suelos, lo que los hace muy populares en la producción ovina mundial, especialmente en el pastoreo extensivo en diversas regiones como Australia, Nueva Zelanda y Sudáfrica (Vilaboa et al., 2021).

## 2. *Productividad*

La cría de ovinos es crucial para los pequeños agricultores, ya que les provee carne, lana y estiércol, en el Ecuador, muchas familias dependen de la cría de corderos, especialmente los campesinos, el mejorar las técnicas de cría, que incluyen la alimentación, el manejo, la salud y la genética, no solo beneficia a los productores al elevar su nivel de vida, si no que también aumenta la biodisponibilidad de carne para consumo humano, el aumento en la demanda y los precios de carne ovina han contribuido a un crecimiento en la cría de ovinos, lo que podría fomentar una nueva cultura de consumo, satisfaciendo las necesidades de la industria textil nacional y mejorando la disponibilidad de proteínas animales en la dieta ecuatoriana (Silva Bastidas, 2017).

Según datos del Instituto Nacional de Estadística y Censos del Ecuador (INEC), en el año 2020 dentro de la población ovina, se pudo decir que la cría de ovejas es una actividad importante en algunas zonas rurales del país, especialmente en la Sierra, en estas zonas, la ovejería tradicionalmente ha sido una fuente de ingresos para las comunidades locales, mismas que se dedican a la producción de lana y la venta de carne de oveja, a nivel nacional la producción ovina en la provincia del Azuay es una actividad importante en el sector agropecuario, así mismo si la comparamos con otras ciudades, como por ejemplo Quito, Guayaquil, Cuenca y Loja, podemos notar algunas diferencias en cuanto a la producción ovina (Quishpi Coronel, 2021).

## 3. *Coenzima Q10*

La coenzima Q10 es una molécula orgánica no proteica que ayuda a las enzimas a llevar a cabo reacciones químicas en el organismo, actúan como cofactores enzimáticos,

facilitando la unión de sustratos a las enzimas y participando en la transferencia de grupos químicos durante las reacciones bioquímicas, estas son esenciales para que muchas enzimas funcionen correctamente y son necesarias para el metabolismo y otras funciones celulares (Augusto et al., 2021).

Estas se encuentran de forma natural en el cuerpo humano y también se puede obtener a través de la dieta, principalmente a partir de alimentos como carne, pescado, nueces, legumbres y aceites vegetales, además también se produce naturalmente en el organismo principalmente en el hígado, los riñones y el corazón, también actúa como antioxidante que desempeña un papel importante en la producción de energía celular y en la protección de las células contra los daños causados por los radicales libres (Arenas, 2001).

También se utiliza como suplemento dietético para mejorar la salud del corazón, aumentar la energía, mejorar la función cognitiva y fortalecer el sistema inmunológico, además, se ha demostrado que la coenzima Q10 puede ser beneficiosa para tratar ciertas afecciones como la insuficiencia cardíaca, la presión arterial alta, la enfermedad de parkinson y la migraña (Estévez et al., 2023).

Esta forma parte esencial de la cadena respiratoria en las mitocondrias, siendo un factor importante para el metabolismo energético, además esta actúa como antioxidante, en las membranas celulares y las lipoproteínas, dentro del contexto reproductivo, se destaca su síntesis significativa en el esperma, mismo que desempeña un papel protector como antioxidante, especialmente, en el control de la peroxidación lipídica y la fragmentación del ADN, dentro del ámbito veterinario, se ha observado que el uso de la coenzima Q10 mejora la resistencia al congelamiento de los espermatozoides en diferentes especies de animales como búfalos, sementales, jabalíes, machos cabríos y gallos (Reza et al., 2019).

#### 4. *Agentes Crioprotectores (ACP)*

La eficacia de la inseminación artificial con el semen congelado en ovinos ha sido hasta ahora poco satisfactoria, esto se debe a diversos factores, como la menor viabilidad post descongelamiento y un desequilibrio en la proporción de espermatozoides sobrevivientes, ocasionado principalmente por daños en la membrana espermática durante la criopreservación. Sin embargo, estos daños podrían reducirse mediante un control adecuado de la velocidad de congelamiento, el uso de dilutores específicos y la incorporación de agentes crioprotectores apropiados, entre estos últimos, se destacan el glicerol y el etilenglicol como los más efectivos en la preservación, de la motilidad espermática en ovinos, aunque otros como la sacarosa y la trehalosa también han demostrado buenos resultados en estudios previos (Sandoval et al., 2007).

## 5. *Triladyl*

El Triladyl es un concentrado utilizado para preparar un diluyente de crioconservación de semen basado en Tris, que para su preparación se mezcla un parte de concentrado de triladyl con tres partes de agua destilada para obtener una solución madre, que puede mantenerse refrigerada a 5 grados durante 5-7 días, el día de su uso, se agrega una parte de yema de huevo fresca a la solución madre, resultando en una solución final de triladyl, agua destilada y yema de huevo en proporción 1;1;3. Este proceso permite la preparación adecuada del diluyente para la crioconservación de semen (Cueto et al., 2016).

## 6. *Análisis Seminal*

Uno de los principales aspectos cruciales en la fertilidad se relaciona con la producción de espermatozoides, evaluada mediante un espermograma que incluye la inspección macroscópica y microscópica del semen (Valverde & Madrigal, 2018).

El semen normalmente tiene un color blanco opaco y una textura viscosa, el mismo está compuesto principalmente por espermatozoides, agua, fructosa, proteínas, enzimas y minerales como calcio, potasio y zinc, el volumen eyaculado varía entre 1.5 y 5 mililitros, así como su viscosidad puede cambiar de una eyaculación a otra, facilitando la movilidad de los espermatozoides, su pH ligeramente alcalino neutraliza la acidez vaginal, mientras que su temperatura ligeramente elevada favorece la viabilidad de los espermatozoides en el tracto reproductor femenino (Valverde et al., 2018).

La evaluación de la movilidad espermática se realiza mediante una observación macroscópica y microscópica del semen, los movimientos circulares y rectilíneos, expresados en porcentajes utilizando el método subjetivo y una escala detallada, también la vitalidad y mortalidad de los espermatozoides se evalúan mediante colorantes, denominados eosina-nigrosina y se realiza mediante un frotis dejando secar por unos minutos, para ser evaluado en el microscopio en donde la tinción indica la viabilidad, ya que los espermatozoides que se tiñen del colorante se representan como muertos y los que no se tiñen se representan como vivos (Páez Barón & Corredor Camargo, 2014).

Para el análisis de la funcionalidad mitocondrial, optamos con Rodamina 123, que es un compuesto comúnmente empleado en la citometría de flujo como un marcador fluorescente para analizar diversos aspectos celulares, además, ha sido aplicado en investigaciones que involucran el transporte y acumulación de iones dentro de las células, este compuesto se introduce en las mitocondrias activas y genera una fluorescencia verde, permitiendo distinguir las células con actividad mitocondrial (Muiño Otero, 2006).

En cuanto a la concentración espermática se determina en un fotómetro para establecer la cantidad precisa en cada dosis seminal, normalmente entre 2.5 y 5 millones de espermatozoides por dosis, según criterios de trabajo estándar (Intriago Vera & Vargas Mero, 2019).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se llevó a cabo en la provincia del Azuay-Cantón Cuenca, específicamente en la unidad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Católica de Cuenca, ubicada en la Panamericana norte Km 2 ½, Durante un periodo de 8 meses, se evaluó el efecto de la coenzima Q10 en dosis de control (0,2mM; 0,4mM; 0,6mM; 0,8mM), en semen diluido de ovinos de las razas Dorper, Katahdin y Pelibuey, durante (11 días) evaluados en las diferentes dosis de coenzima, así también se utilizaron variantes independientes y dependientes, así como el semen libre de tratamiento.

Para la extracción de semen se inició seleccionando y sujetando una oveja hembra, a continuación el operador se situó en el lado derecho del macho, sosteniendo la vagina con la mano derecha y orientándola hacia el prepucio en un ángulo de 45 grados respecto al suelo, listo para una monta rápida y la eyaculación, durante el acto el operador desvió el pene lateralmente hacia la vagina artificial, un movimiento hacia arriba y adelante del macho denominado golpe de riñón, dando la eyaculación, inmediatamente después se protegió el tubo de recolección de los cambios bruscos de temperatura y luz y para luego ser sumergido en baño maría a 37 °C.

Se procedió a evaluar la motilidad espermática tanto masal como individual. La motilidad masal (MM; %) se determinó mediante el uso de una platina térmica previamente calibrada a 37°C, seguidamente se depositó una gota de semen puro (5 µl) en un portaobjetos y cubreobjetos, en donde se observó bajo un microscopio óptico con un aumento de 10x. Según el grado de movimiento observado se asignó un puntaje en una escala arbitraria del 1 al 5, donde 1 representa un 24% de espermatozoides móviles y 5 un 100%, de igual forma la motilidad individual progresiva (MIP)

Para determinar la concentración, se colocó 30 µl de semen sobre una microcubeta, para posteriormente llevarla al fotómetro SDM 1 (minitube) específico para ovinos.

#### 7. *Criopreservación del semen*

Para realizar el proceso de criopreservación se empleó una solución de: Triladyl, yema de huevo y agua pura (1:1:3).

Con esta, posteriormente se elaboró una solución en conjunto con el semen (1:1), obteniéndose una solución que se conservó temporalmente en baño María a 37 °C.

A continuación, se elaboró una solución madre con el mismo procedimiento base, considerando: volumen seminal x la concentración y Motilidad Masal x Motilidad Individual. En este caso se estimó el 80 % de MM, y 80% MI.

Este valor se divide por la concentración estimada de cada pajuela (50 millones) de esta manera obtuvimos el número de pajuelas a procesar.

Es importante aclarar que al valor obtenido se divide para 4 debido a que se trabajó con pajuelas de 0.25 cc , obteniendo el volumen de la solución madre, el mismo al que se restó el volumen de la pre disolución.

#### 8. *Tiempo de estabilización*

Para esto colocamos las pajuelas que seguidamente serán congeladas, estas fueron colocadas en refrigeración durante 2 horas a 5 °C para su proceso de adaptación.

#### 9. *Congelación de Semen*

Colocamos las pajuelas en una rampa, a vapores de nitrógeno a una altura de (5.5 cm), durante 15 minutos, luego las pajuelas son sumergidas en el nitrógeno líquido y con una pinza, vamos colocando en los globets rotulados con su diferente tratamiento, luego los mismos son introducidos en el nitrógeno líquido para su conservación a -196 °C.

#### 10. *Descongelación del semen*

Se utilizaron pajillas previamente congeladas y se las colocó en un termo con agua a una temperatura de 37°C durante un minuto. Luego, se llevó a cabo un proceso de secado meticuloso para prevenir el contacto del semen con el agua, dado que esta puede aumentar la mortalidad del material seminal. Posteriormente, se realizaron cortes en ambos extremos de la pajilla y se transfirió su contenido a un tubo Eppendorf adecuadamente rotulado.

#### *Integridad de la membrana post descongelamiento*

Para realizar el análisis de esta prueba, se llevó a cabo una preparación específica que implicó la combinación de 20 µl de la muestra post-descongelación con 100 µl de solución Host en un tubo Eppendorf. Después de homogeneizar la muestra, se incubó a una

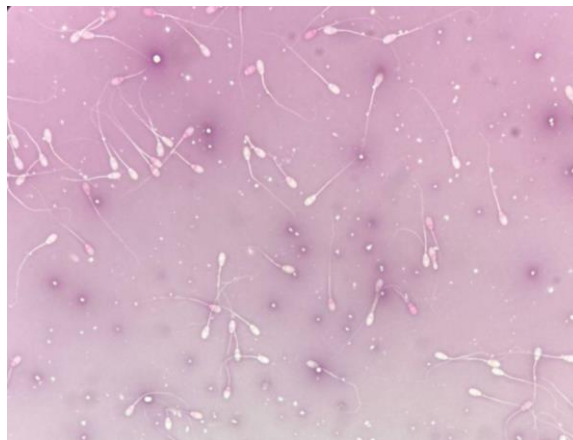
temperatura de 37°C en una platina termorreguladora durante 45 minutos. Luego, para el análisis microscópico se colocaron 5 µl de la muestra en un portaobjetos cubierto con un cubreobjetos, y se observó utilizando un microscopio Olympus BX51 con un aumento de 40x. Los espermatozoides que reaccionen y presenten una torsión en el flagelo helicoidal son los que han reaccionado positivamente a la prueba de Host.



**Figura 1.** Integridad de la membrana post descongelamiento

#### 11. *Vitalidad post descongelamiento*

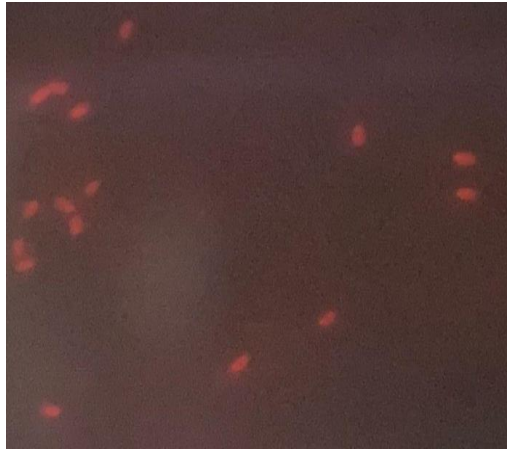
Para evaluar la vitalidad del esperma, se tomó 3 µl de semen y se aplicó la tinción de Eosina-nigrosina en la misma cantidad. Luego se colocó y homogeneizó la muestra en un portaobjetos mediante un frotis, el cual fue posteriormente examinado bajo el microscopio. Los espermatozoides muertos son los que presentan la coloración, dado que los vivos no presentan problemas en la integridad de la membrana plasmática.



**Figura 2.** Vitalidad post descongelamiento

#### 12. *Viabilidad espermática post descongelamiento*

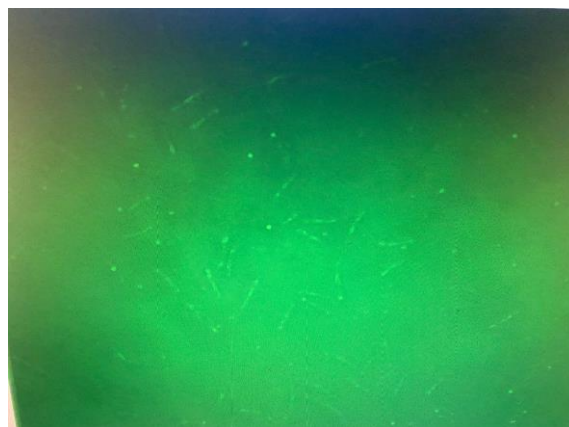
Se examinó la tinción entre espermatozoides vivos y muertos mediante el empleo del procedimiento de tinción fluorescente dual. Este método implicó la preparación de la muestra en un tubo Eppendorf, donde se añadieron 50  $\mu$ l de muestra seminal y se incorporaron 3  $\mu$ l de yoduro de propidio, permitiendo que actuará durante 15 minutos. Posteriormente, se realizó un frotis con la preparación para su análisis, seguido de la observación mediante un microscopio fluorescente. Los espermatozoides que se colorean son los que presentan problemas en la integridad de la membrana plasmática.



**Figura 3.** Viabilidad espermática post descongelamiento

### 13. *Análisis de la funcionalidad mitocondrial*

Se evaluó la actividad de las mitocondrias en los espermatozoides utilizando un método de tinción fluorescente. La muestra seminal se preparó en un tubo Eppendorf al que se agregaron 50  $\mu$ l de semen y 1  $\mu$ l de Rodamina 123 y, dejando incubar durante 10 minutos. Luego, se realizó un frotis con la preparación y se examinó bajo un microscopio fluorescente. Los espermatozoides que se colorean son los que presentan funcionalidad mitocondrial.



**Figura 4.** Funcionalidad Mitocondrial post descongelamiento

### 14. *Análisis Estadístico*

Se evaluó la calidad de semen mediante pruebas de ANOVA de una entrada, de las razas y los tratamientos, para cada variable dependiente de estudio medidas en el Sistema CASA (Motilidad, Motilidad Progresiva, VCL, VAP, VSL, STR, LIN, WOB, ALH Y BCF) y se observó la Viabilidad, Actividad, Permeabilidad de la Membrana y Funcionalidad Mitocondrial (Test de Host, Yoduro de Propidio, Eosina Negrosina y Rodamina 123). Además, se analizó el efecto de las extracciones (repeticiones) en la calidad de semen.

#### 15. *Diseño Experimental*

Dentro del diseño experimental, se evaluaron las variables dependientes que se refieren a la mediciones que se observan y registran como resultados, estas incluyeron la motilidad, que se divide en dos tipos: la motilidad progresiva (MP) y motilidad total (MT) las cuales se realizaron en un Fotómetro Minitube para ovinos, la vitalidad y la presencia de anomalías en los espermatozoides con el Test de Host, así también se evaluó la vitalidad post descongelamiento con la prueba de Eosina Nigrosina, la viabilidad espermática con la prueba de Yoduro de Propidio y el análisis de la funcionalidad mitocondrial con la prueba de Rodamina.

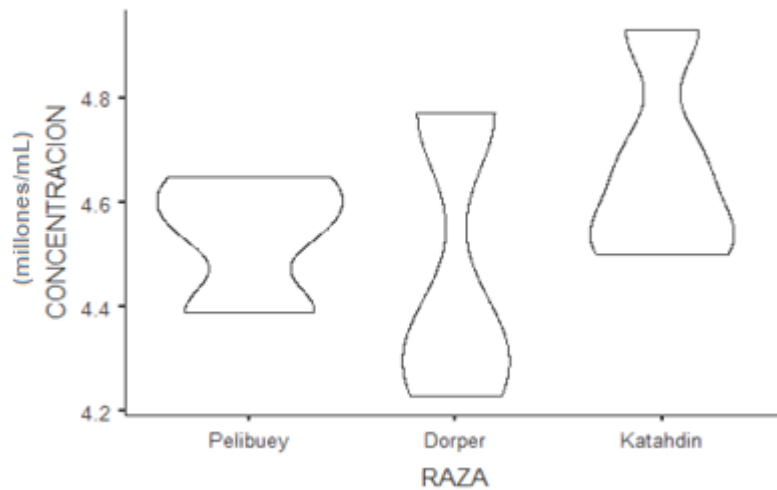
Además en el sistema CASA se analizaron las velocidades específicas del desplazamiento espermático como, velocidad con trayectoria curvilínea en micrómetros por segundo (VCL), velocidad promedio en micrómetros por segundo (VAP), velocidad con trayectoria rectilínea en micrómetros por segundo (VSL), los parámetros de relación como , rectitud en porcentaje (STR), linealidad en porcentaje (LIN) y la oscilación en porcentaje (WOB), la amplitud del desplazamiento de la cabeza (ALH) y la frecuencia de batido del flagelo (BCF), estas pruebas se realizaron en todas las muestras obtenidas durante los 11 días.

Por otro lado, las variables independientes del estudio son la presencia de coenzima Q10 como tratamiento y el grupo testigo que utiliza semen libre de coenzima Q10 para comparación y control en la siguiente investigación.

## **4. RESULTADOS**

Se tomaron muestras de los 3 animales en 11 fechas diferentes, 5 muestras por animal, determinándose siempre motilidad masal de 5, motilidad total de 5 y motilidad individual de 4 y las características macrosocopicas siempre fue cremoso lechoso, por lo que no hubo diferencias en las cualidades de los mismos.

Se evaluó a cada uno de los animales, para comprobar si presentan diferencia en volumen y concentración.



**Figura 5.** Diferencias de Concentración Espermática entre Razas

En lo que respecta en Concentración espermática ( $10^6/\text{ml}$ ) el ovino Katahdin con  $4,62 \times 10^6$  ( $\pm 0,17$ ), presentó diferencias significativas ( $p=0,003$ ), frente al Pelibuey con  $4,53 \times 10^6$  ( $\pm 0,11$ ) y el Dorper con  $4,48 \times 10^6$  ( $\pm 0,24$ ), como se observa en la Figura 5. También se analizó el volumen donde el Katahdin tuvo  $0,787\text{ml}$  ( $\pm 0,78$ ), el Pelibuey con  $0,520\text{ml}$  ( $\pm 0,41$ ) y el Dorper con  $0,442\text{ml} \times 10^6$  ( $\pm 0,31$ ), sin presentar diferencias entre individuos ( $p=0,767$ ).

**Cuadro 1.** Evaluación de la Vitalidad de Semen Ovino

Tratamiento	Integridad de la membrana plasmática	Vitalidad post descongelamiento	Resistencia de la membrana plasmática	Funcionalidad mitocondrial
n	15	15	15	15
Testigo Fresco	36.8 <sup>a</sup> ( $\pm 38.2$ )	65.8 ( $\pm 19$ )	53.3 ( $\pm 31.8$ )	34.9 <sup>a</sup> ( $\pm 35.2$ )
Testigo Descg.	46.9 <sup>ab</sup> ( $\pm 37.9$ )	65.8 ( $\pm 28$ )	39 ( $\pm 27.9$ )	46 <sup>ab</sup> ( $\pm 35.6$ )
0,2 mM	61.1 <sup>ab</sup> ( $\pm 29.9$ )	67.6 ( $\pm 18.5$ )	50.1 ( $\pm 20.5$ )	66.7 <sup>c</sup> ( $\pm 25.2$ )
0,4 mM	70.1 <sup>b</sup> ( $\pm 29.9$ )	74.8 ( $\pm 19.8$ )	52.5 ( $\pm 18.5$ )	76.3 <sup>c</sup> ( $\pm 26.2$ )
0,6 mM	65.1 <sup>b</sup> ( $\pm 33.9$ )	76.2 ( $\pm 17.2$ )	47.1 ( $\pm 24.4$ )	70.3 <sup>c</sup> ( $\pm 30.9$ )
0,8 mM	56.9 <sup>ab</sup> ( $\pm 32$ )	76.5 ( $\pm 15.2$ )	46.9 ( $\pm 19.6$ )	62.1 <sup>bc</sup> ( $\pm 30.6$ )
Tratamiento (Valor P)	0.0628	0.3695	0.4692	0.003
Raza (Valor P)	0.9313	0.4499	0.0578	0.399
Repetición (Valor P)	0.0089	0.0419	0.0003	0.713

Al evaluar las muestras de semen descongelado con las diferentes dosis frente al testigo fresco se encontraron diferencias estadísticas para la prueba de Rodamina 123, en donde el testigo descongelado, presentó valores inferiores al semen fresco, mientras tanto al 0,2; 0,4; 0,6 y 0,8 estos valores fueron superiores  $P= 0,003$ , mientras tanto para la prueba de yoduro de propidio, eosina nigrosina y tes-host, no hubo diferencias estadísticas.

Con respecto a la raza, ninguna de las razas presentó diferencias en las pruebas antes citadas ( $p < 0,005$ ), mientras que con respecto a las repeticiones, la prueba de yoduro, eosina y test-host, presentaron diferencias.

**Cuadro 2.** Evaluación de la Motilidad de Semen Ovino (CASA)

Variable	Fresco	Testigo Descongelado	0,2 mM	0,4 mM	0,6 mM	0,8 mM	Valor p
n	5	5	5	5	5	5	
<b>Mot Total</b>	97.3( $\pm 2.61$ ) <sup>a</sup>	80.6( $\pm 19.5$ ) <sup>a</sup>	19.5( $\pm 7.80$ ) <sup>b</sup>	17.3( $\pm 8.65$ ) <sup>b</sup>	15.0( $\pm 7.82$ ) <sup>b</sup>	17.5( $\pm 7.67$ ) <sup>b</sup>	<0,0001
<b>VCL</b>	114.0( $\pm 37.0$ ) <sup>a</sup>	82.9( $\pm 32.8$ ) <sup>a</sup>	23.7( $\pm 3.71$ ) <sup>b</sup>	28.0( $\pm 8.68$ ) <sup>b</sup>	24.7( $\pm 6.03$ ) <sup>b</sup>	23.5( $\pm 5.11$ ) <sup>b</sup>	<0,0001
<b>VAP</b>	60.7( $\pm 19.1$ ) <sup>a</sup>	44.9( $\pm 17.8$ ) <sup>b</sup>	13.4( $\pm 2.95$ ) <sup>c</sup>	14.8( $\pm 6.19$ ) <sup>c</sup>	12.1( $\pm 3.00$ ) <sup>c</sup>	11.8( $\pm 3.27$ ) <sup>c</sup>	<0,0001
<b>VSL</b>	34.6( $\pm 10.8$ ) <sup>a</sup>	27.3( $\pm 10.9$ ) <sup>b</sup>	8.88( $\pm 3.21$ ) <sup>c</sup>	9.53( $\pm 5.28$ ) <sup>c</sup>	7.37( $\pm 1.83$ ) <sup>c</sup>	6.79( $\pm 2.43$ ) <sup>c</sup>	<0,0001
<b>STR</b>	54.8( $\pm 2.45$ ) <sup>a</sup>	56.7( $\pm 4.13$ ) <sup>b</sup>	60.51( $\pm 3.1$ ) <sup>c</sup>	59.0( $\pm 8.94$ ) <sup>c</sup>	55.5( $\pm 11.5$ ) <sup>c</sup>	53.6( $\pm 10.4$ ) <sup>c</sup>	<0,0001
<b>LIN</b>	30.4( $\pm 2.09$ ) <sup>a</sup>	32.5( $\pm 4.81$ ) <sup>a</sup>	37.01( $\pm 8.0$ ) <sup>a</sup>	29.4( $\pm 10.1$ ) <sup>a</sup>	26.9( $\pm 10.7$ ) <sup>a</sup>	26.9( $\pm 10.9$ ) <sup>a</sup>	0,357
<b>WOB</b>	53.5( $\pm 1.19$ ) <sup>a</sup>	54.1( $\pm 4.22$ ) <sup>a</sup>	54.8( $\pm 15.6$ ) <sup>a</sup>	48.1( $\pm 11.1$ ) <sup>a</sup>	44.6( $\pm 9.97$ ) <sup>a</sup>	46.7( $\pm 10.5$ ) <sup>a</sup>	0,124
<b>ALH</b>	3.00( $\pm 0.82$ ) <sup>a</sup>	2.28( $\pm 0.745$ ) <sup>a</sup>	0.896( $\pm 0.091$ )	0.965( $\pm 0.184$ )	0.896( $\pm 0.158$ )	0.886( $\pm 0.125$ )	0,067
<b>BCF</b>	11.0( $\pm 2.61$ ) <sup>a</sup>	8.52( $\pm 3.32$ ) <sup>a</sup>	1.65( $\pm 1.25$ ) <sup>b</sup>	2.53( $\pm 2.52$ ) <sup>b</sup>	1.47( $\pm 0.67$ ) <sup>b</sup>	1.14( $\pm 0.32$ ) <sup>b</sup>	<0,0001

Se se estableció un comparativo de las medias donde se realizó un análisis de las Medias de: Motilidad, VCL, VAP, VSL, STR, LIN, WOB, ALH Y BCF. Tal como se observa en el Cuadro 2, se determinó que LIN, WOB y ALH no presentan diferencias estadísticas ( $p > 0,05$ ), mientras en las otras variables el semen fresco y congelado se diferencian favorablemente en comparación del uso de estas dosis de Coenzima Q10, por lo que la motilidad total se ve afectada por la presencia de coenzima Q10, donde todas bajan de forma significativa ( $p < 0.001$ ) en comparaciones al fresco y el testigo descongelado.

## 5. DISCUSIÓN

Son varias las aplicaciones de la coenzima Q10 en las ciencias veterinarias tienen propiedades anti necróticas y protectantes de los órganos de mamíferos (Aydoğan et al., 2013). Distintos meta análisis han recopilado información sobre la suplementación con coenzima Q10, la cual podría tener un efecto beneficioso sobre la presión arterial en pacientes con enfermedades cardiovasculares e hipertensión (Sue-Ling et al., 2022), los cuales han confirmado que la administración previa de coenzima Q10 tiene un efecto protector significativo contra el estrés oxidativo y los cambios celulares provocados por la falta de oxígeno en el corazón, seguida de la restauración del flujo sanguíneo y una disminución enzimática antioxidante (Khan et al., 2017). Esta actividad antioxidante es la que llamó la atención en nuestro estudio y llevó a desafiar distintas dosis de esta coenzima en muestras espermáticas de ovinos, post congelación.

Reza Masoudi et al., (2019) ya evaluó diferentes dosis de coenzima Q10 (1 a 10  $\mu\text{M}$ ) en semen ovino, obteniendo resultados aceptables para 1  $\mu\text{M}$  y 2  $\mu\text{M}$ , determinando que el uso de la yema de huevo no causa cambios significativos en el efecto de la coenzima, indistintamente de la dosis empleada, por lo que cualquier efecto positivo o nocivo de la molécula, se lo debe a su interacción en el medio, y no a los otros coadyuvantes empleados en la congelación, sin embargo en este estudio se pudo evidenciar que al aumentar la dosis a 200  $\mu\text{M}$  (0,2 mMol) o valores mayores, los efectos de la Coenzima empiezan a ser perjudiciales en el proceso de congelación.

Es importante aclarar que en este estudio se mantuvo dosis de diluyentes que han sido comprobadas, tal como Ruiz et al., (2025) concluye en su estudio, que el uso de glicerol y fructuosa en los diluyentes de semen ovino durante la criopreservación ayudan a mantener la calidad del semen, en contraste con el uso de etilenglicol y glucosa, que pueden provocar una disminución en dicha calidad. Es decir que cualquier efecto nocivo es atribuible a la adición excesiva de la coenzima Q10.

Villa Mancera et al.,(2009) evaluó el efecto del tipo de diluyente sobre la calidad espermática en semen ovino refrigerado, y los resultados mostraron que el diluyente Triladyl mantuvo una mejor motilidad y viabilidad espermática a lo largo del experimento, aunque la integridad acrosómica fue superior en otros diluyentes evaluados, estos sugieren que el Triladyl puede ser una alternativa para el almacenamiento refrigerado de semen ovino.

El Triladyl es una opción frecuente para preservar la calidad del semen en bovinos, ovinos y caprinos durante procesos de congelación, sin embargo, su uso puede afectar diferentes aspectos de la calidad espermática, incluyendo la motilidad y la integridad de la membrana (Reyes González, et al., 2022).

Un estudio en machos cabríos revela que la adición de un 10% de yema de huevo de gallina al diluyente Triladyl mejora significativamente la calidad de los espermatozoides,

tanto en condiciones de crioconservación in vitro como in vivo, en contraste con un diluyente que contiene un 20% de ácido tris-cátrico. (Hussain Shah et al., 2023).

Se evaluó la actividad mitocondrial en los espermatozoides de Toros utilizando la tinción fluorescente Rodamina 123, que se acumula en las mitocondrias activas. Mediante citometría de flujo se observó fluorescencia verde en la pieza intermedia de los espermatozoides teñidos, lo que indica un alto porcentaje de actividad mitocondrial intacta (Sánchez Caycho, 2016).

En base de este cúmulo de investigaciones podemos evidenciar en esta investigación que la coenzima Q10 bajó la viabilidad, la permeabilidad y la función mitocondrial con respecto al testigo fresco y al congelado, y es por eso que el testigo si presenta resultados positivos post congelación.

La recopilación bibliográfica determinó que no existe información relevante en ovinos, pero llama la atención que al comparar con otros rumiantes como Lopez Granollers et al., (2023) utilizando dosis de 0; 25; 50; 75; 100 mM de Coenzima Q10, en Toros mediante fragmentación espermática, obtuvo resultados positivos por que presentaron cambios en la cantidad y calidad de los espermatozoides.

Así como también, Ronquillo de Jesús et al., (2010) utilizó dosis de 0,50; 0,70; 1; 1,30; 1,5 %, mediante la obtención de nanocristales en Toros obtuvo un resultado positivo ya que resultó adecuado para obtención de nanopartículas utilizando las siguientes dosis.

Buste Alcívar & García Lucas, (2022) utilizaron una dosis de 0,04 y 0,06 mg en la evaluación de la calidad espermática en cerdos, donde obtuvieron resultados negativos debido a que ninguno de los tratamientos fue capaz de conservar el semen sin perder características de viabilidad.

Este estudio demostró en cambio que la motilidad progresiva y todos los indicadores de motilidad que nos da el sistema CASA fueron significativamente inferiores ( $p < 0,05$ ), indistintamente de la dosis.

También Nogueira et al., (2022) utilizó una dosis de 40 y 200 ug de coenzima Q10, en equinos para proteger el esperma crioconservado contra la lipoperoxidación, en el cual se obtuvieron resultados positivos, disminuyendo la peroxidación lipídica y aumentando el porcentaje de la estabilidad de la membrana plasmática.

Barreiro de Freitas Silva et al., (2015) realizó una evaluación en ratas en donde utilizó una dosis de 10 mg disuelto en aceite de maíz, en el efecto en daños oxidativos, obteniendo un resultado positivo porque indicó que la coenzima protege al músculo de los daños oxidativos.

En pollos Ramos Pilataxi, (2007) utilizó una dosis de 10 ml de coenzima Q10 por peso vivo, para comprobar el efecto en la mortalidad por ascitis, en donde tuvieron efectos significativos en el control del síndrome ascítico durante la etapa de crecimiento. Otra

evaluación realizada por Tana Hernández, (2010) donde utilizó dosis de 2,88 miligramos de coenzima Q10, al evaluar el rendimiento reproductivo en pollos, obtuvo un resultado negativo ya que no se diferenciaron estadísticamente las dosis sobre el pero individual y total.

Lo que llama la atención en mi investigación es que se logró comprobar el efecto de la coenzima Q10, ya que la motilidad progresiva baja significativamente en relación a la dosis, lo que nos puede evidenciar que la dosis está afectando a dicho tratamiento, mientras más dosis se incorpora la motilidad progresiva, WOB y VCL, baja notablemente.

## **6. CONCLUSIONES**

Tras analizar los efectos de la concentración de coenzima Q10 (0,2; 0,4; 0,6 y 0,8 mM), se concluyó que el mismo reduce significativamente sus propiedades cuando se utilizan estas dosis, en el momento de la crioconservación, en comparación con la alta actividad que tienen en fresco, indistintamente de las dosis, por lo que no se determinó una concentración óptima para la coenzima Q10 en este proceso.

La inclusión de la coenzima Q10, no mejora las características cualitativas y cinéticas del semen ovino, independientemente de la dosis utilizada.

También se pudo observar en este estudio que el individuo Katahdin tuvo mejor calidad espermática y que conforme se extrajo más el semen (repeticiones), este perdió cualidades.

Para llegar a conclusiones más claras es necesario estudiar los efectos de la coenzima Q10 utilizando menores concentraciones y relacionar estos datos con los efectos de esta coenzima en semen fresco.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Aguilar Martinez, C. U., Berruecos Villalobos, J. M., Espinoza Gutierrez, B., Segura Correa, J. C., Valencia Mendez, J., & Roldan Roldan, A. (2017). *Origen, Historia y Situacion actual de la oveja Pelibuey en México*. Redalyc. Retrieved 05 07, 2024, from <https://www.redalyc.org/pdf/939/93953814003.pdf>

Arenas, J. (2001, 05). *El envejecimiento cutáneo y la coenzima Q10*. Elsevier. Retrieved March 26, 2024, from <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13013474>

Augusto da silva, T., Araujo Cerqueira, L. G., fernandes Freire, V., Machado Florence, T. C., Santiago, L. M., Olivera Sousa Bordallo, C., & Sacramento, J. M. (n.d.). *Brazilian Journal of Development Suplementação de coenzima Q10 e redução dos efeitos colaterais da terapêutica com estatinas: uma revisão sistemática Coenzyme Q10 supplementation and reduction of side effects of statin therapy: a systematic review*. Researchgate. Retrieved May 7, 2024, from [https://www.researchgate.net/profile/Edilene-Maria-](https://www.researchgate.net/profile/Edilene-Maria-Araujo/publication/354338050_Brazilian_Journal_of_Development_Suplementacao_de_coenzima_Q10_e_reducao_dos_efeitos_colaterais_da_therapeutica_com_estatinas_uma_revisao_sistemica_Coenzyme_Q10_supplementatio)

[Araujo/publication/354338050\\_Brazilian\\_Journal\\_of\\_Development\\_Suplementacao\\_de\\_coenzima\\_Q10\\_e\\_reducao\\_dos\\_efeitos\\_colaterais\\_da\\_therapeutica\\_com\\_estatinas\\_uma\\_revisao\\_sistemica\\_Coenzyme\\_Q10\\_supplementatio](https://www.researchgate.net/profile/Edilene-Maria-Araujo/publication/354338050_Brazilian_Journal_of_Development_Suplementacao_de_coenzima_Q10_e_reducao_dos_efeitos_colaterais_da_therapeutica_com_estatinas_uma_revisao_sistemica_Coenzyme_Q10_supplementatio)

Aydoğan, F., Aydin, E., Taştan, E., Akgedik, T., Tekeli, A., & Üstün, H. (2013). *Is there any effect of coenzyme Q10 on prevention of myringosclerosis? Experimental study with rats*. Sciencedirect. Retrieved March 12, 2024, from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1808869415301683?via%3Dihub>

Barbas, J. P., & Mascarenhas, R. D. (2009). *Banco de tejidos celulares*. Springer.

Retrieved May 7, 2024, from <https://doi.org/10.1007/s10561-008-9081-4>

Barreiro de Freitas Silva, F., Dias Medeiros, H. C., Guelfi, M., Tiene Santana, A., & Erminio Mingatto, F. (2015). *Efecto de la coenzima Q10 en los daños oxidativos inducidos por la L-tiroxina en el músculo sóleo de ratas*. Scielo.

Retrieved March 23, 2024, from

<https://www.scielo.br/j/rbme/a/zPpKvszq88DmZ4S8L5HRWXz/abstract/?lang=es#>

Buste Alcivar, C. D., & Garcia Lucas, M. J. (2022). *Evaluación de la calidad espermática porcina sometida a los distintos niveles de coenzima Q10 y vapor de nitrógeno durante la congelabilidad*. Repositorio. Retrieved March 21, 2024,

from

<https://repositorio.espam.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/42000/1979/TTMV60D.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Cardenas Riaño, G. (2011). *Evaluación de la calidad seminal de ovinos criollos obtenido por electroeyaculador bajo dos rangos de voltaje*. Issuu. Retrieved

January 21, 2024, from

[https://issuu.com/medicinaveterinariajdc/docs/evaluaci\\_\\_n\\_de\\_la\\_calidad\\_seminal\\_d#google\\_vignette](https://issuu.com/medicinaveterinariajdc/docs/evaluaci__n_de_la_calidad_seminal_d#google_vignette)

Carneiro Joao, A. M., Canisso, I. F., Bandeira, R. S., Scheeren, V. F., Freitas-Dell'Acqua, C. P., Alvarenga, M. A., Papa, F. O., & Dell'Aqua Jr, J. A. (2018).

*Effects of coenzyme Q10 on semen cryopreservation of stallions classified as having good or bad semen freezing ability*. Sciencedirect. Retrieved March 12,

2024, from <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378432017310333>

Chavoshi Nezhad, N., Vahabzadeh, Z., Allahveisie, A., Rahmani, K., Raoofi, A., Rezaie Jafar, M., & Portovyan, M. (2021). *The Effect of L-Carnitine and Coenzyme Q10 on the Sperm Motility, DNA Fragmentation, Chromatin Structure and Oxygen Free Radicals During, before and after Freezing in Oligospermia Men.* PubMed. Retrieved January 15, 2024, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33550580/>

Cueto, M., Gibbons, A., Bruno-Galarraga, M. M., & Fernandez, J. (2016). *Manual de obtención, procesamiento y conservación del semen ovino.* Inta Ediciones. Retrieved March 18, 2024, from [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/106147/CONICET\\_Digital\\_Nro.734a3ad9-2123-41cb-84e0-543367254ca2\\_X.pdf?sequence=5&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/106147/CONICET_Digital_Nro.734a3ad9-2123-41cb-84e0-543367254ca2_X.pdf?sequence=5&isAllowed=y)

*Efecto de la coenzima Q10 como antioxidante sobre las características espermáticas del semen fresco porcino.* (2019). Repositorio. Retrieved January 30, 2024, from <https://repositorio.esпам.edu.ec/bitstream/42000/1147/1/TTMV4.pdf>

Estévez, P. N., Tripodi, V., Buontempo, F., & Lucangioli, S. (2023). *Coenzyme Q10 stability in pediatric liquid oral dosage formulations Estabilidad de Coenzima Q10 en formulaciones líquidas orales para pediatría.* Sciencedirect. Retrieved March 22, 2024, from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1130634323007717>

Hinojosa Benavides, R. A., Andia Salinas, C. T., Lunazco Gamboa, R., Nuñez Quispe, K., Ruiz Vilca, W. M., Farfan Mauri, R., & Valladolid, J. V. (2019). *Mirada retroactiva a la inseminación artificial en ovinos.* Researchgate. Retrieved March 20, 2024, from

[https://www.researchgate.net/publication/337956062\\_Mirada\\_retrospectiva\\_a\\_l\\_a\\_inseminacion\\_artificial\\_en\\_ovinos](https://www.researchgate.net/publication/337956062_Mirada_retrospectiva_a_l_a_inseminacion_artificial_en_ovinos)

Hussain Shah, S. A., Haider, M. S., Ahmed, H., Fayyaz, M. H., & Hassan andrabi, S. M. (2023). *Triladyl® improves the cryopreserved quality and in vivo fertilization potential of Beetal buck (Capra hircus) spermatozoa*. Sciencedirect.

Retrieved March 18, 2024, from <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0921448823000342>

Khan, N. A., Ahmad, A., Abid, M., Abuzinadah, M. F., Basheikh, M., & Kishore, K. (2017). *Cardioprotective Effect of Coenzyme Q10 on Apoptotic Myocardial Cell Death by Regulation of Bcl-2 Gene Expression*. NCBI. Retrieved March 12, 2024, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5642125/>

Kun Ko, E. Y., Sabanegh, E., & Agarwal, A. K. (2014). *Male infertility testing: reactive oxygen species and antioxidant capacity*. Fertility and Sterility. Retrieved March 8, 2024, from <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028214022717>

Larbi, A., Anass, B., Marcine da silva, M., Boubker, N., & El Amiri, B. (2018). *Supplementation of ram semen extender to improve seminal quality and fertility rate*. Sciencedirect. Retrieved March 21, 2024, from <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.03.019>

López Granollers, G., Lafuente Varea, R., Checa Vizcaíno, M. A., Monqaut, A., & Brassesco Macazzaga, M. (2023). *Efecto del tratamiento con vitaminas, L-carnitina y coenzima Q10 en el índice de vacuolización y la fragmentación espermática en pacientes de fecundación in vitro*. Sciencedirect. Retrieved March

21, 2024, from

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1698031X11700334>

Muiño Otero, R. (2006). *Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen Bovino mediante el uso de sistemas CASA y citometría de flujo: Identificación de subpoblaciones espermáticas*. Minerva (USC). Retrieved March 26, 2024, from [https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/2406/9788497509886\\_content.pdf?sequence=1](https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/2406/9788497509886_content.pdf?sequence=1)

Nogueira, B. G., Pereira, R. R., Bitencourt, J. L., Milan, B., Reis, W. V., Junior, M. V., Acáico, B. R., Sampaio, B. F., & Souza, M. L. (2022). *Coenzyme Q10 and melatonin protect cryopreserved equine sperm against lipoperoxidation*. Sciencedirect. Retrieved March 23, 2024, from [https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432022001063?dgcid=raven\\_sd\\_recommender\\_email](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432022001063?dgcid=raven_sd_recommender_email)

Páez Barón, E. M., & Corredor Camargo, E. S. (2014). *Evaluación de la aptitud reproductiva del toro*. Redalyc. Retrieved March 22, 2024, from <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=560058659007>

Quishpi Coronel, J. H. (2021). *Situación actual de la producción ovina en el Ecuador*. Dspace. Retrieved January 21, 2024, from <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/16261/1/17T01676.pdf>

Ramos Pilataxi, R. G. (2007). *Niveles de Coenzima Q10 en la Cría de Pollos de Ceba y su efecto en la Mortalidad por Ascitis*. Dspace. Retrieved March 23, 2024, from <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2368>

Reyes Gonzalez, E. A., Centurion Castro, F., Espinoza, N. U., Ek Mex, J. E., Peralta Torres, J. A., & Segura Correa, J. C. (2022). *Efecto de los diluyentes Ley-*

*Leygo y Triladyl y de dos tiempos de equilibrio en la congelación de semen de verraco.* Scielo. Retrieved March 19, 2024, from [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172022000600015](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172022000600015)

Reza, M., Mohsen, S., & Ahmad Zare, S. (2019). *Effects of CoQ10 on the quality of ram sperm during cryopreservation in plant and animal based extenders.* Sciencedirect. Retrieved March 18, 2024, from <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S037843201831131X?via%3Dihub>

Reza, M., Mohsen, S., Ahmad Zare, S., Hamid, K., Elahe Nejati, A., Hamideh, K., Mahdi Khodaei, M., & Abdolhossein, S. (2018). *Supplementation of extender with coenzyme Q10 improves the function and fertility potential of rooster spermatozoa after cryopreservation.* Sciencedirect. Retrieved March 21, 2024, from <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.09.019>

Ronquillo de Jesús, E., San Martín Martínez, E., & Guzmán Mendoza, J. (2010). *Obtención de Nanocristales de Coenzima Q10 por el método de desplazamiento de solvente, encapsulados en polímeros de ácido p.* SciELO. Retrieved March 21, 2024, from <https://www.scielo.org.mx/pdf/sv/v23n3/v23n3a4.pdf>

Ruiz, L., Sandoval, R., & Santiani, A. (2015). *Evaluación de la Calidad Espermática del Semen Ovino Post Descongelación al Emplear Dos Fuentes Energéticas y Dos Crioprotectores.* SciELO. Retrieved March 18, 2024, from [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172015000100007&lang=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172015000100007&lang=es)

Sáenz García, A. A. (2015). *Ovinos y Caprinos*. CENIDA – UNA. Retrieved March 22, 2024, from <https://cenida.una.edu.ni/textos/nl01s127o.pdf>

Sanchez Cycho, K. (2016). *Nuevos métodos integrados de evaluación de la calidad seminal en vacuno*. RiuNet. Retrieved May 7, 2024, from <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/66376/S%C3%81NCHEZ%20-%20Nuevos%20m%C3%A9todos%20integrados%20de%20evaluaci%C3%B3n%20de%20la%20calidad%20seminal%20en%20vacuno.pdf?sequence=1>

Sandoval, R., Santiani, A., Ruiz, L., Huanca, W., Delgado, A., Coronado, L., & Alzamora, C. (2007). *Efecto de dos antioxidantes (tempo y tempol) en la criopreservación de semen ovino empleando un dilutor en base a tris*. SciELO. Retrieved March 14, 2024, from [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172007000200003](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172007000200003)

Silva Bastidas, A. O. (2017). *Comportamiento productivo de ovinos alimentados con dieta a base de fruta de pan (Artocarpus atilis)*. Repositorio. Retrieved January 30, 2024, from <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/25097/1/tesis%20027%20Ingenier%C3%ADa%20Agropecuaria%20-%20Silva%20Arsenio%20-%20cd%20027.pdf>

Sue-ling, C., Abel, W., & Sue-Ling, K. (2022). *Coenzyme Q10 as adjunctive therapy for cardiovascular disease and hypertension: A systematic review*. Scienedirect. Retrieved March 12, 2024, from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022316622006678>

Tana Hernández, N. A. (2010). *Suplementación de coenzima Q10 y su efecto en el rendimiento productivo en pollos de engorde*. Dspace. Retrieved March 23, 2024, from <https://dspace.udla.edu.ec/jspui/handle/33000/2834>

Teixeira Pereira, B. F. (2022). *Coenzima Q10 e Doenças Neurodegenerativas Coenzyme Q10 and Neurodegenerative Diseases Bárbara Filipa Teixeira Pereira*. Repositório Aberto da Universidade do Porto. Retrieved May 7, 2024, from <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/145753/2/593567.pdf>

Valderrama, R. U., Arango Rodriguez, M. E., Rendon Alvarez, L., & Acevedo Naranjo, C. M. (2011). *Evaluación del semen canino, sometido a congelación con diferentes concentraciones de glicerol como crioprotector*. Scielo. Retrieved March 18, 2024, from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1900-96072011000100003](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1900-96072011000100003)

Valverde, A., & Madrigal, M. (2018). *Sistemas de análisis computadorizado de semen en la reproducción animal I*. Redalyc. Retrieved January 30, 2024, from <https://www.redalyc.org/journal/437/43755165018/html/>

Valverde, A., Madrigal-Valverde, M., Camacho-Clavo, M., Zambrana-Jiménez, A., & López, L. (2018). *Efecto de la composición racial sobre la calidad espermática de verracos*. Redalyc. Retrieved January 30, 2024, from <https://www.redalyc.org/journal/437/43756297001/html/>



**Evelyn Thayni Loja Jiménez** portadora de la cédula de ciudadanía N° **1900857564**. En calidad de autora y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación “**Efecto de la concentración de la coenzima Q10 en semen ovino post congelación**” de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **22 de mayo de 2024**

**Evelyn Thayni Loja Jiménez**

**C.I. 1900857564**