



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

**EVALUACIÓN DEL EFECTO COMBINADO DE
MENAQUINONA 4 Y COENZIMA Q10 SOBRE LA
CRIOCONSERVACIÓN DE SEMEN OVINO**

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

AUTORA: DAYANA PATRICIA CASTRO SANCHEZ

DIRECTOR: DR. ANDRES MOSCOSO PIEDRA, MGS.

CUENCA-ECUADOR

2026

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

**EVALUACIÓN DEL EFECTO COMBINADO DE
MENAQUINONA 4 Y COENZIMA Q10 SOBRE LA
CRIOCONSERVACIÓN DE SEMEN OVINO**

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

AUTORA: DAYANA PATRICIA CASTRO SANCHEZ

DIRECTOR: DR. ANDRES MOSCOSO PIEDRA, MGS.

CUENCA-ECUADOR

2026

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

Declaratoria de Autoría y Responsabilidad

Dayana Patricia Castro Sánchez portadora de la cédula de ciudadanía N° **0152060612**. Declaro ser el autora y portadora de la obra: **“Evaluación del Efecto Combinado de Menaquinona 4 y Coenzima Q10 sobre la Crioconservación 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, **23 de marzo de 2026**



F:

Dayana Patricia Castro Sánchez

C.I. 0152060612.

CERTIFICACIÓN

Yo Dr. Andrés Leonardo Moscoso Piedra. Mgs, con cédula de identidad N° 0104156443 en calidad de director del trabajo de titulación con el tema **“Evaluación del Efecto Combinado de Menaquinona 4 y Coenzima Q10 sobre la Crioconservación de Semen Ovino”** certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Dayana Patricia Castro Sánchez bajo mi supervisión.

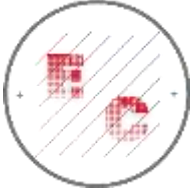
Atentamente,

ANDRES
LEONARDO
MOSCOSO
PIEDRA

Firmado
digitalmente por
ANDRES LEONARDO
MOSCOSO PIEDRA
Fecha: 2026.03.19
16:49:01 -05'00'

Dr. Andrés Moscoso Piedra, Mgs.

Director de Tesis



Revista Multidisciplinar Epistemología de las Ciencias

Volumen 3, Número 1, 2026, enero-marzo

DOI: <https://doi.org/10.71112/c9qe0m86>

**EVALUACIÓN DEL EFECTO COMBINADO DE MENAQUINONA 4 Y COENZIMA Q10
SOBRE LA CRIOCONSERVACIÓN DE SEMEN OVINO**

**COMBINED EFFECT OF MENAQUINONE 4 AND COENZYME Q10 EVALUATION
FOR THE CRYOPRESERVATION OF OVINE SEMEN**

Dayana Patricia Castro Sanchez

Manuel Esteban Maldonado Cornejo

Andrés Leonardo Moscoso Piedra

Ecuador

Evaluación del efecto combinado de menaquinona 4 y coenzima Q10 sobre la crioconservación de semen ovino

Combined effect of menaquinone 4 and coenzyme Q10 evaluation for the cryopreservation of ovine semen

Dayana Patricia Castro Sanchez

dayana.castro.12@est.ucacue.edu.ec

<https://orcid.org/0009-0002-1430-2360>

Universidad Católica de Cuenca

Ecuador

Manuel Esteban Maldonado Cornejo

mmaldonac@ucacue.edu.ec

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

Universidad Católica de Cuenca

Ecuador

Andrés Leonardo Moscoso Piedra

amoscosop@ucacue.edu.ec

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

Universidad Católica de Cuenca

Ecuador

RESUMEN

Esta investigación experimental analizó el impacto del uso combinado de dos antioxidantes: menaquinona 4 y coenzima Q10 sobre la calidad del semen ovino sometido a una crioconservación comparándolos con el efecto combinado de cada molécula junto a L-carnitina y su uso individual. Este modelo permitió evaluar los posibles efectos Redox de las combinaciones y su saturación en el medio producto de su alto peso molecular, para ello se evaluó los efectos de estas 6 combinaciones sobre 8 eyaculados donde se analizó la motilidad

espermática, integridad de la membrana y la viabilidad celular mediante pruebas de Eosina-nigrosina, Yoduro de propidio, rodamina y motilidad, mediante el sistema CASA. Los resultados

determinaron un efecto negativo de la combinación de moléculas sobre la calidad espermática, atribuible a la saturación y carga iónica del medio generando daños sobre la membrana espermática, concluyendo que es recomendable el uso limitado de antioxidantes en los medios espermáticos.

Palabras clave: L-carnitina; peso molecular; membrana espermática; efecto combinado

ABSTRACT

This experimental study analyzed the impact of the combined use of two antioxidants, menaquinone-4 and coenzyme Q10, on the quality of ovine semen subjected to cryopreservation, comparing them with the combined effect of each molecule together with L-carnitine and their individual use. This model allowed the evaluation of possible redox effects of the combinations and their saturation in the medium due to their high molecular weight. The effects of these six combinations were assessed in eight ejaculates, analyzing sperm motility, membrane integrity, and cell viability through eosin-nigrosin staining, propidium iodide, rhodamine, and motility evaluation using the CASA system. The results demonstrated a negative effect of the molecular combinations on sperm quality, attributable to medium saturation and increased ionic load, which generated damage to the sperm membrane. It was concluded that limited use of antioxidants in semen extenders is recommended.

Keywords: L-carnitine; molecular weight; combined effect; sperm membrane

Recibido: 1 marzo 2026 | Aceptado: 18 marzo 2026 | Publicado: 19 marzo 2026

INTRODUCCIÓN

La crioconservación de semen ovino es una herramienta clave en los programas de reproducción asistida, ya que permite conservar el material genético de alto valor por largos períodos (Guiracocha-Viñanzaca et al 2025). Sin embargo, este proceso implica riesgos para la calidad del semen debido al estrés oxidativo y otros daños celulares (Adami, et al., 2022). Para contrarrestar estos efectos, se ha explorado el uso de antioxidantes como la menaquinona 4 (vitamina K2) y la coenzima Q10, conocidos por su capacidad para proteger las células del daño (Uribe Valderrama, et al., 2011). Aunque ambos compuestos han mostrado beneficios individuales, su efecto combinado aún no ha sido lo suficientemente estudiado (Reyes-González, et al., 2022).

Este trabajo tiene como propósito evaluar si la combinación de estos dos antioxidantes de mayor peso molecular afecta la calidad del semen ovino después de la congelación, preservando su viabilidad, motilidad y funcionalidad en base de lo descrito por Arando et al., (2019) y así comparar este efecto frente a otras combinaciones y efectos individuales de cada molécula.

METODOLOGÍA

El estudio fue realizado en la Universidad Católica de Cuenca, laboratorio de reproducción animal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Carrera de Medicina Veterinaria que está situada en la provincia del Azuay, en el Cantón Cuenca, localizada en el kilómetro 2 1/2 de la Panamericana Norte. Ejecutado completamente al azar, mismo que involucró a 1 carnero de raza Kathadin de año y medio de edad para realizar la colecta de semen tres veces por semana, llegando a un total de 8 repeticiones, aplicando a cada eyaculado el antioxidante COQ10 y de MK-4, juntas y por separado cada una, durante los meses de enero a marzo del 2025, constó de dos fases una de campo y una de laboratorio.

La obtención del semen fue mediante el uso de una vagina artificial, la cual se precalentará con agua a una temperatura entre 51 y 52 °C para garantizar que al momento de la recolección se mantenga a aproximadamente 42 °C así mismo se utilizó una hembra (como maniquí) para inducir la eyaculación; el operador se ubicó en el flanco derecho del macho, orientando la vagina artificial a 45° respecto al suelo. Tras la eyaculación, las muestras fueron protegidas de la luz solar directa y mantenidas a temperatura corporal (37 °C) hasta su ingreso al laboratorio (Lema Guamán, et al., 2025).

En el laboratorio se evaluaron las características macroscópicas del semen (color, olor, volumen y pH), y posteriormente, se analizaron las propiedades microscópicas. Se evaluó la Motilidad masal (MM) y motilidad individual (MI) mediante microscopía a 10x y 40x, respectivamente. Su concentración espermática se realizó usando un fotómetro de flujo (SDM1 Minitube) específico para ovinos. Y posterior a ello procedimos a una Evaluación funcional y estructural respetivamente mediante pruebas de eosina-nigrosina (Minitube), yoduro de propidio (Sigma Aldrich), prueba de integridad funcional de la membrana (HOST), rodamina (Sigma Aldrich) y sistema CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis) para parámetros cinéticos (Watson PF, 2000). Utilizando la siguiente fórmula:

Fórmula de dilución

Total, Espermatozoides vivos= Volm. Eyaculado x Concentración x Motilidad Masal x Motilidad Individual

Total, Pajuela= T. Espermatozoides vivos / Concentración deseada

Volm. Final= Total Pajuela / 2-4 (ml de la pajilla)

Volm. Dilución= Volm. Final - Volumen del semen - Volumen de la Predilución

Triladyl = 3:1:1 (3 de agua ultra pura, 1 de yema de huevo, 1 de Triladyl)

Las muestras fueron analizadas mediante el sistema CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis) observando diversos parámetros espermáticos entre estos, los espermatozoides

progresivos (PR), no progresivos (NP), inmóviles (IM), velocidad curvilínea (VCL), velocidad media (VAP), velocidad lineal (VSL), índice de rectitud (STR), índice de linealidad (LIN), amplitud lateral de la cabeza (BCF) y frecuencia de batida (BCF) (Lema Guamán et al, 2025).

Se colocó en un portaobjeto 3 μ L de Eosina-Nigrosina junto con 3 μ L de la muestra espermática, luego con ayuda de otro portaobjeto se mezcló suavemente y se realizó un barrido hacia el otro extremo de la placa dejando reposar aproximadamente 2 min (Farfán et al, 2025). Para la observación de la muestra en el microscopio con el lente de 40x, observando distintos campos de la muestra hasta llegar a contar 100 espermatozoides tanto vivos como muertos, de esta manera se determinará el porcentaje de vitalidad (Iliceto, et al., 2024).

Con ayuda de un tubo Eppendorf de 1,5 ml se colocó 3 μ L de Yoduro de Propidio junto a 5 μ L de la muestra seminal dejándola reposar durante 15 minutos en la platina térmica a 37 °C, para luego llevar la muestra fuera del alcance de la luz, realizar el respectivo frotis y evaluación, esta muestra se observó con ayuda de un microscopio de fluorescencia, con lente de 40x y con el filtro número 1, de esta manera recolectando datos de 100 espermatozoides de diferentes campos entre teñidos que representan un color rojo fosforescente (muertos) y no pintados (vivos) con el ADN intacto vitalidad (Reza, et al., 2021).

En la Prueba de Host (Integridad funcional de la membrana), se tomó 100 μ L de la solución de Host acompañada de 20 μ L de la muestra en un tubo Eppendorf para homogeneizar y dejar reposar en la platina térmica baño María a 37 °C, durante 45 minutos. Al pasar el mencionado tiempo se procedió a evaluar la muestra colocando 5 μ L sobre un portaobjetos y realizar el frotis para valorar la muestra en el microscopio (Olympus BX51) con el lente de 40x llegando analizar 100 espermatozoides en total, los cuales mostraran ser positivos (enrollando la cola e hinchando la cabeza) y negativos (sin reacción) a la solución de Host es decir a la funcionalidad de la membrana plasmática vitalidad (Sadler, et al., 2024).

Por otro lado, en la prueba de rodamina donde se observa la integridad y potencial de la membrana mitocondrial, tinción donde se analizó en los espermatozoides teñidos de color verde fosforescente indicaran una buena funcionalidad vitalidad (Guamarriga-Sanchez, et al., 2025). Para ello se utilizó 1 μL de Rodamina en 50 μL de la muestra, en un reposo de 37 °C por un periodo de 15 minutos, se colocó una gota de 5 μL en el portaobjeto y realizar el frotis para evaluar en un microscopio de fluorescencia (Olympus Bx51) con filtro 3. Finalmente se siguió el mismo procedimiento para la base de conteo vitalidad (Luana, et al., 2022).

RESULTADOS

Luego de un análisis donde realizamos la comparación entre tratamientos en el cual se destacó diferencias estadísticas y significativas en los parámetros espermáticos (*Tabla 1*) (Aitken, & Drevet., 2020). Iniciando con el parámetro de la prueba Test Host, donde se observó diferencias asombrosas entre tratamientos ($p = 0.005$). Para el tratamiento de Q10+MK4 reflejo el valor promedio más alto (21.1 ± 9.89), siendo superior a MK4+ L-Carnitina (15.9 ± 3.92) y por último lugar a MK-4 + L-carnitina con (13.3 ± 5.58), Reflejando el efecto positivo con el tratamiento combinado de Q10+MK4 sobre su integridad funcional de su membrana espermática (Kowalczyk, 2022).

Es importante destacar que no se detectaron alguna diferencia significativa con Eosina Nigrosina ($p = 0.967$), por lo cual los tratamientos no influyeron en la viabilidad celular que determina esta prueba.

En la actividad mitocondrial con Rodamida, no obtuvimos una diferencia significativa ($p = 0.170$), sin embargo, se registró una tendencia con valores superiores en la combinación de los tratamientos con respecto a el control integridad y potencial de la membrana mitocondrial (Puerta, et al., 2024).

En la variable Motilidad progresiva, existe diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.048$). Con el tratamiento de L-Carnitina+Q10 revelo que es el mayor valor promedio (30.7 ± 22.3), continuando con MK4 + L-carnitina (17.0 ± 10.9), y donde Q10+MK4 fue inferior a los dos valores mencionados con (15.7 ± 5.58). Los resultados destacan que la combinación de LC+Q10 fue el más apto aportando de manera positiva con la motilidad progresiva del espermatozoide (Vicente-Fiel, et al., 2014).

En el patrón de Movimiento Lineal (LIN), hay diferencias con ($p = 0.023$). Tratamiento que alcanzo el valor promedio superior fue L-Carnitina (37.2 ± 8.07), el valor intermedio fue MK-4 + L-carnitina (32.4 ± 11.5), y el tratamiento inferior fue Q10 + MK-4 (28.8 ± 5.96) siendo el valor más bajo de los tres, lo que significaría que L-Carnitina+ Q10 tiene superiores beneficios con la mejora del desplazamiento espermático (Loja E, et al., 2025).

Estos resultados indican que los tratamientos combinados dieron efectos positivos, L-Carnitina+Q10 fue predominante sobre la motilidad espermática, especialmente en los parámetros progresividad y cinemática, en cambio el tratamiento con Q10+MK4 tiene un efecto más marcado en la integridad de la membrana espermática (Lema Guamán, et al., 2025).

Así mismo estos resultados indican que la combinación L-carnitina+Q10 contribuye positivamente en la motilidad espermática, en parámetros de progresividad y cinemática, en cambio Q10+MK-4 actúa puntualmente en la integridad de la membrana. Como resultado sobre los efectos de diferentes tratamientos que dependen de una combinación específica como antioxidantes y cofactores metabólicos utilizados (Bansal, et al., 2011).

Tabla 1*Tratamientos con Antioxidantes*

TRATAMIENTO	HOST	EOSINA	RODAMIDA	PROGRESIVO	LIN
Valor p	0.005	0.967	0.170	0.048	0.023
Q10 + MK-4	21.1 ±	57.1 ±	43.6 ± 18.3	15.7 ± 5.58	28.8 ±
	9.89	28.7			5.96
MK-4 + L-Carnitina	13.3 ±	53.2 ±	38.3 ± 4.19	17.0 ± 10.9	32.4 ±
	5.58	22.5			11.5
LC + Q10	15.9 ±	52.7 ±	43.4 ± 11.7	30.7 ± 22.3	37.2 ±
	3.92	19.1			8.07

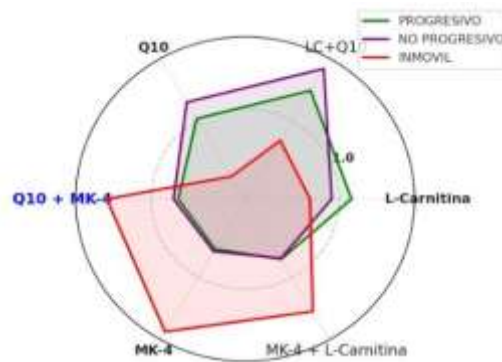
Figura 1*Gráfico radial de los tratamientos en función de valores de Progresividad.*

Figura 2

Gráfico radial de los tratamientos en función de valores en la cinética (LIN, BCF, VAP).

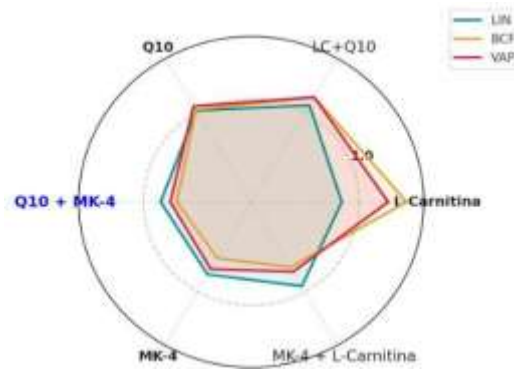
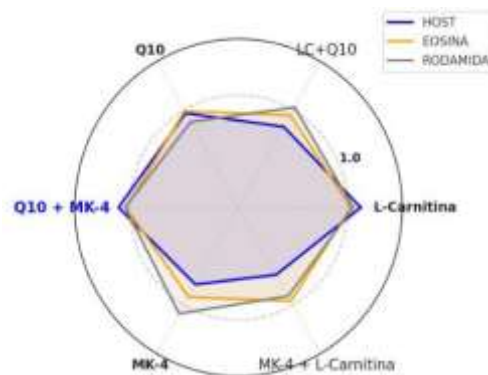


Figura 3

Gráfico radial de los tratamientos en función de valores de tinciones (HOST, EOSINA, RODAMIDA).



DISCUSIÓN

Se conoce que la utilización de tratamientos combinados como antioxidantes con efectos protectores frente al estrés oxidativo inducido por la crioconservación, han mostrado cambios positivos en la integridad funcional de la membrana espermática, observándose en la prueba de Host. Por ejemplo, el uso de L-Carnitina y Coenzima Q10 influye sobre la motilidad progresiva del material genético y sus parámetros cinéticos (Mehdipour, et al., 2025), donde se ha observado que la combinación de tratamientos ayuda con la actividad mitocondrial y su viabilidad celular, por lo que sí existe potencial sinérgico en los protocolos de crioconservación

seminal ovina (Filipa, et al., 2023), sin embargo, no todas las combinaciones tienen respuesta significativa (Larbi A, et al., 2018).

Los resultados expuestos en esta investigación se han enfocado en lograr una discusión más amplia sobre la suplementación de antioxidantes de manera combinada, donde se demuestran que la suplementación con antioxidantes en semen debe ser controlado y si bien se ha observado efectos positivos de la Coenzima Q10 y la Menaquinona por su naturaleza y efecto protector en la calidad del espermatozoide luego, de la crioconservación (Juliani & Henry, 2008), estos resultados son dependientes de la dosis y la especie donante del semen.

La combinación entre Q10 Y MK4 puede generar una necesidad biológica por parte de la célula espermática, donde coenzima tienen acción directa sobre el nivel mitocondrial, minimizando la producción de (ERO) y así trayendo la estabilidad en la cadena respiratoria, por otro lado, MK4 solo en membrana plasmática ejerce efecto protector para los fosfolípidos estructurales, minimizando la peroxidación lipídica (Chavoshi Nezhad, 2021), pero aún no se ha demostrado que las combinaciones funcionan en aspectos directos o específicos en la integridad de membrana, cinética y viabilidad espermática (Lema, et al., 2025), por lo que este es el factor más relevante de este estudio, que genera bases, para los estudios combinados de antioxidantes (Aguirre-Riofrio, et al., 2023).

Existe a su vez un factor que es necesario considerar en este tipo de investigaciones donde los resultados en cuanto la motilidad total y progresiva de las muestras, incluyendo su integridad en la membrana plasmática, actividad mitocondrial y su viabilidad celular (Cofre, et al., 2018). Estas investigaciones indican la importancia del ambiente donde el animal se cría, así como las razas sobre la calidad espermática.

La evidencia científica indica que el estrés oxidativo es el mecanismo principal y responsable de cualquier daño estructural y funcional de los espermatozoides en los cambios de temperatura de la refrigeración y congelación de la muestra seminal (Loja, 2025). Donde la

misma autora demuestra en su estudio que la crioconservación produce alteraciones que tienen que ver con la fluidez de la membrana plasmática, donde ocurre la pérdida del potencial en su mitocondria y eleva la producción de especies reactivas de oxígeno, es decir, ocurre una disminución pronunciante de la motilidad y viabilidad del material genético, cuando las dosis de aditivos no son controladas y por más de estar expuestas a moléculas consideradas como antioxidantes.

Los valores expresados en la investigación demuestran que con ausencia de agentes antioxidantes representan los valores más bajos dentro de los parámetros funcionales evaluados, expresando que el estrés oxidativo ocurre post-congelación (Wang, et al., 2008), sin embargo, al sobre cargar la solución de antioxidantes se genera un efecto también contraproducente.

Esto se ha evidenciado en estudios anteriores donde se ha observado el efecto de microdosis de coenzima Q10 en la refrigeración seminal, con bajas concentraciones reportan casos positivos en lo que respecta la motilidad progresiva, integridad de la membrana plasmática y la funcionalidad mitocondrial (Rodríguez, 2024), proporcionando efectos estables es una cadena respiratoria mitocondrial normalmente en función, lo cual lleva a producir intracelularmente (ERO), sin embargo la respuesta de esta molécula se ve limitada durante la crio conservación (Guamarriga-Sanchez, et al.,2024), basados en que la coenzima Q10 tiene respuestas positivas cuando se trabaja directamente bajo los parámetros bioenergéticas espermáticos (Abecia, et al., 2020). La utilización de microdosis de antioxidantes en semen ovino demuestra ya sus efectos positivos trabajando de manera individual, pero cuando los tratamientos son combinados estos no funcionaron en igual medida (Lema, et al., 2024).

Por otro lado, tenemos a la menaquinona-4 que fue evaluada bajo un efecto combinado de la menaquinona-4, y donde algunas combinaciones de estos antioxidantes resultaron más favorables que otras, bajo el efecto protector en la membrana plasmática, la cual no permite la

peroxidación lipídica (Gautier y Aurich, 2022). Una vez más se repite lo anteriormente citado, donde los efectos combinados no son lo suficientemente significativos.

Es por esto que la hipótesis del sinergismo de antioxidantes, no solo se debe fundamentar en la suma de los efectos antioxidantes, sino en factores bioquímicos más profundos.

Por último, para poder evaluar plenamente los efectos sinérgicos es necesario evaluar también la metodología, donde los diluyentes bufferados como el glicerol o el DMA son reguladores osmóticos, que pueden alterar la funcionalidad de la membrana (Guiracocha-Viñanzaca, et al., 2025).

En efecto, a este punto de la investigación, la hipótesis del sinergismo de las combinaciones de antioxidantes bajo un esquema combinado y en concentraciones controladas (Valdez-Pinargote, et al, 2024), todavía requiere mayor profundidad ya que estos antioxidantes pueden ser agentes promisorios para la mejora de ciertos protocolos reproductivos que sean avanzados y actualizados para lograr la conservación genética del material espermático y ayudando a futuras ideas de bancos de germoplasma animal, un avance en la reproducción animal (Nogueira, et al., 2022).

CONCLUSIONES

Los estudios sobre sinergismo molecular deben enfocarse en la bioquímica y función celular de cada molécula para poder determinar las dosis adecuadas, dado que sus efectos no son aditivos sino complementarios.

El comparar moléculas de alto peso molecular sobre combinaciones de menor peso, permitió entender de un posible efecto de saturación del medio, además del efecto redox.

El potencial de la coenzima Q10 y la menaquinona es significativos, siempre que se considere dosis, diluyentes, donantes y ambiente.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés relacionado con esta investigación.

Declaración de contribución a la autoría

Dayana Castro: investigación, redacción del borrador original, revisión y edición de la redacción.

Manuel Maldonado: investigación, metodología.

Andrés Moscoso: conceptualización, administración del proyecto, recursos.

Declaración de uso de inteligencia artificial

Los autores declaran que utilizaron la inteligencia artificial como apoyo para este artículo, y también que esta herramienta no sustituye de ninguna manera la tarea o proceso intelectual. Después de rigurosas revisiones con diferentes herramientas en la que se comprobó que no existe plagio como constan en las evidencias, los autores manifiestan y reconocen que este trabajo fue producto de un trabajo intelectual propio, que no ha sido escrito ni publicado en ninguna plataforma electrónica o de IA.

REFERENCIAS

- Abecia, J. A., Carvajal-Serna, M., Casao, A., Palacios, C., Pulinas, L., Keller, M., Chemineau, P., & Delgadillo, J. A. (2020). The continuous presence of ewes in estrus in spring influences testicular volume, testicular echogenicity and testosterone concentration, but not LH pulsatility in rams. *Animal*, *14*(12), 2554–2561. <https://doi.org/10.1017/S1751731120001330>
- Adami, L., Maciel Júnior, V., & De Agostini Losano, J. (2022). Review on the role of antioxidant supplementation against oxidative stress: A human and animal approach to male

- fertility. *Research, Society and Development*, 11(1). <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i1.25191>
- Aguirre-Riofrio, E. (2023). Estudio de la actividad reproductiva. *Cedamaz*, 13(2), 190–194. <https://doi.org/10.54753/cedamaz.v13i2.2035>
- Aitken, R. J., & Drevet, J. R. (2020). The importance of oxidative stress in determining the functionality of mammalian spermatozoa: A two-edged sword. *Antioxidants*, 9(2), 111. <https://doi.org/10.3390/antiox9020111>
- Bansal, A. K., & Bilaspuri, G. S. (2011). Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Veterinary Medicine International*, 2011, 686137. <https://doi.org/10.4061/2011/686137>
- Chavoshi Nezhad, N., Vahabzadeh, Z., Allahveisie, A., Rahmani, K., Raoofi, A., & Rezaie, M. J. (2021). The effect of L-carnitine and coenzyme Q10 on sperm motility, DNA fragmentation, chromatin structure and oxygen free radicals during, before and after freezing in oligospermia men. *Urology Journal*, 18(3), 330–336. <https://doi.org/10.22037/uj.v16i7.6400>
- Cofré, E., Peralta, O. A., Raggi, A., De Los Reyes, M., Sales, F., González-Bulnes, A., & Parraguez, V. H. (2018). Ram semen deterioration by short-term exposure to high altitude is prevented by improvement of antioxidant status. *Animal*, 12(5), 1007–1014. <https://doi.org/10.1017/S1751731117002452>
- Farfán, K., Alvarado, J., & Moscoso, P. (2025). Determinación del efecto post congelación de microdosis de menaquinona-4 en semen ovino. *MQRInvestigar*, 9(3), 1–19. <https://doi.org/10.56048/MQR20225.9.3.2025.e903>
- Gautier, C., & Aurich, C. (2022). Fine feathers make fine birds – The mammalian sperm plasma membrane lipid composition and effects on assisted reproduction. *Animal Reproduction Science*, 246. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106884>

- Guamarriga Sánchez, I. C., Alvarado Sáciense, J. C., Moscoso Piedra, A. L., & Maldonado Cornejo, M. E. (2025). Evaluación del efecto combinado de coenzima Q10 y L-carnitina sobre la crioconservación de semen ovino. *ASCE*, 4(3), 1793–1811. <https://doi.org/10.70577/ASCE/1793.1811/2025>
- Guiracocha-Viñanzaca, I. M., Moscoso-Piedra, A., & Alvarado-Alvarado, J. C. (2025). Efecto de microdosis de coenzima Q10 en la refrigeración de semen ovino previo a la congelación. *MQRInvestigar*, 9(1). <https://doi.org/10.56048/MQR20225.9.1.2025.e114>
- Iliceto, M., Andersen, J., Haug, M., Haugen, T., & Witczack, O. (2024). Association of endogenous seminal L-carnitine levels with post-thaw semen parameters in humans. *Andrology*, 2024, 4327010. <https://doi.org/10.1155/2024/4327010>
- Juliani, G., & Henry, M. (2008). Efeito do glicerol, etilenoglicol, acetamida e leite desnatado na criopreservação de espermatozóides eqüinos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 60, 1103–1109.
- Kowalczyk, A. (2022). The role of the natural antioxidant mechanism in sperm cells. *Reproductive Sciences*, 29, 1387–1394. <https://doi.org/10.1007/s43032-021-00795-w>
- Larbi, A., Anass, B., Maia, M. D., Boubker, N., & Bouchra, E. (2018). Supplementation of ram semen extender to improve seminal quality and fertility rate. *Animal Reproduction Science*, 192, 6–17. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.03.019>
- Lema Guamán, M. F., Maldonado Cornejo, M. E., Alvarado Booker, J. C., & Moscoso Piedra, A. L. (2025). Evaluación del efecto combinado de la menaquinona-4 y L-carnitina sobre la crioconservación de semen ovino. *ASCE Magazine*, 4(3), 1906–1926.
- Loja, E., Maldonado, M., Alvarado, J., & Moscoso, A. (2025). Efecto de la concentración de la coenzima Q10 en semen ovino post congelación. *Revista Espamciencia*, 16(2), 30–36.

- Mehdipour, M., Mohammadi, H., & Salih, S. (2025). Mitochondrial specific antioxidant MitoPBN mitigates oxidative stress and improves mitochondrial function in cryopreserved ram sperm. *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-95820-2>
- Moreira, F. M., Martins, A., Oliveira, P., Alves, M., & Pereira, M. (2023). L-carnitine and male fertility: Is supplementation beneficial? *Journal of Clinical Medicine*, 12(18), 5796. <https://doi.org/10.3390/jcm12185796>
- Nogueira, B. G., Pereira, R. R., Bitencourt, J. L., Milan, B. R. W. V. A., Junior, M. V., et al. (2022). Coenzyme Q10 and melatonin protect cryopreserved equine sperm against lipoperoxidation. *Animal Reproduction Science*, 243. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2022.107027>
- Puerta, M., Henao-Salazar, L., Vélez, I., León, S., Rojano, B., Restrepo, G., & Úsuga, A. (2024). Dietary antioxidant supplementation improves the in vitro quality and antioxidant capacity of Colombian Creole stallion semen. *Czech Journal of Animal Science*, 69(11), 450–461. <https://doi.org/10.17221/98/2024-CJAS>
- Reyes-González, E. A., Centurión-Castro, F., Uc Espinosa, N., Ek-Mex, J. E., Peralta-Torres, J. A., & Segura Correa, J. C. (2022). Effect of Ley-Leygo and Triladyl extenders and two equilibration times on the freezing of boar semen. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 33(6). <https://doi.org/10.15381/rivep.v33i6.22758>
- Reza, M., Nader, A., & Mohsen, S. (2021). Effects of freezing extender supplementation with mitochondria-targeted antioxidant Mito-TEMPO on frozen-thawed rooster semen quality and reproductive performance. *Animal Reproduction Science*, 225. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106671>
- Rodríguez, S. (2024). *Evaluación de la calidad espermática de semen porcino criopreservado en diferentes niveles de coenzima Q10* [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/23037>

Sadler, R., Shoveller, A., Shandilya, R., Charchoglyan, A., & Wagter-Lesperance, L. (2024).

Más allá de la cascada de la coagulación: La vitamina K y su impacto multifacético en la salud humana y de los animales domésticos. *Current Issues in Molecular Biology*, 7001–7031.

Uribe Valderrama, R., Arango Rodríguez, E., Rendón Álvarez, L., & Naranjo, M. A. (2011).

Evaluation of canine semen that has gone through a freezing and thawing process with different glycerol concentrations as a cryoprotector. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 6(1).

Valdez-Pinargote, Moscoso-Piedra, A., & Maldonado-Cornejo, M. (2024). Efecto de la

concentración de la L-carnitina en congelación del semen ovino. *Journal Scientific*, 8(4). <https://doi.org/10.56048/MQR20225.8.4.2024.7324-7341>

Vicente-Fiel, S., Palacín, I., Santolaria, P., Fantova, E., Quintín-Casorrán, F. J., Sevilla-Mur, E.,

& Yániz, J. L. (2014). In vitro assessment of sperm quality from rams of high and low field fertility. *Animal Reproduction Science*, 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.02.005>

Wang, W., Fang, H., Groom, L., Cheng, A., Zhang, W., Liu, J., & Cheng, H. (2008). Superoxide

flashes in single mitochondria. *Cell*, 134(2), 279–290.

Watson, P. F. (2000). The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal*

Reproduction Science, 60–61, 481–492. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00099-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00099-3)

Dayana Patricia Castro Sánchez portadora de la cédula de ciudadanía N° **152060612**. En calidad de autora y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación **“Evaluación del Efecto Combinado de Menaquinona 4 y Coenzima Q10 sobre la Crioconservación de Semen Ovino”** 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 éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **23 de marzo de 2026**



F:

Dayana Patricia Castro Sánchez

C.I. 152060612