



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

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 LA REFRIGERACIÓN DE SEMEN OVINO**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE MÉDICA VETERINARIA**

AUTOR: SONIA VIVIANA CRUZ PAREDES

DIRECTOR: DR. ANDRÉS LEONARDO MOSCOSO PIEDRA MSC

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
LA REFRIGERACIÓN DE SEMEN OVINO**

**TRABAJO DE TITULACIÓN DE PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE MÉDICA VETERINARIA**

AUTOR: SONIA VIVIANA CRUZ PAREDES

DIRECTOR: DR. ANDRÉS LEONARDO MOSCOSO PIEDRA MSC

CUENCA - ECUADOR

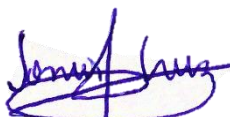
2024

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

Declaratoria de Autoría y Responsabilidad

Sonia Viviana Cuz Paredes portadora de la cédula de ciudadanía N° **1207504711**. Declaro ser el autor de la obra: “**Efecto de la concentración de la coenzima Q10 en la refrigeración de semen ovino**”, 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, **03 de octubre del 2024**



F:

Sonia Viviana Cruz Paredes

C.I. 1207504711

Certificación

Yo, **Andrés Leonardo Moscoso Piedra**, certifico que el presente trabajo “**Efecto De La Concentración De La Coenzima Q 10 En La Refrigeración De Semen Ovino**” Fue desarrollado por Sonia Viviana Cruz Paredes, 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, 18/9/2024

ANDRES
LEONARDO
MOSCOSO
PIEDRA

Firmado
digitalmente por
ANDRES
LEONARDO
MOSCOSO PIEDRA
Fecha: 2024.09.18
09:55:13 -05'00'

Dr. Andrés Leonardo Moscoso Piedra
DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Dedicatoria

Esto va dedicado a las personas que han sido mi mayor fortaleza y motivación en cada paso de este camino.

A mi madre, Sonia Paredes Amaiquema, no encuentro palabras suficientes para agradecerte todo lo que has hecho por mí. Has sido mi refugio en los momentos más oscuros y mi inspiración constante. Tu sacrificio, tu fuerza y ese amor inmenso que me das han sido el motor que me impulsa a seguir. Te admiro de una manera que no puedo describir, y todo lo que soy te lo debo a ti. Cada logro que alcanzo lleva tu nombre, mamá.

Mi papá, Pablo Cruz Pulecio, con tu amabilidad y paciencia, me has enseñado a enfrentar los retos con una sonrisa y un corazón abierto.

A mis queridas hermanas, Lady y Paulita Cruz Paredes, gracias por ser mis consejeras, mis aliadas, por cada palabra de aliento y cada gesto de amor que me han dado. Ustedes han sido mi roca en los momentos difíciles, y no hay forma de expresar cuánto valoro su apoyo.

Y a mis amigos, por su compañía, por estar a mi lado en los momentos más difíciles y por ayudarme a llegar hasta aquí.

Sonia Viviana Cruz Paredes

Agradecimiento

Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. Andrés Moscoso Msc, mi tutor de tesis, por su invaluable orientación y paciencia a lo largo de este proceso. Su vasto conocimiento y dedicación fueron esenciales para la culminación de este trabajo. Aprecio profundamente el tiempo y el esfuerzo que ha dedicado a guiarme y por confiar en mi capacidad para llevar a cabo este proyecto.

De igual manera, extendiendo mi agradecimiento al Ing. Manuel Maldonado, cuya disposición y apoyo fueron fundamentales en momentos clave. Agradezco profundamente su apoyo y colaboración, que contribuyeron de manera significativa al desarrollo de esta tesis. Estoy profundamente agradecido por su valiosa colaboración.

Sonia Viviana Cruz Paredes

ÍNDICE

Declaratoria de autoría y responsabilidad.	III
Certificación.....	IV
Dedicatoria.....	V
Agradecimiento.....	VI
1. Resumen.....	1
2. Abstract.....	2
3. Introducción.....	3
4. Fundamento Teórico.....	5
4.1 Producción.....	5
4.2 Razas.....	5
4.3 Análisis Seminales.....	6
4.4 Diluyente.....	7
4.5 Trilady.....	8
4.6 Agentes Crioproctores.....	8
4.7 Coenzima Q10.....	8
5. Materiales Y Métodos.....	9
5.1 Obtención Del Semen.....	9
5.2 Examinación Del Semen.....	10
5.3 Refrigeración.....	11
5.4 Evaluación De La Integridad De La Membrana.....	11
5.5 Evaluación De La Actividad Mitocondrial.....	13
5.6 Diseño Estadístico.....	14
6. Resultados.....	15
7. Discusión.....	20
8. Conclusión.....	22
9. Bibliografía.....	24
10. Solicitud de embargo temporal de obra.....	32

1. Resumen

El proceso de criopreservación de espermatozoides enfrenta desafíos considerables, especialmente en cuanto a la integridad de la membrana plasmática, la cual se vuelve más frágil con la refrigeración y congelación, afectando tanto la morfología como la función de los espermatozoides. En este estudio, se investigó el efecto de diversas concentraciones de Coenzima Q10 (0.2 mM, 0.4 mM, 0.6 mM y 0.8 mM) en la calidad del espermatozoides de la raza Katahdin, Dorper y Pelibuey, tras distintos períodos de almacenamiento en refrigeración (0 h, 24 h y 48 h). La investigación, realizada en la Universidad Católica de Cuenca durante cinco meses, empleó técnicas como el análisis de motilidad espermática, pruebas de vitalidad y evaluación de la actividad mitocondrial mediante Rodamina 123 y Yoduro de Propidio. Los resultados indicaron que las diferentes concentraciones de Coenzima Q10 tuvieron un impacto significativo en la calidad del espermatozoides. La concentración de 0.8 mM mostró los mejores resultados en términos de motilidad, vitalidad y actividad mitocondrial, mientras que concentraciones más bajas mostraron una disminución en estos parámetros en comparación con el grupo de control. Además, se observó que esta coenzima redujo la formación de cristales durante la refrigeración, mejorando la calidad del espermatozoides, especialmente de 0.6 mM y 0.8 mM. Los carneros Katahdin exhibieron una calidad espermática inicial superior; la cual se benefició de extracciones posteriores.

Palabras claves: Coenzima Q10; Refrigeración; Calidad Espermática.

2. Abstract

The sperm cryopreservation process faces considerable challenges, especially regarding the integrity of the plasma membrane, which becomes more fragile with refrigeration and freezing, affecting both the morphology and function of the sperm. In this study, the effect of various concentrations of Coenzyme Q10 (0.2 mM, 0.4 mM, 0.6 Mm, and 0.8 mM) on the quality of sperm from sheep of the Katahdin, Dorper, and Pelibuey breeds after different periods of refrigerated storage (0 h, 24 h, and 48 h) was investigated. The research conducted at the Catholic University of Cuenca for five months used techniques such as sperm motility analysis, vitality tests, and evaluation of mitochondrial activity using Rhodamine 123 and Propidium Iodide. The results indicated that different concentrations of Coenzyme Q10 had a significant impact on sperm quality. The 0.8 mM concentration showed the best results regarding motility, vitality, and mitochondrial activity, while lower concentrations showed a decrease in these parameters compared to the control group. Furthermore, it was observed that this coenzyme reduced the formation of crystals during refrigeration, improving sperm quality, especially at 0.6 mM and 0.8 mM. Katahdin rams exhibited superior initial sperm quality, which benefited from subsequent extractions.

Keywords: Coenzyme Q10, Refrigeration, Sperm Quality.

3. Introducción

Hay desafíos significativos en el procedimiento de criopreservación de espermatozoides, particularmente en el área de la membrana plasmática; la cabeza a menudo es susceptible a un deterioro debido a cambios bruscos de osmolaridad y variación de temperatura (Saha et al., 2022). Se ha observado que a lo largo del proceso de congelación, la fragilidad de la membrana aumenta, produciendo cambios en la forma y tamaño del acrosoma en los espermatozoides de verracos y carneros con respecto a los toros (Zenteno et al., 2022). La criopreservación podría conducir a un proceso de “crio capacitación” de espermatozoides, provocando así una reducción al ciclo de vida y, por ende, disminuiría su eficacia en la fertilización (Stegmayer et al., 2013). Es posible que estos daños disminuyan hasta un 50% la viabilidad de los espermatozoides y disminuyan su capacidad de fertilizar hasta 7 veces más (Ávila-Portillo et al., 2006). La membrana plasmática, su permeabilidad, su composición lipídica, la pérdida de proteínas de la membrana y la actividad mitocondrial son algunas de las funciones en que esto afecta tanto la morfología como la fisiología de los espermatozoides (Mullen et al., 2020).

Una alternativa para conservar el material genético para fines reproductivos es la refrigeración de semen. Los ovinos pueden conservar sus células espermáticas a temperatura ambiente durante varios periodos; sin embargo, la conservación en una temperatura de 10 a 15°C o 0 a 5°C, con una disminución gradual de la temperatura, es más apropiada para preservar la integridad celular (Moscardini et al., 2014). En el proceso de dilución de los espermatozoides con medios de dilución y conservación por refrigeración, esto provoca una desregulación en el proceso de intercambio transmembrana y finalmente en la pérdida de fertilidad en los espermatozoides (Thiangthientham et al., 2020). Sin embargo, el uso de

semen refrigerado después de 24 horas de su recolección manifiesta desafíos debido a la reducción en la viabilidad espermática; esto perjudica la eficacia de la inseminación artificial (IA), especialmente la viabilidad y la longevidad de los espermatozoides luego de la inseminación; es indispensable para aumentar la fertilidad y productividad de los animales, por lo que es imprescindible buscar nuevas alternativas para mantener las características espermáticas del semen almacenado (Hernández Pichardo et al., 2021).

Los diluyentes utilizados para la conservación del semen son cruciales, ya que deben mantener la viabilidad espermática durante el almacenamiento; la Coenzima Q 10 se presenta como una alternativa prometedora debido a sus propiedades antioxidantes en las mitocondrias y las membranas lipídicas, protegiendo así al ADN del daño oxidativo (Silva Bastidas, 2017). Asimismo tiene la capacidad de transferir electrones y generar una repuesta antioxidante semejante a la vitamina E (Arenas-Jal et al., 2020). Estudios han demostrado su importancia en la resistencia de ADN al daño oxidativo y su capacidad para reducir la generación de radicales libres (Aydoğan et al., 2013).

Este estudio tuvo como objetivo principal evaluar el impacto de varias concentraciones de Coenzima Q 10 (0.2 mM, 0.4 mM, 0.6 mM y 0.8 mM) en la calidad espermática de ovinos de las líneas Katahdin, Dorper y Pelibuey después de diferentes tiempos de refrigeración (0 h; 24 h; 48 h). Se busco identificar las dosis óptimas de Coenzima Q 10 para la crioconservación de semen ovino, considerando las características fenotípicas de los animales.

4. Fundamento Teórico

4.1 Producción

En el Ecuador, la cría de ovinos es una ocupación pecuaria de larga data; ejerce un papel significativo dentro del subsector ganadero; estas actividades son valoradas por su impacto social y su aporte a la economía de los agricultores (Quishpi Coronel, 2021). Los pequeños agricultores en particular son beneficiarios de la producción ovina, debido a que les ofrecen carne, lana y abono; numerosas familias en Ecuador dependen de la producción de corderos; sobre todo para los campesinos, estos ingresos pueden ser incrementados mediante la implantación de mejoramiento en las técnicas de explotación, las cuales incluyen nutrición, manejo, sanidad y genética (INEC, 2022).

4.2 Razas

La raza de ovino Pelibuey es una raza de ovino oriunda de América Central y el Caribe; los rasgos morfológicos de estas ovejas se singularizan por presentar una capa de pelaje rizadas color café oscuro. Son una raza extremadamente rústica y adaptada a climas cálidos y secos. Tiene una alta capacidad para sobrevivir en condiciones extremas, igualmente estos animales son medianos pesan 40 - 50 Kg.(Aguilar-Martínez et al., 2017)

Disponen de una alta tasa de partos múltiples y facilidad en la gestación y por ende en el parto. La carne de los animales de esta raza se considera de alta calidad, pues poseen bajo contenido de grasa y alto de proteína (García-Chávez et al., 2020).

Los ovinos de la raza Katahdin son una variedad de ovejas originarias de España, concretamente de la comunidad Autónoma de Cataluña. Esta raza ovina se caracteriza por ser de doble propósito, puesto que se crían tanto para carne como para producción de lana; en cuanto a la morfología, los ovinos tienen un tamaño medio, cuando son adultos pesan

aproximadamente 70 – 80 kg; también, el pelo es blanco brillante, denso y uniforme, por lo que es muy apreciado en la zona industrial textil. Esta raza manifiesta una madures sexual temprana, siendo posible reproducción a partir de los 6 meses de edad. Su alimentación se adapta a diversos tipos de pastos y forrajes (Chay-Canul et al., 2019).

Así mismo, los ovinos de la raza Dorper se destacan por su gran tamaño, llegando a pesar entre 70 – 120 kg en los ejemplares adultos; poseen una cabeza grande y un cuello musculoso, con una testuz ancha y boca ancha. Su pelaje es corto y liso, de color blanco puro. En la mayoría de los casos, una característica distintiva de esta raza es la presencia de una mancha negra en la cabeza. La raza Dorper se ha destacado por su alta capacidad de producción de carne de calidad, lo que la ha convertido en una raza más conocida en todo el mundo en la producción de carne ovina (Hernández Jiménez, 2017).

4.3 Análisis Seminales

Uno de los principales factores relacionados con la fertilidad es la producción espermática, que se valora mediante espermograma, el mismo que consiste en la evaluación macroscópica y microscópica del semen (Páez-Barón & Corredor-Camargo, 2014).

El color normal del semen de ovinos es blanco cremoso. Este color es causado por la presencia de células espermáticas, plasma seminal y otras sustancias (Arrebola-Molina et al., 2020).

La cantidad de semen se determina mediante el uso de un tubo de recolección graduado, por lo generalmente se obtiene un volumen eyaculatorio de alrededor del 1 ml; este volumen puede llegar a variar debido a factores como la edad, tamaño y condición corporal del animal, así como la frecuencia de recolección y la habilidad del operador (David et al., 2007). Por otro lado, el pH del eyaculado en ovino que contiene un número normal de espermatozoides es de 6,9 o menos (Fleming et al., 2004). La motilidad espermática es el

movimiento de olas que es generado por los espermatozoides, medida mediante una puntación de motilidad masiva de los espermatozoides (David et al., 2015).

La vitalidad espermática en el semen ovino hace referencia a los espermatozoides vivos y funcionales dentro de la muestra, por otro lado, la mortalidad se refiere al porcentaje de los espermatozoides muertos o no viables en la eyaculación (Sánchez R & Zamora D, 2016). Para evaluar este parámetro se utiliza lo que es la prueba de tención eosina-nigrosina, donde los espermatozoides muertos se teñirán de un color morado, mientras que los vivos permanecen sin teñir (Gacem et al., 2021).

4.4 Diluyente

Un diluyente se define como una solución que posee una capacidad de incrementar el volumen del eyaculado sin perjudicar las funciones y características de los espermatozoides, así como asegura un nivel adecuado de fertilidad. La función principal de los diluyentes es mantener la viabilidad de las células espermáticas durante un periodo determinado (Torres-Ruda et al., 2019). Según su composición general, los diluyentes deben cumplir las siguientes funciones: proporcionar la energía imprescindible para el metabolismo de los espermatozoides, neutralizar los residuos metabólicos, mantener la estabilidad osmótica adecuada y estabilizar las membranas de los espermatozoides (Condoy & Cevallos, 2017). En la composición de los diluyentes, se incluye la glucosa como fuente de energía, ya que es la más empleada debido a su alto valor energético. Sin embargo, también se pueden utilizar otras sustancias como galactosa, fructosa, ribosa o trehalosa, a pesar de que hasta ahora no se ha demostrado que superen los resultados obtenidos con glucosa (Brito et al., 2004).

4.5 Trilady

Es un diluyente que es ampliamente utilizado en la industria ovina y bovina; por otra parte, es bien conocido por su eficacia para mantener la fertilidad y conservar la calidad del espermatozoide. Se diferencia por ser una solución acuosa que contiene varios componentes vitales para la supervivencia y función de los espermatozoides (Rekha et al., 2016). Este diluyente aumenta el volumen de la muestra sin afectar la concentración espermática, proporcionando un fácil manejo del semen durante los procedimientos de inseminación artificial y otra técnica de reproducción asistida. Asimismo, los componentes de Trilady crean un ambiente favorable para la supervivencia y función de los espermatozoides, aportándoles energía, manteniendo un pH adecuado y previniendo el daño oxidativo (Miguel-Jimenez et al., 2020).

4.6 Agentes Crioprotectores

Son sustancias químicas que se incorporan a las células o tejidos antes de su refrigeración y congelación, con el propósito de proteger del daño causado por la formación de hielo (Vásquez et al., 2013). En este caso la yema de huevo se emplea como crioprotectores no penetrantes que protegen con éxito las funciones de los espermatozoides, las cuales son motilidad, viabilidad e integridad del acrosoma (Saha et al., 2022).

4.7 Coenzima Q10

La coenzima Q 10 es un componente liposoluble que se produce naturalmente en el cuerpo y se considera una provitamina. Se encuentra presente en la membrana de varios organelos celulares, como el retículo endoplásmico, vesículas y la membrana interna de las mitocondrias. Además de su papel en la producción de energía, la coenzima Q 10 también posee propiedades antioxidantes y se ha investigado su potencial en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y neuromusculares (Estévez et al., 2012).

Es una sustancia de estructura cristalina que se presenta en forma de un polvo de color anaranjado intenso, sin olor ni sabor (Jesús et al., 2010). La Coenzima Q10 posee la capacidad de proteger las proteínas de la membrana mitocondrial, los fosfolípidos y el ADN contra el daño causado por el estrés oxidativo; además, tiene la capacidad de regenerar otros antioxidantes, como el ácido ascórbico (vitamina C) y el α -tocoferol (vitamina E) (Jorge, 2022).

Las dosis se eligieron en base al trabajo de (Tironi, 2021), quien encontraron un mayor porcentaje de motilidad progresiva e integridad de la membrana plasmática utilizando CoQ10 0,35 mM, mostrando un mayor resultados de viabilidad espermática, motilidad total y progresiva, porcentaje de espermatozoides rápidos e integridad del ADN, agregando 1 Mm en diluyentes seminal para ovinos.

5. Materiales Y Métodos

La presente investigación se realizó en la provincia del Azuay, Cantón Cuenca, en la Universidad Católica de Cuenca, en la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias, la misma que se encuentra ubicada en la Panamericana Norte Km 2 ½. Durante un periodo de 5 meses, se evaluó el efecto de la Coenzima Q10 en dosis (0,2mM; 0,4mM; 0,6mM; 0,8mM).

5.1 Obtención Del Semen

Se utilizó una hembra, alojada en la instalación de la Universidad de Ciencias Agropecuarias. Para este procedimiento se utilizó una vagina artificial (inv technologies) siendo cargada con 40-60 ml de agua. La misma tuvo una temperatura de 45-50 grados centígrados, considerando que habría un descenso de la temperatura hasta proceder con la recolecta, llegando a 42 grados centígrados para una mejor comodidad del animal. El técnico se ubicó de lado derecho del macho y sujetando la vagina artificial, en ángulo de 45°. Cuando el semental montó, el técnico desvió el pene lateralmente para conducirlo hacia la vagina

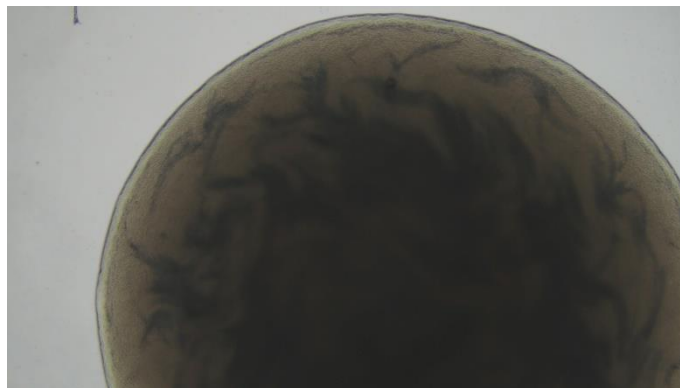
artificial. Después del salto, el tubo de recolección (tubo falco 15 ml) se protegió con la mano para evitar cambios bruscos de temperatura y se colocó en un baño termostático a 37 °C.

5.2 Examinación Del Semen

El volumen y la contracción espermática se analizó antes de su utilización, para tener una exacta dilución según el volumen y el número de espermatozoides total, por lo que el volumen se lo obtuvo mediante el manejo correcto de una micropipeta de 100-1000 microlitros, para la concentración se colocó 30 μ l de semen sobre una microcubeta, para posteriormente llevar la muestra al fotómetro SMD 1 (minitube) característico para ovinos. Una vez homogenizado el eyaculado por agitación, se extrajo 10 μ l de semen con una micropipeta y se colocó en un portaobjeto templado (sobre platina térmica a 37 °C) para su observación microscópica con el lente de 100. De esta manera se determinó motilidad Masal.

Figura 1.

Motilidad Masal



Nota. Raza Katahdin primera repetición

Una vez analizado el semen, se diluyó en una proporción de 1:1:3 (Triladyl, yema de huevo y agua pura), previamente atemperado a 37 °C. Una vez diluido el semen, se

prosiguió a empajuelar. Posteriormente, se añadió la Coenzima Q10 en dosis de 0,2mM; 0,4mM; 0,6mM y 0,8mM.

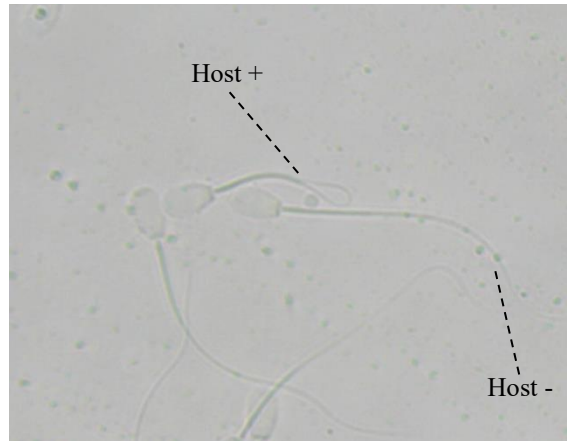
5.3 Refrigeración

Se preparó una solución madre utilizando el procedimiento estándar, teniendo en cuenta el volumen seminal multiplicado por la concentración y la Motilidad Masal (MM) multiplicada por la Motilidad Individual (MI). Se estimó que tanto MM como MI eran del 80%. Este valor se dividió por la concentración estimada de cada pajuela (50 millones), para determinar la cantidad de pajuela a procesar. Cabe mencionar que el valor obtenido se dividió entre cuatro, dado que se utilizaban pajuelas de 0.25 cc, obteniéndose así el volumen de la solución madre al cual se le restó el volumen de la pre disolución.

Se prosiguió a colocar las pajuelas rotuladas con las dosis (tres de cada dosis) en los tobos flacón; estas fueron colocadas en refrigeración durante 2 horas a 5 °C. Las muestras se analizaron en los periodos de 0h, 24h y 48h. Antes de su evaluación, las alícuotas se mantuvieron a una temperatura de 37 °C durante 15 minutos (sobre la platina térmica).

5.4 Evaluación De La Integridad De La Membrana

Se mezcló 20 μ l de semen con 100 μ l de la solución de Host en un tubo Eppendorf. Después de homogenizar la muestra, se incubó durante 45 minutos en una platina termorreguladora a 37 °C. Para el análisis microscópico, se colocaron 5 μ l de la muestra en un portaobjeto y se cubrió con un cubreobjetos. Se observaron los espermatozoides con un microscopio Olympus BX51 con un aumento de 40x. En la prueba de Host, aquellos que mostraron una torsión en el flagelo helicoidal indicaron una reacción positiva a la prueba. Esto es un indicador positivo de la capacidad de los espermatozoides para penetrar en el óvulo.

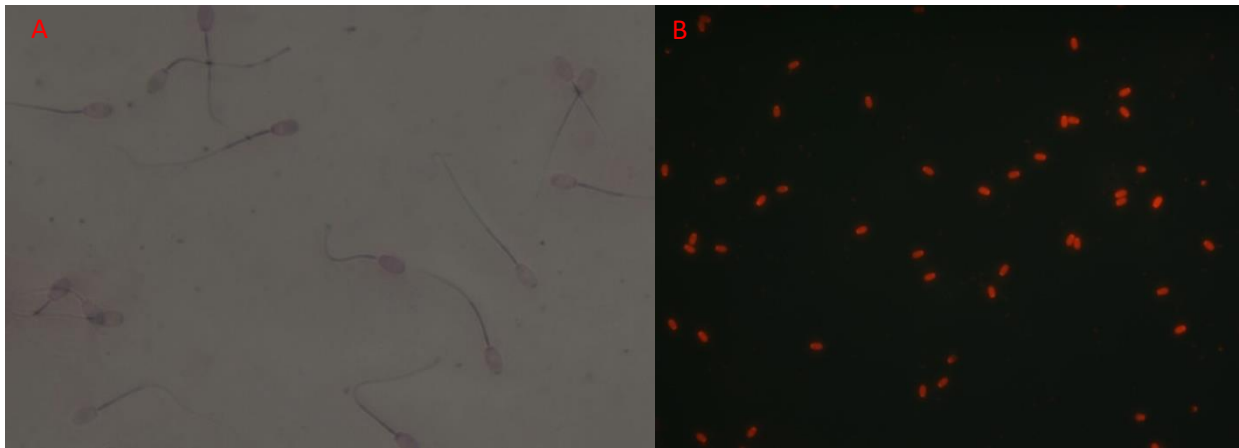
Figura 2.*Integridad de la membrana*

Nota. Post refrigeración en la raza Katahdin primera repetición 24 horas.

Se colocó 3 μl de semen en un portaobjeto y se agregaron 3 μl de solución de tinción eosina-nigrosina. La unión obtenida se deslizó en otro portaobjeto para garantizar una tinción uniforme y fina. La vitalidad se observó a 400X. Los espermatozoides que no presentaron ningún color se consideraron como vivos y los teñidos como muertos. Para evaluar la vitalidad se utilizó la tinción fluorescente de yoduro de propidio. Este método consistió en preparar la muestra en un tubo Eppendorf, donde se agregaron 50 μl de muestra de semen y 3 μl de tinción de yoduro de propidio. Posteriormente, se incubó en la platina térmica a una temperatura de 37 °C durante 15 minutos. Se colocaron 5 μl de la muestra en un portaobjeto y, con la utilización de otro portaobjeto, se deslizó para tener una tinción uniforme. Se observó con el microscopio de Olympus BX51 con el lente de 100x y disco 1. Se tomó en cuenta que los espermatozoides teñidos con tinción fluorescente eran aquellos con la membrana plasmática dañada.

Figura 3.

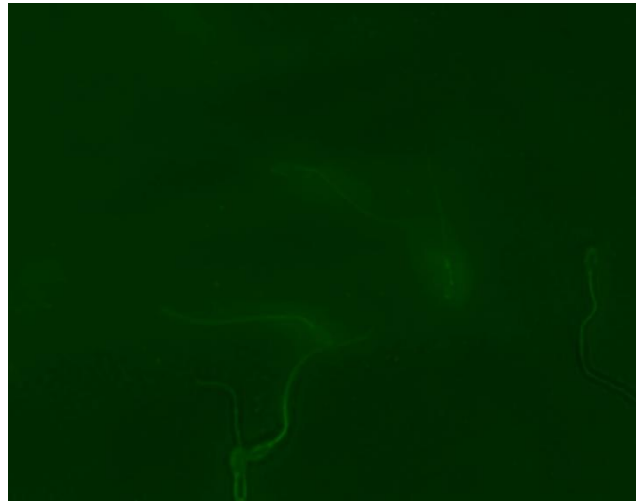
Vitalidad y Viabilidad post refrigeración en la raza Dorper a las 24 horas



Nota. (A, B) segunda repetición. Vitalidad (A) y Viabilidad (B)

5.5 Evaluación De La Actividad Mitocondrial

Para evaluar la actividad mitocondrial se utilizó la tinción de Rodamina 123, que es una tinción fluorescente. Se utilizó un tubo Eppendorf, en el cual se añadieron 50 μ l de semen y 1 μ l de la tinción de Rodamina 123. Se prosiguió en incubar en la platina térmica a una temperatura de 37 °C durante 10 minutos. Se continuó colocando 3 μ l en un portaobjetos para proceder a ver el frotis. Se observó con el microscopio Olympus BX51 con el lente de 100X y disco 3, teniendo en cuenta que los espermatozoides teñidos con tinción fluorescente eran los espermatozoides con una actividad mitocondrial mayor.

Figura 4.*Actividad Mitocondrial*

Nota. Post refrigeración en la raza Dorper a las 24 horas segunda repetición.

5.6 Diseño Estadístico

Para el análisis de las diferencias estadísticas de los parámetros de calidad espermática entre razas se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una entrada a partir de un diseño completamente al azar (DCA), mientras que los tratamientos de dosis bloqueados a partir de horas se analizaron con un ANOVA de dos entradas y basados en un diseño de bloques completamente al azar (DBCA), evaluando así la variables dependientes como la viabilidad, integridad de la membrana y función mitocondrial a través de las pruebas de tinción (Eosina-Nigrosina, Yoduro de Propidio y Rodamida) y solución de Host, así como las variables de progresividad que empleo el Sistema CASA que midió los parámetros claves como motilidad total en porcentaje (MT), la velocidad con trayectoria curvilínea en micrómetros por segundos (VCL), la velocidad con trayectoria rectilínea en micrómetros por segundos (VAP), la rectitud en porcentaje (STR), la linealidad en porcentaje (LIN), la

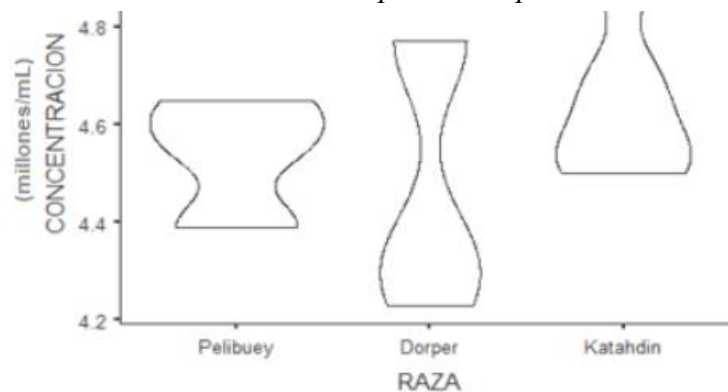
oscilación en porcentaje (WOB), la amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza en micrómetros por segundo (ALH) Y la frecuencia rectilínea en hertzios (BCF).

6. Resultados

Se recolectaron muestras de tres sementales de diferentes razas (Pelibuey, Katahdin y Dorper), obteniendo cinco repeticiones por semental. En todas las repeticiones de las tres razas, se observó una motilidad masal de 5, una motilidad total de 5 y una motilidad individual de 4. Además, el semen de los sementales presentó una consistencia cremosa y lechosa. En cuanto a la concentración espermática ($10^6/\text{ml}$), el ovino Katahdin mostró diferencias significativas ($p = 0.003$) con un valor de $4,62 \times 10^6$ (± 0.17), comparado con el Pelibuey, que presentó 4.53×10^6 (± 0.11), y el Dorper, que tuvo 4.48×10^6 (± 0.41). Además, analizó el volumen, donde el Katahdin registró 0.787 ml (± 0.78), el Pelibuey $0,520 \text{ ml}$ (± 0.41) y el Dorper $0,442 \text{ ml}$ (± 0.31), sin encontrar diferencias significativas entre los individuos ($p = 0.767$) (Figura 5).

Figura 5.

Variación en la Concentración Espermática por Razas



En la tabla 1. Los resultados indicaron que hubo una diferencia significativa ($p = 0.006$) en los valores del test de Host entre la raza. El valor promedio más alto correspondió a Katandin (49.64 ± 19.94), seguido del Dorper (46.91 ± 18.51) y Pelibuey (40.42 ± 15.16).

Asimismo, se observó una diferencia significativa ($p = 0.001$) en los valores promedio del test de Rodamida 123 de las tres razas de ovinos. Khatadin nuevamente presentó el valor promedio más alto (37.48 ± 22.89), seguido de Dorper (30.41 ± 18.51) y Pelibuey (18.60 ± 8.58).

En la tabla 1. Los datos indicaron una ligera diferencia ($p = 0.031$) en la velocidad media entre las tres razas, con Khatadin mostrando la mayor velocidad media (52.60 ± 20.57), seguido del Dorper (47.65 ± 14.59) y el Pelibuey (44.42 ± 20.91). Existió una diferencia significativa ($p = 0.007$) en el índice de rectitud promedio entre las tres razas, presentando el Dorper el índice de linealidad promedio más alto (62.31 ± 5.16), seguido de Pelibuey (59.72 ± 8.04) y Khatadin (58.90 ± 7.12). Los datos sugirieron que existió una diferencia leve ($p = 0.007$) en el índice de linealidad promedio entre las tres razas, donde el Dorper presentó el índice de linealidad promedio más alto (37.00 ± 5.96), seguido de Khatadin (35.04 ± 8.86) y Pelibuey (34.36 ± 7.16). Los datos también sugirieron una diferencia leve ($p = 0.033$) en la frecuencia promedio de batido de cola entre las tres razas, donde el Dorper presenta un valor más alto (11.65 ± 3.35), seguido de Pelibuey (10.15 ± 5.24) y Khatadin (10.04 ± 3.72).

Tabla 1.

Análisis de la Vitalidad del Semen Ovino

VARIABLES	PELIBUEY	DORPER	KHATADIN	Valor p
HOST	(40,42 \pm 15,16)	(46,91 \pm 18,51)	(49,64 \pm 19,94)	0,006**
EOSINA	(15,17 \pm 17,37)	(15,68 \pm 15,60)	(19,15 \pm 19,91)	0,329
YODURO	(14,78 \pm 17,56)	(30,41 \pm 19,65)	(18,29 \pm 19,31)	0,272
RODAMIDA	(18,60 \pm 8,58)	(30,41 \pm 18,51)	(37,48 \pm 22,89)	0,001**
PROGRESIVOS	(32,57 \pm 18,78)	(31,80 \pm 12,94)	(27,57 \pm 15,25)	0,116

<i>NO PROGRESIVOS</i>	(56,12+/-19,74)	(60,46+/-15,38)	(64,67+/-15,99)	0,013
<i>INMOVILES</i>	(10,84+/-16,78)	(7,74+/-13,64)	(8,46+/-13,91)	0,409
<i>VELOCIDAD CURVILINEA</i>	(80,23+/-40,05)	(84,08+/-26,82)	(93,36+/-36,28)	0,061
<i>VELOCIDAD MEDIA</i>	(44,42+/-20,91)	(47,65+/-14,59)	(52,60+/-20,57)	0,031*
<i>VELOCIDAD LINEAL</i>	(28,36+/-12,37)	(31,69+/-9,42)	(32,40+/-12,98)	0,081
<i>INDICE DE RECTITUD</i>	(59,72+/-8,04)	(62,31+/-5,16)	(58,90+/-7,12)	0,007**
<i>INDICE DE LINEALIDAD</i>	(34,36+/-7,16)	(37,00+/-5,96)	(35,04+/-8,86)	0,007**
<i>AMPLITUD DE LA CABEZA</i>	(2,75+/-4,83)	(2,25+/-0,63)	(2,48+/-0,81)	0,558
<i>FRECUENCIA DE BATIDA DE COLA</i>	(10,15+/-5,24)	(11,65+/-3,35)	(10,04+/-3,72)	0,033*

En la tabla 2. Se recolectó y analizó el semen de sementales de tres grupos diferentes para evaluar su calidad en espermática a diferentes intervalos de tiempo. Se pudo observar que la motilidad progresiva de las 24 horas (28.89+/-13.82) y 48 horas (26.94+/-12.81) disminuyó significativamente ($p = 0.099$) con respecto al control ($p < 0.05$). La motilidad no progresiva de los espermatozoides mostró un aumento gradual entre las 0 horas (55.57+/-18.52), 24 horas (61.60+/-16.63) y 48 horas (64.08+/-16.11); este aumento fue estadísticamente significativo ($p = 0.008$).

En la tabla 2. El índice de rectitud de los espermatozoides mostró una disminución leve pero significativa entre 0 (62.44+/-7.87), 24 horas (59.07+/-6.06) y 48 horas (59.42+/-6.55); este descenso fue estadísticamente significativo ($p = 0.004$). El índice de linealidad de los espermatozoides mostró una disminución significativa entre las 0 horas (38.20+/-8.89) y 24 horas (33.92+/-6.52), seguida de una leve disminución hasta las 48 horas (34.29+/-6.02). Este descenso fue estadísticamente significativo ($p = 0.001$). La frecuencia de batida de cola de los espermatozoides mostró una disminución leve entre la 0 hora (10.74+/-3.93) y 24 horas

(10.35 \pm 3.51), seguido de un leve aumento hasta las 48 horas (10.75 \pm 5.12). Este cambio no fue estadísticamente significativo ($p = 0.082$).

Tabla 2.

Evaluación de la vitalidad espermática a diferentes intervalos de tiempos

VARIABLES	0 horas	24 horas	48 horas	Valor p	Dosis x Hora
HOST	(46,33 \pm 18,12)	(45,22 \pm 18,47)	(45,41 \pm 18,59)	0,425	0,324
EOSINA	(15,09 \pm 18,10)	(18,27 \pm 18,88)	(16,65 \pm 16,18)	0,551	0,624
YODURO	(14,19 \pm 15,41)	(16,04 \pm 13,53)	(17,21 \pm 19,49)	0,523	0,398
RODAMIDA	(27,04 \pm 20,63)	(30,53 \pm 20,29)	(28,92 \pm 18,02)	0,553	0,786
PROGRESIVOS	(36,10 \pm 19,10)	(28,89 \pm 13,82)	(26,94 \pm 12,81)	0,009**	0,207
NO PROGRESIVOS	(55,57 \pm 18,52)	(61,60 \pm 16,63)	(64,08 \pm 16,11)	0,008**	0,061
INMOVILES	(8,32 \pm 15,28)	(8,63 \pm 13,92)	(10,09 \pm 15,41)	0,741	0,772
VELOCIDAD CURVILINEA	(82,21 \pm 31,11)	(89,86 \pm 41,17)	(85,59 \pm 32,23)	0,411	0,951
VELOCIDAD MEDIA	(47,05 \pm 17,77)	(49,34 \pm 22,02)	(48,28 \pm 17,44)	0,766	0,595
VELOCIDAD LINEAL	(31,26 \pm 12,00)	(30,26 \pm 11,97)	(30,93 \pm 11,47)	0,871	0,473
INDICE DE RECTITUD	(62,44 \pm 7,87)	(59,07 \pm 6,06)	(59,42 \pm 6,55)	0,004**	0,718
INDICE DE LINEALIDAD	(38,20 \pm 8,89)	(33,92 \pm 6,52)	(34,29 \pm 6,02)	0,001**	0,631
AMPLITUD DE LA CABEZA	(2,22 \pm 0,70)	(2,40 \pm 0,93)	(2,87 \pm 4,79)	0,353	0,387
FRECUENCIA DE BATIDA DE COLA	(10,74 \pm 3,93)	(10,35 \pm 3,51)	(10,75 \pm 5,12)	0,082*	0,612

En la tabla 3. Los resultados mostraron que el tratamiento afectó significativamente ($p = 0.001$). En el test de Host, las dosis con el valor promedio más alto

fueron 0.8 (53.30 \pm 16.73), seguido de 0.2 (49.70 \pm 18.02) y 0.6 (48.36 \pm 17.60) en comparación con los grupos de control (28.96 \pm 12.73), mientras que la dosis de 0.4 (47.96 \pm 16.05) mostró un valor promedio ligeramente más bajo. En el test de Yoduro de Propidio mostraron que el tratamiento tuvo un impacto significativo ($p = 0.008$); las dosis 0.2 (19.14 \pm 19.03) y 0.6 (19.37 \pm 21.00) mostraron valores promedio superiores al grupo control (8.62 \pm 6.62), mientras que las dosis 0.4 (17.30 \pm 18.63) y 0.8 (14.64 \pm 8.93) mostraron valores bajos. Los datos sugieren que en el test de Rodamina 123 hubo efecto significativo ($p = 0.001$); las dosis 0.6 (34.91 \pm 21.69) y 0.8 (34.40 \pm 21.85) presentaron valores promedio más altos, mientras que las dosis 0.2 (29.22 \pm 17.92) y 0.4 (29.62 \pm 15.98) presentaron valores ligeramente más altos que el grupo del control (16.00 \pm 14.19).

En la tabla 3. Los resultados sugerían que hay un efecto significativo ($p = 0.002$) en la velocidad curvilínea. Las dosis 0.2 (82.54 \pm 34.76), 0.4 (80.39 \pm 37.60), 0.6 (80.61 \pm 26.12) y 0.8 (81.21 \pm 31.59) presentaban valores promedio de velocidad curvilínea más bajos que el grupo control (104.70 \pm 38.97). Los datos indicaban que posee un efecto significativo ($p = 0.001$) en la velocidad media, teniendo así las dosis 0.2 (46.13 \pm 19.50), 0.4 (44.88 \pm 19.26), 0.6 (45 \pm 14.70) y 0.8 (45.20 \pm 17.02) un valor promedio de velocidad más bajas que el control (59.62 \pm 20.96). En los resultados se mostraban que hay un efecto significativo ($p = 0.001$) en la velocidad lineal. Además, las dosis 0.2 (30.07 \pm 12.91), 0.4 (29.01 \pm 11.28), 0.6 (29.06 \pm 9.59) y 0.8 (29.12 \pm 10.67) mostraban valores promedio de velocidad lineal inferiores a los del grupo del control (36.82 \pm 12.60).

Tabla 3.

Evaluaciones de la Vitalidad Espermática en Diferentes Dosis

VARIABLES	0,2	0,4	0,6	0,8	Testigo	Valor p
-----------	-----	-----	-----	-----	---------	---------

<i>HOST</i>	(49,70+/-18,02)	(47,96+/-16,05)	(48,36+/-17,60)	(53,30+/-16,73)	(28,96+/-12,73)	0,001**
<i>EOSINA</i>	(17,62+/-16,83)	(18,45+/-18,17)	(19,53+/-21,02)	(17,38+/-18,59)	(10,35+/-12,04)	0,108
<i>YODURO</i>	(19,14+/-19,03)	(17,30+/-18,63)	(19,37+/-21,00)	(14,64+/-8,93)	(8,62+/-6,62)	0,008**
<i>RODAMIDA</i>	(29,22+/-17,92)	(29,62+/-15,98)	(34,91+/-21,69)	(34,40+/-21,85)	(16,00+/-14,19)	0,001**
<i>PROGRESIVOS</i>	(33,29+/-18,17)	(30,33+/-13,35)	(29,77+/-15,73)	(29,31+/-14,17)	(30,53+/-18,00)	0,791
<i>NO PROGRESIVOS</i>	(56,08+/-18,03)	(58,44+/-14,18)	(61,79+/-18,12)	(63,01+/-14,79)	(62,76+/-21,37)	0,244
<i>INMOVILES</i>	(10,64+/-15,87)	(13,05+/-17,15)	(8,45+/-14,57)	(7,68+/-12,95)	(5,26+/-12,60)	0,125
<i>VELOCIDAD CURVILINEA</i>	(82,54+/-34,76)	(80,39+/-37,60)	(80,61+/-26,12)	(81,21+/-31,59)	(104,70+/-38,97)	0,002**
<i>VELOCIDAD MEDIA</i>	(46,13+/-19,50)	(44,88+/-19,26)	(45,27+/-14,70)	(45,20+/-17,02)	(59,62+/-20,96)	0,001**
<i>VELOCIDAD LINEAL</i>	(30,07+/-12,91)	(29,01+/-11,28)	(29,06+/-9,59)	(29,12+/-10,67)	(36,82+/-12,60)	0,001**
<i>INDICE DE RECTITUD</i>	(60,88+/-7,51)	(59,67+/-6,73)	(60,60+/-6,91)	(60,28+/-6,52)	(60,14+/-7,54)	0,942
<i>INDICE DE LINEALIDAD</i>	(35,26+/-7,26)	(35,37+/-7,16)	(35,74+/-8,16)	(34,79+/-6,24)	(36,17+/-8,59)	0,929
<i>AMPLITUD DE LA CABEZA</i>	(2,23+/-0,77)	(3,12+/-6,19)	(2,19+/-0,59)	(2,21+/-0,71)	(2,73+/-0,91)	0,433
<i>FRECUENCIA DE BATIDA DE COLA</i>	(10,34+/-3,67)	(10,70+/-6,24)	(10,60+/-3,72)	(10,40+/-3,33)	(11,02+/-3,67)	0,947

7. Discusión

La refrigeración y conservación de semen ovino son prácticas fundamentales en la biotecnología reproductiva y la industria ganadera; estas técnicas permiten conservar material genético de alta calidad, lo cual es crucial para los programas de mejoramiento genético y reproducción asistida (Vozaf et al., 2022). El proceso incluye la recolección del semen, su tratamiento con diluyentes específicos y su almacenamiento a temperaturas

óptimas (Paulenz et al., 2002). La refrigeración reduce la actividad metabólica de los espermatozoides, prolongando su viabilidad y capacidad para fecundar (Paul et al., 2019). Esto es vital para el éxito de los programas de inseminación artificial, ya que permite transportar y utilizar el semen en distintos momentos y lugares sin comprometer su calidad (Aktar et al., 2024). Asimismo, el almacenamiento de semen ovino facilita los programas de cruzamiento y mejora genética, permitiendo la selección y propagación de características deseables en la población ovina (Ben Moula et al., 2024). La capacidad de conservar y usar semen de alta calidad con el tiempo también favorece la diversificación genética y la sostenibilidad de las explotaciones ganaderas (Masoudi et al., 2024).

La coenzima Q10, conocida por sus propiedades antioxidantes y su papel esencial en la generación de energía celular, ha sido intensamente estudiada en los últimos años (Carneiro et al., 2018). Su capacidad antioxidante protege las células del daño oxidativo, y su intervención en la cadena de transporte de electrones es fundamental para la producción de ATP, la principal fuente de energía para las células (Wang et al., 2022). Gracias a estas características beneficiosas, la Coenzima Q10 se ha considerado un aditivo potencialmente eficaz para mejorar la viabilidad y motilidad de los espermatozoides durante el almacenamiento en frío (Tironi et al., 2024).

En cuanto a la concentración espermática, el ovino Katahdin mostró diferencias significativas ($p = 0.003$) con un valor de 4.62×10^6 (± 0.17), contradiciendo la investigación de (Cisneros et al., 2023). En este estudio, la concentración espermática fue adecuada para la especie ovina, con valores de $1.5.5 \times 10^5$ y 28.2×10^5 para los eyaculados en raza ovina Katahdin uno y dos, respectivamente.

No se ha registrado previamente la prueba de estrés hipoosmótico en semen refrigerado de la raza ovina Katahdin, por lo que podemos referenciar el estudio de (Santiani

et al., 2004). Como respuesta al estrés hipoosmótico, los espermatozoides ovinos mostraron cambios morfológicos similares a los observados en espermatozoides humanos a nivel de la cola. Casi todos los espermatozoides (97.9%) que respondieron a la prueba HOS mostraron alteraciones después de una hora de incubación en la solución hipoosmótica. Estos cambios observados a la primera hora de incubación fueron similares a los registrados al final del experimento, aunque significativamente mayores ($p < 0.05$) que los cambios morfológicos observados a los 30 minutos de incubación.

En los resultados, los espermatozoides tenían una mayor capacidad de movimiento progresivo a las 24 horas. De manera similar, la investigación de (Hernández Pichardo et al., 2021) afirma que, de manera similar, el grupo de control obtuvo en comparación con los grupos de porcentajes de motilidad progresiva de semen encapsulado de ovino almacenado en refrigeración (SE-RE) y a temperatura ambiente (SE-TA) durante las primeras 24 horas ($p < 0.05$).

No hay investigación en la utilización de dosis de Coenzima Q10 (0,2 mM; 0.4 mM; 0.6 mM ; 0.8 Mm) en semen ovino refrigerado, el cual nos permite citar (Masoudi et al., 2019), que evaluó diferentes concentraciones de Coenzima Q10 (0 uM; 1 uM; 2 uM; 5 uM; 10 uM) en semen ovino, sugiriendo que las concentraciones de 1 uM y 2 uM, pueden ser una dosis prometedora de antioxidante para la criopreservación de semen de carnero, mejorando significativamente la calidad de espermatozoides después de la congelación. Además, determinó que el uso de la yema de huevo no causa cambios significativos en el efecto de la coenzima Q10.

8. Conclusión

El uso de crioprotectores como la coenzima Q10 a concentraciones de 0.2 mM, 0.4 mM, 0.6 mM y 0.8 Mm en las especies ovinas Katahdin, Dorper y Pelibuey, resultó efectivo

en la reducción de formación de cristales durante la refrigeración, mostrando excelentes respuestas en la calidad espermática.

Se determinó que las concentraciones con 0.6 Mm y 0.8 Mm de Coenzima Q10 son óptimas para preservar la calidad de semen. Por otra parte, el estudio realizado indicó que los individuos de la raza Katahdin presentaron mejor calidad espermática, en el cual la calidad del semen mejoró con las repeticiones de las extracciones; por ende, la inclusión de la Coenzima Q10 en la refrigeración mejora las características cualitativas y cinéticas del semen ovino.

Durante la tabulación de datos, pudimos identificar que en el momento de las tomas de muestras, las primeras obtenidas no tienen las mismas características que las últimas. Esto es debido a factores como la falta de experiencia y manejo de animales; por lo que las últimas muestras obtenidas fueron de mejor calidad. Por ellos, para garantizar el análisis estadístico, deberíamos trabajar con las últimas muestras para obtener datos concluyentes y evitar errores estadísticos.

Se sugiere realizar estudios en los cuales se incrementa el número de repeticiones durante las extracciones para obtener datos más precisos y consistentes.

9. Bibliografía

Aguilar-Martínez, C. U., Berruecos-Villalobos, J. M., Espinoza-Gutiérrez, B., Segura-Correa, J. C., Valencia-Méndez, J., & Roldán-Roldán, A. (2017). Origen, Historia Y Situación Actual De La Oveja Pelibuey En México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 20(3), 429-439.

Aktar, A., Toker, M. B., Koca, D., Uzun, U. C., & Alcay, S. (2024). The effects of supplementation of vitamin D to the egg-yolk extender on cryopreservation of ram semen. *Veterinary Medicine and Science*, 10(4), e1526. <https://doi.org/10.1002/vms3.1526>

Arenas-Jal, M., Suñé-Negre, J. M., & García-Montoya, E. (2020). Coenzyme Q10 supplementation: Efficacy, safety, and formulation challenges. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(2), 574-594. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12539>

Arrebola-Molina, F. A., Sánchez-Gómez, A., Querino-Santiago, F. J., Pérez-Marín, C., Borjas-Muñoz, F., & Abecia, J. A. (2020). Semen characteristics of a ram population in southern Spain: An on-farm program of elimination of low-fertility males diagnosed by electroejaculation. *Small Ruminant Research*, 183, 106038.

<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.106038>

Ávila-Portillo, L. M., Madero, J. I., López, C., León, M. F., Acosta, L., Gómez, C., Delgado, L. G., Gómez, C., Lozano, J. M., & Reguero, M. T. (2006). Fundamentos de criopreservación. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 57(4), Article 4. <https://doi.org/10.18597/rcog.468>

Aydoğan, F., Aydın, E., Taştan, E., Akgedik, Ş., Tekeli, A., & Üstün, H. (2013). A coenzima Q10 produz efeito sobre a prevenção da miringoesclerose?: Estudo experimental

com ratos. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 79, 293-297.

<https://doi.org/10.5935/1808-8694.20130053>

Ben Moula, A., Hamidallah, N., Badi, A., El Fadili, M., & El Amiri, B. (2024).

Adjusting ram semen preservation: Exploring the impact of oxygen exposure during liquid storage. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 59(5), e14618.

<https://doi.org/10.1111/rda.14618>

Brito, F. I., Valencia, M. J., Balcázar, S. A., Angulo, M. R., & Mejía, V. O. (2004).

Congelación de semen de carnero en pellets con los diluyentes Tris-glucosa-yema de huevo o Lactosa-yema de huevo. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 8(2), 0.

Carneiro, J. A. M., Canisso, I. F., Bandeira, R. S., Scheeren, V. F. C., Freitas-

Dell'Aqua, C. P., Alvarenga, M. A., Papa, F. O., & Dell'Aqua, J. A. (2018). Effects of coenzyme Q10 on semen cryopreservation of stallions classified as having good or bad semen freezing ability. *Animal Reproduction Science*, 192, 107-118.

<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.02.020>

Chay-Canul, A., García-Herrera, R., Magaña-Monforte, J., Macías-Cruz, U., &

Luna-Palomera, C. (2019). *Productividad de ovejas Pelibuey y Katahdin en el trópico húmedo Productivity of Pelibuey and Katahdin ewes in the humid tropics*. 6, 159-165.

<https://doi.org/10.19136/era.a6n16.1872>

Cisneros, I. J., Hernández, S. R., Reyes, E. E. R., Valdez, M. Á. D., Izquierdo, A. C.,

Mancera, A. V., Vargas, J. G., Cardoso, F. Q., & Perez, J. O.-. (2023). Fertilidad de ovejas Katahdin inseminadas por laparoscopia con semen refrigerado o criopreservado en el trópico. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 31(Suplemento), Article

Suplemento. <https://doi.org/10.53588/alpa.310501>

Condoy, M. C., & Cevallos, J. A. (2017). Diluyentes utilizados en inseminación artificial porcina. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, *18*(9), 1-11.

David, I., Bodin, L., Lagriffoul, G., Manfredi, E., & Robert-Granié, C. (2007). Character process model for semen volume in AI rams: Evaluation of correlation structures for long and short-term environmental effects. *Genetics Selection Evolution*, *39*(1), 55-71. <https://doi.org/10.1051/gse:2006033>

David, I., Kohnke, P., Lagriffoul, G., Praud, O., Plouarboué, F., Degond, P., & Druart, X. (2015). Mass sperm motility is associated with fertility in sheep. *Animal Reproduction Science*, *161*, 75-81. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.08.006>

Estévez, P. N., Tripodi, V., Buontempo, F., & Lucangioli, S. (2012). Coenzyme Q10 stability in pediatric liquid oral dosage formulations. *Farmacia Hospitalaria*, *36*(6), 492-497.

Fleming, J. S., Yu, F., McDonald, R. M., Meyers, S. A., Montgomery, G. W., Smith, J. F., & Nicholson, H. D. (2004). Effects of scrotal heating on sperm surface protein PH-20 expression in sheep. *Molecular Reproduction and Development*, *68*(1), 103-114. <https://doi.org/10.1002/mrd.20049>

Gacem, S., Catalán, J., Yáñez-Ortiz, I., Soler, C., & Miró, J. (2021). New Sperm Morphology Analysis in Equids: Trumorph® Vs Eosin-Nigrosin Stain. *Veterinary Sciences*, *8*(5), 79. <https://doi.org/10.3390/vetsci8050079>

García-Chávez, C. A., Luna-Palomera, C., Macías-Cruz, U., Segura-Correa, J. C., Ojeda-Robertos, N. F., Peralta-Torres, J. A., Chay-Canúl, A. J., García-Chávez, C. A., Luna-Palomera, C., Macías-Cruz, U., Segura-Correa, J. C., Ojeda-Robertos, N. F., Peralta-Torres, J. A., & Chay-Canúl, A. J. (2020). Crecimiento de corderos y productividad en

ovejas Pelibuey mantenidas bajo condiciones tropicales de producción. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 11(3), 884-893. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i3.5157>

Hernández Jiménez, J. (2017). Comparación de ganancia de peso, longitud y altura a la cruz: En raza ovina dorper y white dorper bajo condiciones de trópico colombiano, Valle del Cauca. *Zootecnia*. <https://ciencia.lasalle.edu.co/zootecnia/194>

Hernández Pichardo, J. E., Miranda Martínez, A., Rodríguez Suastegui, J. L., Hernández Pichardo, J. E., Miranda Martínez, A., & Rodríguez Suastegui, J. L. (2021). Calidad espermática de semen encapsulado de ovino, almacenado por tres días en dos temperaturas diferentes. *Revista de Salud Animal*, 43(2).

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0253-570X2021000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es

INEC. (2022). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua-2022* | <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/encuesta-de-superficie-y-produccion-agropecuaria-continua-2022/>

Jesús, E. R. de, Martínez, E. S. M., Mendoza, J. G., & Islas, R. P. (2010). Obtención de Nanocristales de Coenzima Q10 por el método de desplazamiento de solvente, encapsulados en polímeros de ácido poli-láctico y glicol polietileno. *Superficies y vacío*, 23(3), 15-19.

Jorge, I. (2022). Principais Considerações e Achados Clínicos da Aplicação do Plasma e Coenzima Q10 para a Blefaroplastia: Uma Revisão Sistemática. *BWS Journal (Descontinuada)*, 5, 1-12.

Masoudi, R., Dadashpour-Davachi, N., Asadzadeh, N., Hatefi, A., & Alipour-Jenaghard, P. (2024). MitoQ preserves the quality and fertility of liquid-preserved ram sperm. *Theriogenology*, 216, 8-11. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.12.023>

Masoudi, R., Sharafi, M., & Shahneh, A. Z. (2019). Effects of CoQ10 on the quality of ram sperm during cryopreservation in plant and animal based extenders. *Animal*

Reproduction Science, 208, 106103. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.06.015>

Miguel-Jimenez, S., Rivera Del Alamo, M. M., Álvarez-Rodríguez, M., Hidalgo, C. O., Peña, A. I., Muiño, R., Rodríguez-Gil, J. E., & Mogas, T. (2020). In vitro assessment of egg yolk-, soya bean lecithin- and liposome-based extenders for cryopreservation of dairy bull semen. *Animal Reproduction Science*, 215, 106315.

<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106315>

Moscardini, M., Scott, C., Moura, D., Lourenço, T., Vallejo Aristizábal, V., & Souza, F. (2014). Viabilidad de espermatozoides ovinos mantenidos a 5° y 15°C en diferentes sistemas de refrigeración. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 21, 122-126.

<https://doi.org/10.4322/rbcv.2014.035>

Mullen, L., Potter, C., Gostin, L. O., Cicero, A., & Nuzzo, J. B. (2020). An analysis of International Health Regulations Emergency Committees and Public Health Emergency of International Concern Designations. *BMJ Global Health*, 5(6), e002502.

<https://doi.org/10.1136/bmjgh-2020-002502>

Páez-Barón, E. M., & Corredor-Camargo, E. S. (2014). Evaluación de la aptitud reproductiva del toro. *Ciencia y Agricultura*, 11(2), 49-59.

Paul, R. K., Balaganur, K., Kumar, D., & Singh, R. (2019). Mimicking the cauda epididymal plasma-like osmolality in extender improves liquid preservation of ram semen at 3–5°C. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 65(6), 474-482.

<https://doi.org/10.1080/19396368.2019.1642416>

Paulenz, H., Söderquist, L., Pérez-Pé, R., & Berg, K. A. (2002). Effect of different extenders and storage temperatures on sperm viability of liquid ram semen.

Theriogenology, 57(2), 823-836. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(01\)00683-5](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(01)00683-5)

Quishpi Coronel, J. H. (2021). *Situación actual de la producción ovina en el Ecuador*. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/16261>

Rekha, A., Zohara, B. F., Bari, F., & Alam, M. G. S. (2016). Comparación del diluyente comercial Triladyl con un diluyente de tris-fructosa-yema de huevo sobre la calidad del semen congelado y la tasa de preñez después de la IA transcervical en ovejas indígenas de Bangladesh (*Ovis aries*). *Small Ruminant Research*, 134, 39-43.

<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.12.007>

Saha, A., Asaduzzaman, M., & Bari, F. Y. (2022). Cryopreservation Techniques for Ram Sperm. *Veterinary Medicine International*, 2022(1), 7378379.

<https://doi.org/10.1155/2022/7378379>

Sánchez R, A., & Zamora D, P. (2016). Efecto del medio hipoosmótico sobre la vitalidad espermática en semen canino. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 27(2), 288-293. <https://doi.org/10.15381/rivep.v27i2.11649>

Santiani, A., Sandoval, R., Ruiz, L., & Coronado, L. (2004). *Estudio de la integridad de membrana en espermatozoides de ovino mediante la prueba de estrés hipoosmótico*.

Silva Bastidas, A. O. (2017). *Comportamiento productivo de ovinos alimentados con dietas a base de fruta de pan (Artocarpus altilis)* [bachelorThesis].

<https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/25097>

Stegmayer, K., Horn, H., Federspiel, A., Razavi, N., Bracht, T., Laimböck, K., Strik, W., Dierks, T., Wiest, R., Müller, T. J., & Walther, S. (2013). Ventral striatum gray matter

density reduction in patients with schizophrenia and psychotic emotional dysregulation.

NeuroImage : Clinical, 4, 232-239. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2013.12.007>

Thiangthientham, P., Suwimonteerabutr, J., Tharasanit, T., & Techakumphu, M. (2020). The optimal divalent cations and storage temperatures for the encapsulation of ram spermatozoa. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 50(1), 89-96.

Tironi, S. M. T. (2021). *Adição de coenzima Q10 e melatonina em diluente para congelação de sêmen ovino*. <http://hdl.handle.net/11449/217016>

Tironi, S. M. T., Sitó-Silva, L., de Camillo, B. L., Denadai, R., Silva, A. L. A. da, de Paula Freitas-Dell'Aqua, C., Junior, J. A. D., de Oliveira, R. A., Souza, M. I. L., & Oba, E. (2024). Use of coenzyme Q-10 to improve the pregnancy rate in sheep. *Animal Reproduction Science*, 266, 107498. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2024.107498>

Torres-Ruda, F., Manjarrez, C. I., Carvajal-Serna, M., Grajales-Lombana, H. A., Torres-Ruda, F., Manjarrez, C. I., Carvajal-Serna, M., & Grajales-Lombana, H. A. (2019). Efecto de la adición de antioxidantes en los diluyentes para la preservación de semen ovino. *Revista de Medicina Veterinaria*, 38, 101-109. <https://doi.org/10.19052/mv.vol1.iss38.9>

Vásquez, J. H., Núñez, V. H., Florentini, E. A., Gonzales, J. M., Camargo, L. A., & Valdivia, M. E. (2013). Effects of five cryoprotective agents on quality of sheep epididymal spermatozoa during pre-freezing. *Livestock Science*, 152(1), 94-99. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.12.011>

Vozaf, J., Svoradová, A., Baláži, A., Vašíček, J., Olexiková, L., Dujíčková, L., Makarevich, A. V., Jurčík, R., Ďúranová, H., & Chrenek, P. (2022). The Cryopreserved Sperm Traits of Various Ram Breeds: Towards Biodiversity Conservation. *Animals : an Open Access Journal from MDPI*, 12(10), 1311. <https://doi.org/10.3390/ani12101311>

Wang, Y., Kang, Y., Zhang, L., Niu, H., Sun, X., & Li, Y. (2022). Coenzyme Q10 improves the quality of sheep sperm stored at room temperature by mitigating oxidative stress. *Animal Science Journal = Nihon Chikusan Gakkaiho*, *93*(1), e13708. <https://doi.org/10.1111/asj.13708>

Zenteno, E. S., Rojano, B., & Betancur, G. R. (2022). Influence of thawing temperature on sperm motility, structure, and metabolism of frozen bovine semen. *Ciência Rural*, *53*, e20210731. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210731>

Cuenca, 03 de octubre del 2024

Asunto: Embargo Temporal del Trabajo de Titulación

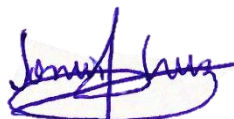
Señor,
Ing. María Verónica Vivar Serrano
Decano de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias,
Cuenca.

De mi consideración:

Señor Decano, Yo Sonia Viviana Cruz Paredes como autor del Trabajo de Titulación **“Efecto de la concentración de la coenzima Q10 en la refrigeración de semen ovino”** y Dr. Andrés Leonardo Moscoso Piedras Msc. como director de la misma, solicitamos a usted y por su digno intermedio a Biblioteca y al responsable del repositorio institucional, el EMBARGO TEMPORAL del mismo, por un lapso de 18 meses, con la finalidad de evaluar su contenido con fines de artículo científico para publicación en revista. Entiendo que luego de vencido este período automáticamente la obra será puesta a disposición del público bajo las normas de gestión de la Universidad.

Por la atención que sepa dar al presente, nos suscribimos de usted muy agradecidos.

Atentamente,



CI: 1207504711
Sonia Viviana Cruz Paredes
Autora.