

Effect of microdoses Coenzyme Q10 on the refrigeration of ovine semen prior to freezing
Efecto de microdosis de Coenzima Q10 en la refrigeración de semen ovino previo a la congelación

Autores:

Guiracocho-Viñanzaca, Ingrid Michelle
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA
Egresado
Cuenca – Ecuador



ingridguiracocho@hotmail.com



<https://orcid.org/0009-0004-5897-3208>

Moscoso-Piedra, Andrés
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA
Egresado
Cuenca-Ecuador



amoscosop@ucacue.edu.ec



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

Juan Carlos Alvarado-Alvarado
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA
Egresado
Cuenca - Ecuador



jalvaradoa@ucacue.edu.ec



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

Fechas de recepción: 02-ENE-2024 aceptación: 02-FEB-2025 publicación: 15-MAR-2025



<https://orcid.org/0000-0002-8695-5005>

<http://mqrinvestigar.com/>



Resumen

La criopreservación de semen es una técnica ampliamente utilizada actualmente y que ha llegado a ser muy fundamental en la reproducción animal, y específicamente en ovinos, por sus cualidades espermáticas únicas. Para que esta sea cada vez más eficiente es necesario garantizar la sobrevivencia espermática por lo que es necesario preservar la integridad de la membrana plasmática. En este campo se ha experimentado con antioxidantes cuya finalidad es eliminar las especies reactivas de oxígeno (ROS), actividad donde destaca la Coenzima Q10, muy usada a nivel orgánico por sus características de antioxidante liposoluble, por lo que esta ayuda a producir y proteger la membrana de la peroxidación lipídica. El objetivo del presente estudio fue observar el efecto de 1 μ M, 2 μ M y 5 μ M, de Coenzima Q10 sobre los parámetros de calidad y cinéticos de semen de ovinos en refrigeración previo a la crioconservación, utilizando diferentes técnicas se evaluaron varios parámetros como el análisis de motilidad espermática, pruebas de vitalidad, la evaluación de la actividad mitocondrial mediante el yoduro de propidio, entre otros. De igual manera mediante el Sistema Casa (Computer Assisted Sperm Analysis System) se analizó la Progresividad, Inmóviles, No progresivos y valores cinéticos (VCL, VAP, VSL, STR, LIN, ALH BCF). Si bien no se hallaron efectos significativos entre tratamientos, se observó que la calidad espermática disminuye a través del tiempo y en el caso de la dosis de 5 μ M mantiene los valores especialmente de progresividad, siendo valores considerables para sugerir un aprovechamiento de este antioxidante, en futuras investigaciones.

Palabras clave: Sistema CASA; ROS; Antioxidante; Progresividad



Abstract

Cryopreservation of semen is a widely used technique that has become popular and fundamental in animal reproduction systems, and particularly in sheep, due to their unique spermatogenic qualities. To enhance its efficiency, it is essential to ensure sperm survival by preserving plasma membrane integrity. In this field, antioxidants have been tested to eliminate reactive oxygen species (ROS) that affects directly sperm quality, so the use of Coenzyme Q10 as a liposoluble antioxidant, has become a potential alternative because this compound plays a crucial role in protecting the membrane from lipid peroxidation. This study evaluates the effects of 1 μM , 2 μM , and 5 μM of Coenzyme Q10 on several sheep refrigerated semen quality and kinetic parameters. Various techniques were used to assess sperm motility, vitality tests, and mitochondrial activity as the evaluation of iodide propidium, among others reactive. Additionally, the CASA system (Computer-Assisted Sperm Analysis System) was employed to analyze parameters such as progressive motility, immotile and non-progressive sperm, and kinetic values (VCL, VAP, VSL, STR, LIN, ALH, BCF). Nevertheless there is no significant effects observed, among treatments, as the sperm quality declined over time in all cases. However, the 5 μM dose maintained progressive motility values, suggesting that this antioxidant could be beneficial for future research in semen cryopreservation.

Keywords: Computer-Assisted Sperm Analysis System; ROS; Antioxidant, Progressive Motility



Introducción

A escala mundial, la creciente falta de acceso a los alimentos y a la proteína animal en general, incentiva a los agricultores a mejorar la crianza y manejo del ganado. En relación con eso, la reproducción animal se vuelve crucial para hacer frente a estas demandas. Por esto, es necesario enfatizar en nuevas estrategias como tecnologías para comprender la dinámica reproductiva de las diversas especies de ganado, así como desarrollar nuevas tecnologías que mejoren la eficacia en la producción (Davis & White, 2020).

El uso de semen refrigerado junto con antioxidantes presenta varios beneficios, como el transporte a grandes distancias y la conservación durante periodos prolongados, lo cual ha demostrado mejorar gradualmente los resultados productivos a medida que avanza las investigaciones, gracias a su efecto positivo en las células. Sin embargo, una de las desventajas en el proceso natural de envejecimiento de los espermatozoides que ocurre durante la refrigeración, es la disminución de calidad de la producción con el tiempo (Intriago & Vargas, 2019).

Para reducir estos daños se ha empleado diversos diluyentes que no solo favorecen el almacenamiento del esperma, sino que también reproducen sus características fisiológicas. Estos diluyentes contienen una o más sustancias crioprotectoras que se unen al oxígeno y así regulan la permeabilidad de la membrana plasmática evitando la peroxidación lipídica, manteniendo la integridad y viabilidad del esperma durante el almacenamiento a largo plazo (Rodríguez & Nivia, 2017).

La Coenzima Q10 se presenta como una alternativa prometedora, debido que tiene beneficios en la preservación del semen y mejora la fertilidad masculina al prevenir la peroxidación lipídica y promover la motilidad. Por ende, se ha evaluado la adición de diferentes concentraciones de CoQ10 desde la centrifugación hasta los demás procesos de criopreservación. Esto busca determinar como la CoQ10 puede ayudar a mitigar el estrés oxidativo en todas las etapas del proceso de preservación del semen ovino, lo que podría tener un impacto significativo en la calidad y la viabilidad del esperma (Carneiro et al., 2018).

Fundamento teórico

En el Ecuador, la producción ovina de doble propósito ha incrementado notoriamente en el transcurso de los años dentro de la región central, siendo vital que los productores busquen



nuevas alternativas, ayudándolos a tener un mejor conocimiento en cuanto al manejo y control de su rebaño, tal como es su estado nutricional, condiciones climáticas y ambientales, por ende, llegando a mejorar y ser más eficientes en sus sistemas de producción (Chango et al., 2024). Actualmente la producción ovina es fundamental, para aquellos agricultores que trabajan y obtiene ingresos a través de sus carnes, leche y lana, de igual manera socioeconómica, lo que implica la crianza y comercialización ovina. Es así que, el avance del sistema de producción ovina, se convierte en una de las alternativas más elegidas entre la población rural del país (Tisalema-Shaca et al., 2024). Dentro de este ámbito destaca las biotecnologías de la reproducción, siendo el aporte genético del macho fundamental para este fin.

Para alcanzar este fin, se debe entender que la evaluación seminal es tan primordial para medir la capacidad de fertilización del espermatozoide y, por lo tanto, pronostica el potencial fértil de un reproductor. Esto abarca diversos parámetros que se han catalogado en características macroscópicas y microscópicas del semen (Carrillo-González et al., 2016).

El color de semen ovino muestra un color que va desde el blanco lechoso hasta tonalidades amarillentas, cremosas o grisáceas, llegando a ser ideal de color crema con una consistencia espesa (Córdova et al., 2015).

Su volumen se mide al depositar el eyaculado en un tubo de recolección graduado, siendo esencial evitar la formación de espuma o burbujas, ya que podrían afectar la medición correcta del volumen real (Ávalos et al., 2018).

Por otro lado, el pH del eyaculado está determinado por la cantidad de las glándulas accesorias y la parte específica del eyaculado. Su valor puede reflejarse alterado por varios factores como, la manipulación, tiempo, contaminación, entre otros. Para un eyaculado recién extraído, se consideran valores de pH entre 6,4 a 7,4 aceptables (Salazar, 2014).

La vitalidad espermática del semen ovino indica si los espermatozoides están vivos o muertos, por medio de una tinción Eosina-Nigrosina. En este proceso aquellos espermatozoides que han perdido su integridad de membrana se impregnan de un colorante y se tiñen de un color rojo-rosa, indicando su muerte y aquellos sin teñir considerados vivos (Sánchez R & Zamora D, 2016).

Para que estas características destaquen, es necesario añadir diluyentes que brinden ventajas sobre otras técnicas. Por ende, un diluyente es aquella solución acuosa que facilita el aumento del volumen del eyaculado sin alterar su calidad del semen, suministrando los nutrientes fundamentales para la conservación metabólica del espermatozoide. Asimismo, protege contra el shock térmico generado por el frío, regula el pH, la presión osmótica e inhibe la evolución microbiana, asegurando estas condiciones el mayor tiempo posible. (Rugeles-Pinto et al., 2013).

Por este motivo, la característica principal de los diluyentes es mantener viable la célula espermática lo mejor posible, por un tiempo determinado y en base a su composición genérica, los diluyentes deben desempeñar las siguientes funciones: proporcionar energía para el metabolismo de los espermatozoides, neutralizar residuos metabólicos, mantener el equilibrio osmótico y estabilizar las membranas de los espermatozoides (Condoy & Cevallos, 2017). De forma, que el diluyente más utilizado en la raza ovina es el Ovixcell. Por ello, la inclusión de sustancias a los diluyentes es necesario ya que ayudan a protejan la membrana plasmática durante el proceso de refrigeración y mejorar su capacidad fecundante, incluyendo así la Coenzima Q10.

La Coenzima Q10 es un componente liposoluble, presente en la membrana mitocondrial, bien sea en su forma oxidada o reducida (Herrera & Pinzón, 2022). Se encuentra en diversos alimentos, además de ser sintetizado en el organismo a partir de tirosina, fenilalanina y Acetil CoA. Esta distribuida en todas las membranas celulares, donde ejerce un papel importante en la cadena de respiración aeróbica (Criado & Moya, 2009).

Además de su finalidad como antioxidante, se destaca por la protección celular frente al daño oxidativo ocasionado por agentes internos y externos. Por tal razón, contribuye al metabolismo celular y estabiliza a los sistemas responsables de preservar la membrana celular. A pesar de no actuar únicamente en la membrana plasmática, protege otras estructuras celulares como los lisosomas y el retículo endoplasmático, permitiendo así preservar la integridad celular y evitar daños (Intriago & Vargas, 2019).

Material y métodos

La presente investigación se realizó en la provincia del Azuay, Cantón Cuenca, en la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Católica de Cuenca, ubicada en el



kilómetro 2 ½ de la vía Panamericana Norte. Donde se utilizó tres razas de ovinos donantes: Katahdin, Pelibuey y Dorper con 5 eyaculados por ejemplar, dando un total de 15 eyaculados. Para la obtención del semen se utilizó una hembra, propiedad de la Universidad. En este procedimiento se utilizó una vagina artificial cargada con 40 – 60 ml de agua, a una temperatura entre los 45 – 50°C. Posteriormente se colocó en un tubo falcón rotulado de 15ml en el cuello de la vagina artificial. Asegurada ya la oveja se procedió a la colecta, con la ayuda de un operador este se ubicó en el lado derecho del macho y sujetando la vagina artificial con el extremo abierto frente al prepucio, en un ángulo de 45°. Una vez el macho montó, el operador desvió el pene lateralmente para conducirlo a la vagina artificial. Rápidamente luego del salto, el tubo de recolección se protegió con la mano, debido a los cambios bruscos de temperatura, rápidamente se llevó la muestra a un baño termostático a 37 °C, conservando su temperatura.

La examinación de semen consto del volumen y concentración.

El volumen y concentración espermática fue la primera prueba que se evaluó. Para evaluar el volumen se usó una micropipeta de 100-1000 microlitros. Se colocó 30 ul de muestra de semen en una microcubeta, posteriormente se depositó la muestra en la cubeta del fotómetro SMD 1 (minitube) para ovinos. Seguidamente, para la evaluación de la motilidad masal se extrajo 5 µL de semen con la ayuda de una micropipeta y se colocó en un portaobjetos que se encontraba sobre una platina térmica a 37 °C, para su observación microscópica con el lente de 10x.

Para el proceso de dilución, se realizó una pre-disolución 1:1(4 ml de agua pura y 4ml del diluyente Ovixcell), para conocer la dosis de semen correcta, se realizó un procedimiento estándar, teniendo en cuenta la concentración espermática x Motilidad Masal (MM) estimando que era del 90% x Volumen Seminal. El valor conseguido se manejó con 50 millones, dado este resultado se multiplica por el volumen seminal y dividido por la concentración espermática, dando el resultado en microlitros de semen necesarios para diluir en la pre-disolución.

Una vez diluido el semen, se prosiguió a colocar 800 µL de solución en cuatro diferentes tubos Eppendorf de 1,5ml, posteriormente ya añadido la Coenzima Q10 en dosis de 1 µM, 2 µM y 5 µM, incluido un testigo.



Seguidamente se procedió a colocar cada tubo Eppendorf ya rotulado en refrigeración a 5°C. Las muestras se analizaron en los periodos de 0 horas, 24 horas y 48 horas, antes de su evaluación, se mantuvieron a una temperatura de 37° C durante 15 minutos sobre la platina térmica.

A continuación, se realizó la evaluación de la integridad de la membrana mediante tres pruebas: Test Hipoosmótico (HOST), Eosina-Nigrosina y Yoduro de Propidio.

Para la prueba del test hipoosmótico (HOST), se mezcló 20 µL de semen con 100 µL de la solución de HOST en un tubo Eppendorf. Una vez ya homogenizado la muestra, esta se incubó en la platina térmica a 37°C durante 45 minutos. Para el análisis microscópico, se colocó 5 µL de la muestra en un portaobjetos donde se cubrió con un cubreobjetos. Se observó la muestra mediante un microscopio Olympus BX51 con el lente de 40x. En esta prueba reflejo aquellos espermatozoides que muestran una torsión en el flagelo helicoidal lo que indica una reacción positiva a la prueba.

Para la prueba de Eosina-Nigrosina se colocó 3 µL de la muestra de semen en un portaobjetos en un extremo de una esquina y 3 µL de Eosina-Nigrosina en el otro extremo de la esquina. Una vez colocadas las muestras se realizó un extendido. Se evaluó luego de 3 minutos de reposo, con el lente de 40x. Donde se observó en 3 diferentes campos la muestra contando aquellos espermatozoides vivos los cuales no se tiñen, mientras que los muertos se ven de color rosa, así evaluando su vitalidad espermática.

Finalmente, con la prueba de Yoduro de Propidio se evaluó la viabilidad, se utilizó la tinción fluorescente de Yoduro de Propidio, este método consiste en utilizar un tubo Eppendorf de 1,5 ml, agregando 1 µL de Yoduro de Propidio junto con 50 µL de muestra de semen, el tubo Eppendorf debe estar previamente cubierto de aluminio para evitar su exposición a la luz, acto seguido se dejó incubar en la platina térmica a una temperatura de 37°C durante 5 minutos. Pasado el tiempo, se colocó 5 µL de muestra en un portaobjetos, y se realizó un extendido, obteniendo una tinción uniforme. La muestra se observó mediante el microscopio de fluorescencia Olympus BX51, con un lente de 40x y con el disco N°1, se evaluó por medio de un conteo de 100 espermatozoides en diferentes campos, llegando a observar aquellos de color rojo (muertos), los no pintados (vivos).

Por último se realizó el Análisis del Sistema CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis) donde se utilizó y colocó 5 µL de muestra de semen sobre un portaobjetos y se cubrió con un cubreobjetos, este sistema permitió evaluar de una forma automática los siguientes parámetros cinemáticos: Espermatozoides progresivos (PR), No progresivos (NP), Inmóviles (IM), Velocidad Curvilínea (VCL), Velocidad Media (VAP), Velocidad línea (VSL), Índice de rectitud (STR), Índice de linealidad (LIN), Amplitud lateral de la cabeza (ALH) Y Frecuencia de batida (BCF).

Análisis estadístico

Diseño experimental se basó en un modelo factorial 4x3 (Tiempo x Dosis), además se analizó la variación de la calidad espermática a través del tiempo mediante un modelo de una entrada. Para la comparación de los tratamientos se utilizó un análisis de varianza (ADEVA) a un nivel de significancia 5% en las variables y una prueba multiparamétrica (post-hoc) de Duncan, analizado con el programa estadístico Jamovi (Jamoviproject, 2022).

Resultados

Cuadro 1. Tabla de Contingencia de las pruebas de permeabilidad (Tiempos x Dosis).

HORAS	DOSIS	HOST		EOSINA		YODURO		Sig
		X	DE	X	DE	X	DE	
0 HORAS	TESTIGO	27.9	19.0	82.1	15.8	66.6	5.88	p>0,05
	1UM	24.7	16.4	78.5	25.6	61.9	9.23	
	2UM	20.3	11.0	80.3	25.4	61.9	12.7	
	5UM	26.8	11.9	79.0	27.4	65.3	6.78	
24 HORAS	TESTIGO	30.1	11.6	75.9	16.5	62.5	8.06	p>0,05
	1UM	28.8	11.4	72.8	18.3	65.2	14.3	
	2UM	29.4	10.9	73.6	14.8	60.6	12.9	
	5UM	30.8	10.0	75.0	18.3	59.0	11.9	
48 HORAS	TESTIGO	37.0	17.8	70.4	15.3	61.7	10.9	p>0,05
	1UM	34.4	16.7	72.9	17.1	65.8	7.36	
	2UM	38.9	15.7	71.3	20.8	61.3	12.8	
	5UM	37.6	13.9	66.3	22.2	59.9	14.4	
120 HORAS	TESTIGO	44.9	9.06	89.3	6.36	65.8	2.54	p>0,05
	1UM	45.8	11.8	88.1	12.2	70.8	4.91	
	2UM	38.0	13.0	84.8	12.3	68.7	8.76	
	5UM	45.3	17.1	86.0	14.6	71.8	7.47	

El cuadro 1 nos estadística promedio y estándar para las Eosina y yoduro, 120 horas, del µM y 5 µM. el análisis dentro de las

indica la desviación Pruebas de Host, para 0, 24, 48 y testigo, 1 µM, 2 Luego de hacer equivalente diferentes horas



se pudo apreciar que tanto el testigo como los tratamientos no presentan diferencias estadísticas ($p>0,05$).

Cuadro 2. Tabla de Contingencia de las pruebas del sistema CASA (Tiempos x Dosis)

HORAS	DOSIS	VCL		VAP		VSL		STR		LIN		ALH		BCF		Sig
		x	DE	X	DE											
0 HORAS	TESTIGO	86.3	32.1	46.8	13.0	31.1	10.1	59.1	6.64	33.4	6.02	2.32	0.494	11.0	3.28	$p>0,05$
	1UM	89.3	33.1	45.9	17.1	30.6	14.7	58.1	11.6	33.1	9.64	2.25	0.639	10.7	3.85	
	2UM	83.1	24.8	43.5	15.2	29.4	14.5	55.4	11.1	31.2	8.41	2.07	0.425	10.4	3.90	
	5UM	82.0	30.5	42.1	16.0	27.1	12.6	55.6	11.1	31.8	9.37	2.11	0.579	10.2	4.18	
24 HORAS	TESTIGO	67.6	27.3	36.4	13.3	20.6	8.54	51.1	6.52	30.0	5.06	1.98	0.631	6.71	3.02	$p>0,05$
	1UM	77.1	33.4	41.2	18.8	25.9	16.1	53.6	10.9	30.7	8.09	2.07	0.634	8.39	4.38	
	2UM	79.5	38.5	42.1	18.9	25.6	12.4	53.5	9.29	31.0	7.54	2.16	0.878	8.47	3.51	
	5UM	70.9	25.4	37.8	13.1	22.7	9.56	51.8	8.04	29.6	5.73	2.00	0.542	7.74	3.11	
48 HORAS	TESTIGO	73.0	26.1	39.0	13.4	21.4	6.69	51.7	7.14	30.4	5.91	2.13	0.662	6.83	1.94	$p>0,05$
	1UM	63.6	27.1	33.3	14.6	19.6	9.36	52.0	8.19	28.6	8.38	1.82	0.631	6.67	3.19	
	2UM	70.5	18.7	37.1	10.0	22.1	7.35	53.2	6.71	31.2	5.98	2.00	0.456	7.55	1.91	
	5UM	54.2	11.0	29.3	6.25	16.1	3.98	51.5	6.85	30.5	5.60	1.70	0.280	5.32	1.40	
120 HORAS	TESTIGO	43.1	5.20	24.5	3.30	9.64	5.46	50.0	5.43	29.8	2.56	1.39	0.132	4.74	0.295	$p>0,05$
	1UM	50.6	14.7	28.2	10.7	16.2	6.43	50.1	3.87	27.8	3.83	1.51	0.315	5.71	2.57	
	2UM	39.3	13.7	22.2	9.00	11.0	5.30	44.8	7.43	25.7	4.84	1.31	0.338	4.03	1.84	
	5UM	58.1	9.27	31.1	4.65	17.7	2.46	52.5	2.89	30.8	3.71	1.75	0.212	6.08	0.993	

La tabla de contingencia de la cinética espermática, resumida en el Cuadro 2, refleja los valores de cinética VCL, VAP, VSL, STR, LIN, ALH, BCF, para las diferentes dosis en diferentes tiempos a las de 0 horas, 24 horas, 48 horas y 120 horas, para testigo, 1 μM , 2 μM y 5 μM donde no hubo diferencias estadísticas ($p>0,05$). Sin embargo, se puede observar que los tratamientos empiezan a diferir ($p<0,05$) con forme pasa el tiempo para progresividad.

Cuadro 3. Tabla de Contingencia de las pruebas de Viabilidad, Vitalidad, Permeabilidad y Cinética en relación al Tiempos.

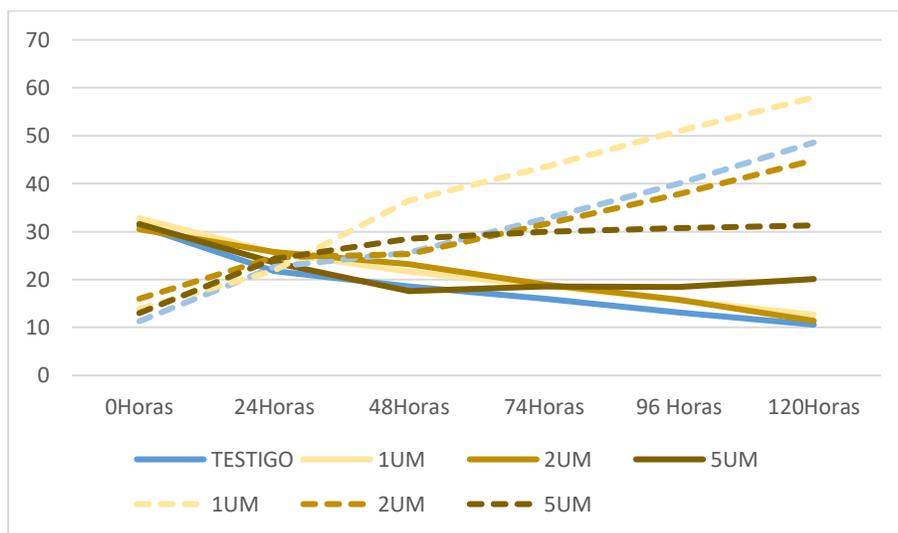
HORAS	0 HORAS		24 HORAS		48 HORAS		120 HORAS		Valor P
	N	60	60	60	48	48	12	12	
	x	DE	X	DE	X	DE	X	DE	
HOST	24.9 ^a	14.8	29.8 ^{ab}	10.7	37.0 ^{bc}	15.6	43.5 ^c	11.6	$p<0,05$
EOSINA	80.0 ^a	23.4	74.3 ^a	16.6	70.2 ^{ab}	18.6	87.1 ^b	10.2	$p<0,05$
YODURO	63.9 ^a	9.07	61.8 ^a	11.9	62.2 ^{ab}	11.5	69.3 ^b	5.96	$p<0,05$
PROGRESIVO	31.5 ^c	10.7	24.2 ^b	10.2	20.3 ^b	7.13	13.7 ^a	5.15	$p<0,05$
NO PROGRES	54.9 ^c	12.4	52.4 ^b	16.4	50.8 ^b	19.1	40.6 ^a	17.4	$p<0,05$
INMOVILES	13.5 ^c	9.03	23.4 ^b	17.9	29.0 ^b	19.8	45.7 ^a	19.6	$p<0,05$



VCL	85.2 ^a	29.7	73.8 ^b	31.1	65.4 ^{bc}	22.3	47.8 ^c	12.3	p<0,05
VAP	44.6 ^c	15.1	39.4 ^{bc}	16.0	34.7 ^b	11.8	26.5 ^a	7.34	p<0,05
VSL	29.5 ^c	12.9	23.7 ^{bc}	11.9	19.8 ^b	7.27	13.6 ^a	5.64	p<0,05
STR	57.1 ^c	10.2	52.5 ^{bc}	8.68	52.1 ^b	7.04	49.4 ^a	5.31	p<0,05
LIN	32.4 ^b	8.31	30.3 ^{ba}	6.57	30.2 ^a	6.42	28.5 ^a	3.84	p<0,05
ALH	2.19 ^b	0.536	2.06 ^b	0.669	1.91 ^b	0.540	1.49 ^b	0.282	p<0,05
BCF	10.6 ^c	3.73	7.83 ^b	3.53	6.59 ^{ab}	2.29	5.14 ^a	1.65	p<0,05

Cuando se realizó el ADEVA para las pruebas de Viabilidad, Vitalidad, Permeabilidad y Cinética en relación al Tiempos, se pudo apreciar que la calidad espermática va perdiéndose conforme pasan las horas (p<0,05).

Figura 1. Cambios de la progresividad después de las 120h.



Por último, la figura 1 demuestra, la existencia clara de una interacción (tiempo x dosis), principalmente en la Progresividad del semen, (p<0,05), donde las muestras de los no progresivos (líneas punteadas) aumentan, mientras los progresivos disminuyen (líneas continuas), observándose como la dosis de 5 μ M, se mantiene sin perder sus cualidades a través del tiempo, siendo valores a considerarse y profundizar en futuras investigaciones.

Discusión

La refrigeración y conservación de semen ovino disminuyen su actividad metabólica, lo que extiende su viabilidad (Rodríguez-Almeida et al., 2008). El semen refrigerado puede aguantar por amplios períodos a temperie, siendo una alternativa frente del semen congelado,

siempre y cuando la inseminación se realice en corto tiempo luego de la colecta (Mansano et al., 2014). Además, la protección del eyaculado es fundamental porque favorece la conservación de los espermatozoides a lo largo del tiempo sin perder su capacidad de fertilización (Carreño et al., 2022). La técnica de conservación de semen refrigerado depende especialmente del diluyente, dado que este ayuda a conservar sus propiedades funcionales de las células espermáticas, resguardando así el nivel de fertilidad del semen (Alemán et al., 2006).

La suplementación de CoQ10 en refrigeración de semen ha sido probada en porcinos. Parlapan-Pindaru et al., (2016), analizó el almacenamiento de semen a 17°C durante 5 días, evaluando continuamente el efecto de las distintas concentraciones de CoQ10 (3 µM, 6 µM, 8 µM y 1mM). Como resultado obtuvo un efecto positivo en el porcentaje de espermatozoides viables y de integridad acrosómica, aunque solo en las dosis más altas de CoQ10 (8 µM y 1mM) demostraron un aumento estadísticamente significativo en los porcentajes de viabilidad celular e integridad acrosómica.

De manera similar, Masoudi et al., (2019), demostró tener mejores resultados a dosis más altas de CoQ10 (5 µM) a las 24 horas y 48 horas, en semen de gallo, utilizando el diluyente Lake, conservando así su actividad mitocondrial y disminución de la peroxidación lipídica, protegiendo así la calidad del semen.

De modo que, el uso de diluyentes en la refrigeración de semen es fundamental para su preservación, tal como lo menciona, Córdova et al., (2023), que al usar tres tipos de diluyentes en semen ovino durante 24 horas: el primero, compuesto por aminoácidos, vitaminas y antibióticos; el segundo a base de yema de huevo-tris-fructosa y el tercero basado en triladyl. Reflejando que el pH no sufrió alteraciones entre los diferentes diluyentes. Sin embargo, el diluyente a base de Triladyl, resultó beneficioso, demostrando una mejor motilidad progresiva, viabilidad e integridad acrosómica, por esta razón, llega a ser una excelente opción para la conservación de semen en refrigeración.

Así mismo Flores et al., (2010), utilizó un diluyente que contenía glucosa, fructuosa, sacarosa con la finalidad de prolongar la vida espermática en la refrigeración de semen canino. Las muestras fueron examinadas dentro de 24, 48, 72 y 96 horas, donde reflejó resultados positivos en todos los tiempos. La motilidad espermática se mantuvo dentro de rangos



aceptables, fluctuando entre el 90% día 0 y cerca del 60% en el día 4. Como resultado, demostró que la glucosa como la sacarosa beneficiaron la motilidad y el test de reacción hipoosmótico (HOST), concluyendo que no se generó un daño significativo sobre la membrana espermática durante la refrigeración del semen canino.

Igualmente, Cruz, (2024), da a conocer en su estudio, que el uso de la Coenzima Q10 a dosis de 0.2 mM, 0.4 mM, 0.6 mM y 0.8 mM en semen ovino, resultó favorable en la reducción de formación de cristales durante la refrigeración, sin embargo, las concentraciones de 0.6 mM y 0.8 mM llegaron a ser óptimas para preservar la calidad de semen, por ende, la inclusión de la CoQ10 en refrigeración mejora las características cualitativas y cinéticas del semen ovino.

De forma similar, el uso de antioxidantes ha demostrado ser beneficioso, ya que impide el estrés oxidativo, llegando a mejorar la calidad seminal y como lo demuestra, Sohail et al., (2024), que evaluó diferentes concentraciones de Astaxantina (1 μ M, 2 μ M, 3.5 μ M y 4.5 μ M) en semen de carnero, junto con un extender, durante un periodo de 5 días de almacenamiento. Los resultados llegaron a ser favorable, demostrando que la Astaxantina (3.5 μ M) tuvo un efecto fructífero, aumentando significativamente ($p \leq 0,05$) la calidad de semen. Demostrando que al adicionar un extensor con Astaxantina mejora la calidad del eyaculado, incrementando su capacidad antioxidante y preservando la membrana mitocondrial.

Al igual que, Kumar et al., (2021) estudio el uso de dos antioxidantes Melatonina y Cantaxantina, junto con un diluyente a base de tris, en semen de carnero durante 72h. Los resultados demostraron que sus parámetros cinemáticos fueron significativamente mayores ($p < 0,05$) en el grupo de Melatonina, mientras que la prueba Hipoosmótico (HOST) reflejo valores más altos ($p < 0,05$) en el grupo de Cantaxantina. Mostrando la eficacia de ambos antioxidantes, demostrando el potencial que conlleva un antioxidante para mejorar la calidad de semen bajo circunstancias de la refrigeración.

Conclusión

No se hallaron efectos significativos entre los tratamientos 1 μ M y 2 μ M, y 5 μ M, sin embargo, se observó paralelamente que la calidad espermática disminuye a través del tiempo,



pero en el caso de la dosis de 5 μ M mantiene sus valores específicamente en la progresividad, siendo estos valores considerables para sugerir un aprovechamiento de este antioxidante, en futuras investigaciones.

Referencias bibliográficas

- Alemán, D., Alfaro, M., Hurtado, E. (2006). Efecto de la temperatura del semen sobre la respuesta reproductiva de cerdas. *Idesia (Arica)*, 24(3), 33-37.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292006000300005>
- Avalos Rodríguez, A., Gonzales Santos, J. A., Vargas Ibarra, A. K., & Herrera Barragán, J. A. (2018). Recolección y manipulación seminal in vitro. Universidad Autónoma Metropolitana. Obtenido de:
https://www.casadelibrosabiertos.uam.mx/contenido/contenido/Libroelectronico/recoleccion_manipulacion.pdf
- Bhalothia, S.K., Mehta, J. S., Kumar, T., Prakash, C., Talluri, T.r., Pal, R. S., y Kumar, A. (2022). Melatonin and canthaxanthin enhances sperm viability and protect ram spermatozoa from oxidative stress during liquid storage at 4°C. *Andrologia*, 54(1).
<https://doi.org/10.1111/and.14304>
- Carneiro, JAM, Canisso, IF, Bandeira, RS, Scheeren, VFC, Freitas-Dell'Aqua, CP, Alvarenga, MA, Papa, FO y Dell'Aqua, JA, Jr. (2018). Efectos de la coenzima Q10 en la criopreservación de semen de sementales clasificados como con buena o mala capacidad de congelación de semen. *Animal Reproduction Science*, 192, 107–118.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.02.020>
- Carreño Arteaga, M. A., Zambrano, J. J., Carreño Arteaga, N. P. (2022). El uso del áloe vera y la glucosa como elementos protectores para la conservación del semen porcino. *Polo del Conocimiento*, 7(11), 1940-1956. DOI: <https://doi.org/10.23857/pc.v7i11.4968>
- Carrillo González, D., y Hernández H, D. (2016). Caracterización seminal de individuos ovinos criollos colombianos de pelo en el departamento de Sucre. *Revista Colombiana de Ciencia Animal – RECIA*, 8(2), 197-203. <https://doi.org/10.24188/recia.v8.n2.2016.187>



Chango Cerón, S. C., Tasipanta Tasipanta, M. N., Masaquiza Aragón, J. J., Quinteros Pozo, O. R., y Quinteros Pozo, O. R. (2024). Análisis Descriptivo del Sistema de Producción Ovina, *Ovis Orientalis Aries*, en la Granja Querochaca de la FCAGP-UTA. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 8(1), 457-473.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i1.9430

Córdova Izquierdo, A., Pérez Gutiérrez, JF, Méndez Hernández, W., Villa Mancera, AE, & Huerta Crispín, R. (2016). Obtención, evaluación y manipulación del semen de verraco en una unidad de producción mexicana. *Revista Veterinaria*, 26 (1), 69.

<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106904>

Córdova Izquierdo, A., Villa Mancera, A. E., Gómez Vázquez, A., Bedolla Cedeño, C., Olivares Pérez, J., Sánchez Aparicio, P., Juárez Mosquera, M., Sánchez Sánchez, R. (2023). Efecto del diluyente sobre calidad espermática del semen ovino refrigerado. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal – ALPA*, 31, 5-7.

<https://doi.org/10.53588/alpa.310502>

Criado, C. y Moya, M. (2009). Vitaminas y antioxidantes. Departamento de medicina de la universidad autónoma de Madrid. (En línea). Madrid, ES. Consultado, 30 de enero. 2025. Formato PDF. Obtenido de Disponible en:

http://2011.elmedicointeractivo.com/Documentos/doc/VITAMINAS_Y_ANTIOX_EL_MEDICO.pdf

Cruz Paredes, S.V (2024). Efecto de la concentración de la Coenzima Q10 en la refrigeración de semen ovino. [Tesis doctoral, Universidad Católica de Cuenca]. Repositorio de Investigación Universidad Católica de Cuenca.

<https://dspace.ucacue.edu.ec/items/781e5b95-5c62-469e-9efc-4aefb9b67e80>

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

<https://www.redalyc.org/pdf/636/63653009012.pdf>

Davis, T.C y White, R.R. (2020). Cría de animales para alimentar a las personas: los múltiples roles de la reproducción animal para garantizar la seguridad alimentaria mundial. *Theriogenology*, 150, 27-33.



Flores, A.J, Fernández, A. V., Huamán U.H., Ruiz G.L., y Santiani A.A., (2010).

Refrigeration of canine semen using glucose, fructose, trehalose or sucrose to extend sperm survival. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 21(1), 26-34. Recuperado en 30 de enero de 2025, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172010000100004&lng=es&tlng=en.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.041>

Intriago Vera, J. E., y Vargas Mero, M. T. (2019). Efecto de la coenzima Q10 como antioxidante sobre las características espermáticas del semen fresco porcino [Título profesional, Universidad ESPAM MFL]. Repositorio Digital de la Universidad ESPAM MFL. <https://repositorio.esпам.edu.ec/bitstream/42000/1147/1/TTMV4.pdf>

Mansano Moscardini, M., Scott, C., Souza moura, D., Tarcísio Torre, L., Vallejo Aristizábal, V. H., Ferreira de Souza, F. (2014). Viabilidad de espermatozoides ovinos mantenidos a 5° y 15°C en diferentes sistemas de refrigeración. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 21(2), 122-126. <https://doi.editoracubo.com.br/10.4322/rbcv.2014.035>

Masoudi, R., Sharafi, M., Pourazadi. (2019). Improvement of rooster semen quality using coenzyme Q10 during cooling storage in the Lake extender. *Cryobiology*, 88, 87-91. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2019.03.003>

Pindaru, L., Cenariu, M., páll, E. (2016). Efectos de la Coenzima Q10 sobre la viabilidad espermática durante el almacenamiento de semen de verrago a 17°C. *Consensus*.

<https://www.semanticscholar.org/paper/EFFECTS-OF-COENZYME-Q-10-ON-SPERM-VIABILITY-DURING-Pindaru-Cenariu/390069caa5c2140f210c74330feb6acfa38910f8>

Pinzón Martínez, J y Herrera Rueda, L. (2022). Lesiones morfológicas y fisiológicas del estrés oxidativo en la criopreservación de la célula espermática del cerdo una revisión de literatura. Facultad de Ciencias de la Salud, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Bucaramanga. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12494/45789>

Rodríguez, M., & Nivia, A. (2017). Efecto de la adición de antioxidantes sobre la motilidad espermática post-criopreservación y fertilidad del semen de peces. *Revista Veterinaria*, 28 (2), 157. <https://doi.org/10.30972/vet.2822544>

Rodríguez-Almeida, F.A., Ávila Cota, C.O., Anchondo Garay, A., Sánchez-Ramírez, B., & Jiménez Castro, J.A. (2008). Capacitación espermática inducida por la conservación de



semen de carnero diluido, refrigerado o congelado. *Agrociencia*, 42(4), 399-406.

Recuperado en 30 de enero de 2025, de

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952008000400002&lng=es&tlng=es.

Rugeles-Pinto, C., Caicedo-Toro, R., Almentero-Suárez, C., Linares-Arias, J., & Vergara-Garay, O. (2013). Viabilidad de semen porcino refrigerado con diluyente MRA®. Nota técnica. *Revista Científica*, XXIII (3), 206-210. Recuperado de:

<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95926665007>

Sánchez R, A., y Zamora D, P. (2016). Efecto del Medio Hipoosmótico sobre la Vitalidad Espermática en Semen Canino. *Revista De Investigación Veterinarias Del Perú*, 27(2), 288-293. <https://doi.org/10.15381/rivep.v27i2.11649>

Sohail, T., Zhang, L., Wang, X., Jiang, C., Wang, J., Sun, X., y Li, Y. (2024). Astaxanthin improved the quality of Hu ram semen by increasing the antioxidant capacity and mitochondrial potential and mitigating free radicals-induced oxidative damage. *Animal: An Open Access Journal from MDPI*, 14(2). <https://doi.org/10.3390/ani14020319>

The jamovi project. (2022). jamovi (Versión X.X) [Software de computadora].

<https://www.jamovi.org>

Tisalema Shaca, M. O., Mira Naranjo, J. M., Valle Baldeón, S., Livi Marcatoma, J. (2024). Caracterización sociocultural y económica de producción de ovinos en comunidades indígenas, Tungurahua – Ecuador. *Revista de Estudios Interdisciplinarios en Ciencias Sociales*, 26(3), 975-992. www.doi.org/10.36390/telos263.12



Conflicto de intereses:

Los autores declaran que no existe conflicto de interés posible.

Financiamiento:

No existió asistencia financiera de partes externas al presente artículo.

Agradecimiento:

N/A

Nota:

El artículo no es producto de una publicación anterior.