



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE CARRERA: PECUARIA

**INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN
PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO
VETERINARIO**

**MODALIDAD:
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**TEMA:
EFECTO DE LA COENZIMA Q10 COMO ANTIOXIDANTE SOBRE
LAS CARACTERÍSTICAS ESPERMÁTICAS DEL SEMEN
FRESCO PORCINO**

**AUTORES:
JENIFFER ELIZABETH INTRIAGO VERA
MARÍA TERESA VARGAS MERO**

**TUTOR:
MV. MARCO ANTONIO ALCÍVAR MARTÍNEZ, Mg. Sc.**

CALCETA, DICIEMBRE DEL 2019

DERECHOS DE AUTORÍA

JENIFFER ELIZABETH INTRIAGO VERA Y MARÍA TERESA VARGAS MERO declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedemos los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su reglamento.

.....
JENIFFER E. INTRIAGO VERA

.....
MARÍA T. VARGAS MERO

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

MARCO ANTONIO ALCÍVAR MARTÍNEZ, certifica haber tutelado el proyecto **EFFECTO DE LA COENZIMA Q10 COMO ANTIOXIDANTE SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS ESPERMÁTICAS DEL SEMEN FRESCO PORCINO**, que ha sido desarrollada por **JENIFFER ELIZABETH INTRIAGO VERA** y **MARÍA TERESA VARGAS MERO**, previa la obtención del título de Médico Veterinario, de acuerdo con el **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACION DE LA UNIDAD DE TITULACIÓN ESPECIAL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria De Manabí Manuel Félix López.

.....
MV. MARCO ANTONIO ALCÍVAR MARTÍNEZ, Mg. Sc.

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **EFFECTO DE LA COENZIMA Q10 COMO ANTIOXIDANTE SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS ESPERMÁTICAS DEL SEMEN FRESCO PORCINO**, que ha sido propuesta, desarrollada por **JENIFFER ELIZABETH INTRIAGO VERA** y **MARÍA TERESA VARGAS MERO**, previa la obtención del título de Médico Veterinario de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Feliz López.

.....
MVZ. GUSTAVO ADOLFO CAMPOZANO MARCILLO, Mg. Sc.

MIEMBRO

.....
DR. JORGE IGNACIO MACIAS ANDRADE, Mg. Sc.

MIEMBRO

.....
DR. ERNESTO ANTONIO HURTADO, PhD.

PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar un sincero agradecimiento, en primer lugar, a Dios por ser mi guía y acompañarme en el transcurso de mi vida, brindándome paciencia y sabiduría para culminar mis metas propuestas.

A mis padres por ser mi pilar fundamental y haberme apoyado incondicionalmente, pese a las adversidades e inconvenientes que se presentaron y estuvieron a mi lado brindándome su apoyo y sus consejos para hacer de mí una mejor persona.

A la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FELIX LÓPEZ, por haberme brindado la oportunidad de haber culminado mis estudios superiores.

A todos mis amigos que han estado apoyándome para poder culminar mi trabajo de tesis en especial Edison y a mi compañera de tesis Teresa que gracias a los esfuerzos logrados hemos podido culminar nuestro trabajo.

A los docentes de mi carrera por todas las colaboraciones brindadas, que, gracias a sus conocimientos, hoy puedo sentirme dichosa.

A mi tutor de tesis Marcos Alcívar, por haberme guiado y por cada una de sus aportaciones que hicieron posible este proyecto.

A los miembros de mi tribunal de tesis Dr. Ignacio, Dr. Gustavo y especialmente al Dr. Ernesto por habernos ayudado en el trascurso de nuestro trabajo.

JENIFFER E. INTRIAGO VERA

AGRADECIMIENTO

A Dios por mantener siempre mi fe puesta en él, por darme vida, salud y amor, sin él no soy nada.

A mis papas que han sido parte importante en mi vida universitaria, les agradezco infinitamente por su apoyo tanto incondicional como moral y espiritual.

A la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FELIZ LÓPEZ quien me ha ayudado en la formación de mis conocimientos.

A mi hermana Martha por su apoyo incondicional que me brinda día a día gracias por ayudarme a seguir adelante.

A mi novio que ha estado siempre apoyándome de todas las maneras posibles para que mi sueño se hiciera realidad.

Mi tutor Marcos Alcívar quien siempre ha estado ahí dándome sus conocimientos y su apoyo millón gracias.

A mis amigos Katy y Edison que siempre han estado dispuestos a ayudarme en todo este tiempo transcurrido en mi tesis mil gracias chicos.

Y a mi compañera de tesis Jeniffer que sin ella no hubiéramos llegado hasta acá, gracias por ser buena compañera.

A mi tribunal de tesis quienes contribuyeron en todo este largo proceso, gracias por su tiempo y dedicación.

De manera especial un enorme agradecimiento al Dr. Ernesto Hurtado por su apoyo incondicional, en todo este proceso. Que Dios ilumine su camino y le de salud siempre.

MARÍA T. VARGAS MERO

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo lo dedico principalmente a Dios, por haberme dado la vida y la fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados y permitirme haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres quienes son mi motor y mi mayor inspiración, por su trabajo, sacrificio, valores y principios que me han inculcado en todos estos años, gracias a ustedes por el apoyo incondicional, amor y confianza he logrado llegar hasta aquí y culminar mi carrera profesional.

A mis hermanos (as) por estar siempre presentes, acompañándome y por el apoyo que me brindan a lo largo de esta etapa de mi vida.

A mi enamorado por el apoyo incondicional y su confianza puesta en mi para lograr un objetivo más en mi vida.

A mis abuelitos (as), tíos (as), primos (as) y a todas las personas que me han apoyado y han hecho que el trabajo se realice con éxito en especial a aquellos que abrieron sus puertas y compartieron sus conocimientos.

JENIFFER E. INTRIAGO VERA

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a Dios por brindarme sabiduría, paciencia, dedicación, fortaleza y Fe.

Mis papas Pedro y Alicia por darme tanto amor por inculcarme conocimientos que me han ayudado día a día a seguir mi camino los amo, y esto es para ustedes.

Mis hermanos Martha y Fabián por el apoyo incondicional que me brindan siempre.

Mis sobrinos Mathías y Lía que siempre serán parte importante de mi vida

A ti Milagros mi Ángel del cielo, la luz de mi vida, mi pedacito de cielo esto es por ti. Te amo y te amare por toda la eternidad.

MARÍA T. VARGAS MERO

CONTENIDO GENERAL

	Pág.
CARÁTULA.....	i
DERECHOS DE AUTORÍA.....	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR.....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO	v
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA	vii
DEDICATORIA	viii
CONTENIDO GENERAL.....	ix
CONTENIDO DE CUADROS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. Planteamiento y Formulación del Problema	1
1.2. Justificación.....	3
1.3. Objetivos	5
1.3.1. Objetivo General	5
1.3.2. Objetivos Específicos	5
1.4. Hipótesis	5
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Evaluación Seminal	6
2.2. Control Macroscópico.....	6
2.2.1. Temperatura.....	6
2.2.2. Volumen del Eyaculado.....	6
2.2.2.1 Fases del Eyaculado	6

2.2.3. Color	7
2.2.4. Olor	7
2.2.5. pH	7
2.3. Control Microscópico.....	8
2.3.1. Motilidad.....	8
2.3.2. Concentración.....	8
2.3.3. Mortalidad	9
2.3.4. Vitalidad	9
2.3.5. Normalidad.....	10
2.4. Capacitación Espermática.....	10
2.5. Envejecimiento Celular (Espermatozoides)	11
2.6. Crioconservación Espermática	11
2.7. Evaluación y Alteración que Afectan la Morfología del Acrosoma	12
2.8. Composición de la Membrana Plasmática de Espermatozoides en Diferentes Especies	13
2.9. Factores que Afectan la Célula Espermática durante el Proceso de Refrigeración.....	14
2.10. Los Antioxidantes	14
2.11. Función de los Antioxidantes.....	15
2.12. Red Antioxidante	16
2.13. Radicales Libres.....	16
2.14. Estrés Oxidativo	16
2.15. Clasificación de los Antioxidantes	17
2.15.1. Antioxidantes Enzimáticos.....	17
2.15.2. Antioxidantes No Enzimáticos	17
2.15.2.1. Vitamina C o Acido Ascórbico	18
2.15.2.3. Vitamina E o Tocoferol	18
2.15.2.4. Flavonoides Polifenólicos	18

2.16. Antioxidantes Sintéticos	18
2.16.1. El BHT (Butil Hidroxitolueno)	19
2.17. Efecto De Antioxidantes en las Características del Semen Porcino	19
2.18. Coenzima Q10	19
2.19. Investigaciones Realizadas con Antioxidantes en el Semen	23
2.19.1. Uso de Antioxidantes en la Criopreservación de Semen.....	23
2.19.1.1. Uso de la Vitamina C Y E	23
2.19.1.2. Uso de Aloe Vera	24
2.19.1.3. Uso del BHT	24
2.19.1.4. Uso de la CoQ10.....	24
2.20. Diluyentes Espermáticos	24
2.20.1. BTS (Beltsville Thawing Solution).....	25
2.20.2. Androstar Plus.....	25
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO.....	27
3.1. Ubicación De La Investigación	27
3.2. Características Climáticas	27
3.3. Duración Del Trabajo	28
3.4. Factor En Estudio.....	28
3.5. Tratamientos	28
3.6. Diseño Experimental	28
3.8. Unidad Experimental.....	29
3.9. Variables En Estudio.....	29
3.9.1. Variable Independiente	29
3.9.2. Variables Dependientes	29
3.10. Análisis Estadístico	30
3.11. Procedimiento	30
3.11.1. Manejo y Extracción del Semen Porcino	30

3.11.2. Evaluación Seminal.....	31
3.11.2.1. Examen Macroscópico	31
3.11.2.2. Examen Microscópico	31
3.11.2. Dilución Del Semen.....	32
3.11.3. Adición De Coenzima Q10	34
3.11.4. Envasado Del Semen Diluido.....	34
3.11.5. Almacenamiento del Semen Diluido.....	34
3.11.6. Evaluación Del Semen Almacenado	34
3.11.7. Evaluación Morfológica	34
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
4.1. Efecto de la Coenzima Q10 Sobre la Vitalidad Espermática de Semen Porcino Refrigerado	35
4.2. Efecto de la Adición de Coenzima Q10 sobre la Calidad y Funcionalidad de la Membrana Espermática en el Semen Porcino Refrigerado	38
4.3. Analisis de Costo del Uso de la Coenzima Q10 como Coadyuvante en Procesos de Refrigeración Semen Porcino.....	41
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	42
5.1. Conclusiones	42
5.2. Recomendaciones	43
BIBLIOGRAFÍA.....	44
ANEXOS.....	50

CONTENIDO DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 2.1. Clasificación de motilidad espermática	8
Cuadro 2.2. Composición del diluyente BTS	25
Cuadro 2.3. Composición del diluyente Androstar Plus	26
Cuadro 3.1. Características climáticas	27
Cuadro 3.2. Distribución de tratamientos.....	28
Cuadro 3.3. Esquema de análisis de varianza.....	29
Cuadro 3.4. Clasificación de motilidad espermática	32
Cuadro 4.1. Promedios y error estándar de la vitalidad espermática con respecto a los distintos niveles de CoQ10.....	35
Cuadro 4.2. Promedios y error estándar de la vitalidad espermática con respecto al efecto semanas.	36
Cuadro 4.3. Promedios y error estándar de la vitalidad espermática con respecto al efecto días.	36
Cuadro 4.4. Promedios y error estándar de la funcionalidad de membrana con respecto a los distintos niveles de coenzima Q10.	38
Cuadro 4.5. Promedios y error estándar de la funcionalidad de membrana con respecto al efecto semanas.....	39
Cuadro 4.6. Promedios y error estándar de la funcionalidad de membrana con respecto a los días.	39
Cuadro 4.7. Análisis de costo del uso de la coenzima q10 como coadyuvante en proceso de refrigeración semen porcino.	41

RESUMEN

El objetivo de esta tesis fue evaluar el efecto de la adición de coenzima Q10 sobre las características espermáticas del semen porcino refrigerado. Para ello se colectó un cerdo reproductor de raza Yorkshire de 30 meses de edad. Con los tratamientos organizados en un diseño DBCA con arreglo factorial (4 x 7), siendo estos: [T1: sin adición (Control, Androstar® Plus); T2: BTS +0,02 mg CoQ10; T3: BTS +0,04 mg de CoQ10, T4: BTS +0,06 mg CoQ10, sobre ml de semen]. Las variables a medir fueron: motilidad, normalidad, vitalidad, morfología (NAR, DAR, GCs). Los resultados fueron: los parámetros morfológicos no presentaron diferencia estadística ($P > 0,05$); en el factor días se destacó en las variables NAR el sexto día ($94,06 \pm 0,73$); DAR el séptimo día ($7,12 \pm 0,59$) y GCs el segundo día ($2,10 \pm 0,19$). Por otra parte, se encontró diferencia significativa ($P < 0,05$), en el efecto del antioxidante sobre la motilidad, donde se destacó en el primer día ($89,37 \pm 1,28$) y en la normalidad ($84,68 \pm 1,67$), mientras que en la vitalidad no hubo diferencia estadística ($P > 0,05$), sin embargo, se destacó el segundo día ($94,87 \pm 0,36$). En el análisis costo se encontró que al preparar una dosis seminal de duración de 7 días el BTS + CoQ10 costó \$1,20 y Androstar® Plus un costo de \$2,15 en el cual se ahorra \$0,90 centavos por dosis. Se concluye que la adición de CoQ10 podrán ser utilizadas para mejorar el rendimiento reproductivo y productivo en explotaciones porcícolas.

PALABRAS CLAVES

Morfología espermática, motilidad, normalidad, vitalidad, gota citoplasmática.

ABSTRACT

The objective of this thesis was to evaluate the effect of coenzyme Q10 addition on the sperm characteristics of refrigerated pig semen. For this, a 30-month-old Yorkshire breeding pig was collected from. With treatments organized in a DBCA design with factorial arrangement (4 x 7), these being: [T1: no addition (Control, Androstar® Plus); T2: BTS + 0.02 mg CoQ10; T3: BTS +0.04 mg of CoQ10, T4: BTS +0.06 mg CoQ10, over ml of semen]. The variables to be measured were: motility, normality, vitality, morphology (NAR, DAR, GCs). The results were: the morphological parameters did not show statistical difference ($P > 0.05$); in the day factor the NAR variables were highlighted on the sixth day (94.06 ± 0.73); DAR the seventh day (7.12 ± 0.59) and GCs the second day (2.10 ± 0.19). On the other hand, a significant difference ($P < 0.05$) was found, in the effect of the antioxidant on motility, where it was highlighted on the first day (89.37 ± 1.28) and in normality (84.68 ± 1.67), while there was no statistical difference in vitality ($P > 0.05$), however, the second day was highlighted (94.87 ± 0.36). About the cost analysis it was found that when preparing a seminal dose lasting 7 days, the BTS + CoQ10 cost \$1.20 and Androstar® Plus a cost of \$ 2.15 in which \$0.90 cents per dose is saved. It is concluded that the addition of CoQ10 may be used to improve reproductive and productive performance in pig farms.

KEY WORD

Sperm morphology, motility, normality, vitality, cytoplasmic gout.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

En la actualidad a nivel mundial se han desarrollado métodos y técnicas que contribuyen de manera benéfica a las explotaciones porcinas como la biotecnología reproductiva, que ha hecho avanzar tecnológicamente a dichas producciones, donde se observan resultados similares o superiores a los alcanzados en monta natural, evitando un desgaste en la libido de los machos y contribuyendo al mejoramiento genético (Núñez *et al.*, 2017).

En América, los métodos implementados por países como Canadá han ocasionado que lidere en biotecnologías reproductivas teniendo como finalidad obtener resultados que ayuden a mejorar la genética, conseguir un semen fresco y apto para la utilización e incrementar la producción del área porcina (Ochoa, 2002).

La necesidad que afronta la producción porcina Ecuatoriana necesita cada vez más el uso e implementación de estos recursos tecnológicos que puedan satisfacer la demanda que existen en estos sectores reproductivos que ayuden a alcanzar mayores niveles de producción y a su vez le permitan ser más competitivas (Ochoa, 2002).

La utilización de semen refrigerado en las Unidades de Producción Porcina, puede ser una opción a analizar, sobre todo para superar el tiempo en transportar a largas distancias donde la conservación de las características espermáticas es de vital importancia. Sin embargo, ciertos diluyentes de semen contribuyen con el mantenimiento de las células espermáticas, pero el costo de los mismos es elevado (Córdova *et al.*, 2016).

La refrigeración del semen produce daños celulares en los espermatozoides, tanto a nivel de la membrana plasmática como en las mitocondrias y el ácido desoxirribonucleico (ADN), debido a la formación de cristales de hielo dentro y fuera de la célula, así como también por el estrés osmótico y oxidativo que provocan los procesos de refrigeración (Rodríguez y Nivia, 2017).

De acuerdo a la literatura reportada se considera la importancia de los aditivos extensores de vida dentro del ámbito reproductivo porcino ya que brindan las condiciones óptimas para el mantenimiento de las mismas. Estas referencias permiten plantear la siguiente interrogante: ¿La adición de Coenzima Q10 como antioxidante mejorará las características funcionales de las células espermáticas porcinas durante el proceso de refrigeración, sin alterar su normal funcionamiento?

1.2. JUSTIFICACIÓN

A nivel mundial la refrigeración del semen en especies de producción ha sido catalogada como una técnica de gran interés en las explotaciones pecuarias, ya que permite la conservación de gametos tanto de especies productivas, así como reproductivas (Rodríguez y Nivia, 2017).

La conformación estructural y funcional del espermatozoide se ve influenciada por varios factores y de existir un efecto macho sobre el desarrollo normal del embrión, dicho efecto está estrechamente relacionado con la calidad espermática (Contreras *et al.*, 2016).

Mejía (2010) expresa que en América y algunos países Latinoamericanos el uso de semen refrigerado con un antioxidante puede contribuir algunas ventajas, como son el transporte a largas distancias; la conservación durante un tiempo muy prolongado con resultados productivos que mejoran paulatinamente a medida que progresan las investigaciones, debido a su efecto positivo que causa en las células.

Pallás (2015) afirma que el proceso natural de envejecimiento de los espermatozoides que se produce a lo largo de la refrigeración, también determina que las producciones se debiliten cuando se utiliza un semen congelado transcurrido cierto tiempo.

Rodríguez y Nivia (2017) aducen que para minimizar estos daños se han utilizado diversos medios diluyentes que no solo permiten su almacenamiento por largos periodos de tiempo, sino que también simulan las características fisiológicas del esperma, estos medios diluyentes contienen a su vez una o más sustancias crioprotectoras llamadas antioxidantes, que cumplen la función de evitar que moléculas se unan al oxígeno y así regular la permeabilidad de la membrana plasmática impidiendo su peroxidación lipídica.

Los antioxidantes están siendo utilizados como diluyente en el semen porcino para prolongar la vida de los espermatozoides; es allí que conociendo las características de la Coenzima Q10, tal como lo ha mencionado Ronquillo (2009), esta podría ser utilizada en el semen porcino y así se obtendrían

resultados óptimos para mejorar la calidad del material seminal en periodos de tiempo.

Cabe mencionar que la deficiencia que produce el material seminal va a influenciar tanto en los resultados reproductivos de las granjas porcinas, como productivos, es por esto que se opta por mejorar dicho contenido seminal, al añadir la coenzima Q10, se obtendrá una mayor prolongación de vida y con esto buenos resultados que mejorarán la producción del sistema.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la adicción de coenzima Q10 sobre las características espermáticas del semen porcino refrigerado.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar el efecto de los tres niveles adición de coenzima Q10 sobre la vitalidad espermática del semen porcino refrigerado.

Analizar el efecto de tres niveles de adición de la coenzima Q10 sobre la calidad y funcionalidad de la membrana espermática en proceso de refrigeración.

Establecer los costos del uso de la coenzima Q10 como coadyuvante en proceso de refrigeración semen porcino.

1.4. HIPÓTESIS

La adición de Coenzima Q10 como antioxidante sobre las características espermáticas del semen porcino refrigerado permite extender la vida de las células espermáticas, sin alterar su normal funcionamiento.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. EVALUACIÓN SEMINAL

Almaguer *et al.* (2015) mencionan que la reproducción del ganado porcino tiene un valor genético alto y compone una parte importante en la producción de animales, debido a que el verraco posee un alto índice reproductivo, que llevara a que obtenga mejores resultados en la evaluación seminal. La evaluación seminal es una de las técnicas más importantes en la industria porcina, ya que es un punto específico en el proceso de la inseminación artificial, debido a que el material seminal del animal pasa por una serie de evaluación que dará como resultado una buena calidad de semen.

2.2. CONTROL MACROSCÓPICO

2.2.1. TEMPERATURA

La temperatura es un indicador primordial para una buena evaluación de los espermatozoides, esta se refleja con diferentes parámetros que ayudan a que la célula este en buenas condiciones. A lo largo de todo este proceso la curva térmica ha sido de vital importancia, debido a que las bajas temperaturas menores 15°C dañan a la membrana de la célula, sufriendo alteraciones traumáticas por la refrigeración (Suhevic *et al.*, 2015).

El espermatozoide sale a una temperatura aproximadamente de 37 °C. De ahí hacia abajo se conserva bien; si bajamos hasta la congelación el soporte depende de la especie; en porcinos es de 12 a 15°C. Pero en temperatura de 42°C hacia arriba se destruyen totalmente a los espermatozoides, pues sus estructuras proteicas se coagulan (Huamán y Yaringaño 2013).

2.2.2. VOLUMEN DEL EYACULADO

Salazar (2014) indica que el volumen varía según la edad, tamaño testicular, raza y estado fisiológico de cada verraco, su fracción espermática entre 50 a 150 ml, y un eyaculado acerca de 250 ml.

2.2.2.1 FASES DEL EYACULADO

Las fases del eyaculado en porcino son: fase pre-espermática, fase espermática o fracción rica y fase gel o tapioca.

FASE PRE-ESPERMÁTICA

Del valle (2017) señala que esta fracción es la primera de todo el eyaculado, contiene sustancias contaminantes que podrían infectar el material seminal, su función es la de limpiar la uretra de bacterias y restos celulares, el volumen aproximado esta fracción es de 10-15ml, por lo cual es muy escaso y no necesario.

FASE ESPERMÁTICA O FRACCIÓN RICA

Tana (2017) asegura que esta es la fracción más importante que tiene todo el eyaculado esto se debe a que tiene un alto contenido de espermatozoides, esta surge después de la primera fase y su alto contenido depende de la contracción que realiza la cola del epidídimo, su volumen promedio es de 40-100 ml aproximadamente.

FASE GEL O TAPIOCA

Esta sustancia proviene de las glándulas bulbouretrales y está constituida de grumos gelatinosos que son extraídos durante todo el eyaculado, su cantidad es mínima (Tana, 2017).

2.2.3. COLOR

Córdova y Muñoz (2010) mencionan que el color del material seminal puede tener variación desde un blanco cremoso hasta llegar a un blanco lechoso, en todo caso su aspecto es de ser opaco, lo que muestra que habrá una gran concentración de espermatozoides.

2.2.4. OLOR

El semen del verraco debe presentar un olor típico característico del verraco, ya sea neutral o un olor sui generis, esto se debe a una cierta cantidad de feromonas del aparato genital. Si este llega a ser muy fuerte muestra que hay una contaminación con orina, ya sea por secreción prepuciales o contaminación por bacterias (Farías e Intriago, 2017).

2.2.5. pH

El pH del eyaculado de un verraco depende de la proporción que aporta las glándulas anexas y la porción del eyaculado su valor puede variar ya sea por la manipulación, tiempo, contaminación, concentración, impurezas, etc. Por todo

esto el eyaculado debe medirse al momento que se haya obtenido el semen. Se admiten valores de 6,4 a 7,4 para un eyaculado recién obtenido (Salazar 2014).

2.3. CONTROL MICROSCÓPICO

2.3.1. MOTILIDAD

Según Córdova y Muñoz (2010) los espermatozoides tienen una composición flagelar, esta le permite moverse en el lugar que se encuentren ya sea en la cavidad vaginal, en el útero o en las trompas uterinas. Hay diferentes tipos de movimiento de los espermatozoides entre ellos tenemos: vibratorio, circular, oscilatorio, progresivo lento o rápido. También se evalúa el comportamiento de los espermatozoides en su medio, ya que se debe tener en cuenta que el semen es muy susceptible y puede llegar a dañarse, a continuación, se presenta una tabla de clasificación de la motilidad de los espermatozoides:

Cuadro 2.1. Clasificación de motilidad espermática

ESCALA DE VIGOR ESPERMÁTICO DE ACUERDO A LA MOTILIDAD	
0	Espermatozoides inmóviles o muertos.
1	Espermatozoides sin movimiento progresivo, girando sobre sí mismo
2	Espermatozoides con movimiento anormal o eventualmente progresivo.
3	Espermatozoides sin movimiento progresivo lento y sinuoso
4	Espermatozoides sin movimiento progresivo muy rápido.
5	Espermatozoides sin movimiento progresivo enérgico.

Fuente: (Tana, 2017).

Restrepo *et al.* (2013) nos indica que la evaluación se mide mediante el método de observación directa de los espermatozoides en el microscopio con objeto de 4X, con una placa térmica, para estimular el movimiento del espermatozoide y se atemperada a los 37°C. Se ubica el semen en una porta objeto y se observa la presencia de ondas del material seminal, los resultados dependerán del rango establecido por el evaluador.

2.3.2. CONCENTRACIÓN

Córdova y Muñoz (2010) mencionan que la concentración da como resultado el número de espermatozoides por ml del eyaculado total, y la concentración esta

entre un 0.1 a 1.0 millones de espermatozoides, conjuntamente con el volumen del eyaculado establecen el número de dosis seminales que se utilizaran para una IA.

Aguilar (2015) señala que existen varias técnicas que se emplean en el conteo de espermatozoides, la más utilizada es la cámara de conteo de glóbulos rojos (cámara de Neubauer), que es una placa que tiene forma de porta objeto adaptada al microscopio, donde contiene una cuadrilla dividida en tres partes.

Esté autor menciona que esta técnica se la realiza ubicando una gota de semen y una solución formolada que es utilizada para la inmovilidad de los espermatozoides, está preparada a base de citrato de sodio y formol al 3% en diluciones con el esperma de 1:100, una vez puesta la gota de semen en la cámara se procede a realizar el respectivo conteo. Se debe comenzar el conteo desde la parte superior izquierda y seguir a la derecha, luego bajar con el margen inferior desplazándola a la izquierda.

2.3.3. MORTALIDAD

Para determinar la mortalidad espermática se ubica un porta objeto en la platina previamente atemperada a 37°C. Una gota de eosina-nigrosina y una gota de semen en la porta objeto y se realiza un frotis, se procede a secar la muestra respectivamente y se lleva a observar en el microscopio con el lente de 40x. Se contabiliza un promedio de 100 células espermáticas donde se consideró espermatozoides vivos a los que no se tiñeron por tener una membrana intacta, mientras que los espermatozoides teñidos con colorante eran los muertos (Ordoñez, 2017).

2.3.4. VITALIDAD

Ariagno y Mormandi (2016) indican que la vitalidad se realiza utilizando pigmentos o colorantes supra vitales llamados así, porque penetran la membrana plasmática de las células, si los espermatozoides están muertos estos se tiñen de rojo, cuya membrana plasmática está dañada y los espermatozoides vivos se verán sin colorantes sean móviles o inmóviles, esto es porque el colorante no puede atravesar la membrana plasmática estructuralmente intacta, de tal forma que un espermatozoide vivo será aquel

cuyo núcleo no este teñido de rojo. El porcentaje de espermatozoides vivos es mayor al 58%.

Castañeda (2018) menciona que las pruebas que se realizan para conocer la vitalidad espermática son, colocando una gota de semen fresco en el porta objeto previamente atemperado a 37°C en una platina térmica y se mezcla con una gota de eosina-nigrosina y se va homogenizando la muestra y realizando un extendido delgado en la placa y se deja secar la muestra para la respectiva observación en el microscopio. Se observa en el microscopio óptico y previamente se realiza el conteo de 200 células espermáticas por frotis, esto dará como resultado el porcentaje de espermatozoides vivos.

2.3.5. NORMALIDAD

Gallegos (2019) nos indica que las normalidades de los espermatozoides se realizan añadiendo en un porta objetos previamente atemperado una gota de semen diluido y una gota de eosina-nigrosina, se espera a que se seque la muestra y luego se procede a evaluar las normalidades o anormalidades que posee el espermatozoide. Las anormalidades en las muestras no deben superar el 20 al 30% de anormalidades espermáticas esto se debe a la mala nutrición del animal o condiciones climáticas donde se encuentre el verraco. El porcentaje de normalidad está en un 70 - 75% de células normales, cabe recalcar que en algunas investigaciones se ha observado que las normalidades espermáticas superan las expectativas de los investigadores.

2.4. CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA

Hernández (2013) define que, los espermatozoides son transportados desde el testículo a través del epidídimo y durante su tránsito las células espermáticas experimentan una fase de madurez en la que consiguen la capacidad de fecundar al óvulo. Esta maduración incluye cambios eficaces que incluyen el desarrollo de la motilidad, asimismo como la pérdida de la gota citoplasmática. El importante sitio de almacenamiento de los espermatozoides es la zona caudal del epidídimo y son sólo estos los que logran ser eyaculados, pero estos espermatozoides tienen que pasar por un estado de residencia en el tracto genital femenino antes de obtener la capacidad de penetrar un ovocito, fenómeno al cual se le conoce como capacitación.

La capacitación es un proceso que sufre una cascada de reacciones (salida de colesterol, fosforilación de proteínas, aumento intracelular de ión Ca^{2+}) que producen a una desestabilización y restauración de los lípidos y proteínas de la membrana plasmática, que acabará con la exocitosis del acrosoma cuando el espermatozoide entre en relación con la zona pelúcida, este paso es reversible, logra ser frenado mediante la relación de los espermatozoides con sustancias estabilizadoras de la membrana plasmática (Hernández, 2013).

2.5. ENVEJECIMIENTO CELULAR (ESPERMATOZOIDES)

Guachún (2017) define que parte de la reducción en la motilidad y fertilidad espermática asociada con la criopreservación podría ser debido al daño oxidativo por una excesiva e inapropiada formación de ROS, que potenciará el fenómeno de peroxidación lipídica en los espermatozoides funcionales, lo cual da lugar al “envejecimiento prematuro”, que provocará la muerte espermática en corto período de tiempo, que a su vez induciría un estrés funcional que terminará a corto plazo con la muerte de los espermatozoides.

Los ácidos grasos poli-insaturados son abundantes en la membrana plasmática de los espermatozoides porcinos, por lo que se tornan muy susceptibles al ataque de los radicales del estrés oxidativo (ROS) y que se ve agravado por los mismos procesos de maduración espermática por la cual pierden una gran parte de su citoplasma, y con ello el conjunto de defensas enzimáticas que los protegen de los daños peroxidativos. Buscando reducir los daños por oxidación en el esperma criopreservado se han utilizado algunos elementos como: Plasma seminal, sustancias con actividad similar a la superoxidodismutasa o catalasa, α -tocoferol, ácido ascórbico, glutatión, piruvato, taurina, hipotaurina, y albumina (Guachún, 2017).

2.6. CRIOCONSERVACIÓN ESPERMÁTICA

Flores *et al.* (2018) mencionan que, la conservación del semen en el cerdo es limitada debido a que los espermatozoides son muy sensibles a temperaturas menos de 15°C , las cuales producen daños en la membrana plasmática y en el acrosoma, afectando la viabilidad y funcionalidad de la célula espermática.

La crioconservación de las células reproductivas produce un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) y la disminución de su capacidad antioxidante, lo cual ocasiona una condición denominada 'estrés oxidativo'. Estos son responsables de ocasionar alteraciones celulares y de causar daño a las membranas de los espermatozoides y de la fragmentación de su ADN, entre otros factores que influyen en la fertilidad (Restrepo *et al.*, 2016).

Aunque los espermatozoides son sensibles al estrés oxidativo, también están equipados con un sistema antioxidante en el plasma seminal e intracelular, los cuales están conformemente integrados para dificultar los efectos tóxicos de las EROs. Entre el sistema antioxidante enzimático del semen destaca la superóxido dismutasa (SOD), y se ha podido comprobar que a lo largo de la curva de enfriamiento en el transcurso de criopreservación y en el post descongelamiento, la concentración de esta enzima disminuye, exponiendo a los espermatozoides a la acción de los RL (Flores *et al.*, 2018).

2.7. EVALUACIÓN Y ALTERACIÓN QUE AFECTAN LA MORFOLOGÍA DEL ACROSOMA

El acrosoma es una vesícula secretora derivada del aparato de Golgi, tiene enzimas proteolíticas como son la acrosina y hialuronidasa están resguardadas por la membrana acrosomal y son las responsables de la digestión de cúmulos Oophurus y zona pelucida del Ovocito, esta se encuentra en la cabeza del espermatozoide como un capuchón.

La presencia de alteraciones del acrosoma dependen del estado de fertilidad que se encuentra el animal, esto hace que la revisión del acrosoma sea más relevante al momento de la evaluación. El daño del acrosoma está relacionado al proceso de fecundación y al proceso de envejecimiento de la célula espermática, cabe recalcar que también se producen dichos daños por el choque térmico donde se expone el material seminal para las distintas evaluaciones.

Para la evaluación del acrosoma se considera algunos grupos de alteraciones que pueden influir en el rendimiento de los espermatozoides entre estos

tenemos: NAR (Normal Apical Ridge), DAR (Damaged Apical Ridge), MAR (Missing Apical Ridge) Y LAC (Loose Apical Cap).

Este criterio de evaluación fue descrito por Osorio *et al* (2007), siendo el Borde Apical Normal (NAR) que se caracteriza por tener el acrosoma intacto, Borde Apical Dañado (DAR) que presenta un desprendimiento en la parte posterior del borde apical y dejándolo ver como un acrosoma irregular.

Las técnicas que se deben emplear para evaluar la integridad del acrosoma según Gómez (2014) deben de ser exactas y confiables, donde para su valoración deben de ser evaluadas un pequeño número de células donde sean aptas de facilitar la diferenciación entre cada una de las anomalías que existen. Para realizar esta técnica se maneja un microscopio de contraste 100X con una solución fijadora de glutaraldehído al 2%.

2.8. COMPOSICIÓN DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES EN DIFERENTES ESPECIES

Reyes (2012) menciona que la membrana plasmática tiene una particularidad que es la subdivisión en zonas que difieren en composición y función la naturaleza heterogénea de la membrana plasmática del espermatozoide, como la localización de la carga superficial, marcaje con lectinas, congelación y corte para observación en microscopía electrónica, el uso de agentes intercalantes y el marcaje con anticuerpos. La composición de la membrana plasmática varía entre diferentes regiones del espermatozoide, que reflejan las funciones especializadas de los componentes intra y extracelulares del espermatozoide, que cambian la organización y composición durante la vida celular.

Se han notado diferenciaciones en la estructura lipídica de la membrana plasmática del espermatozoide entre especies, también la caracteriza de otros tipos celulares comunes. En tanto que el contenido de colesterol o glicolípidos en la membrana plasmática del espermatozoide es usual, contiene cantidades relativamente altas de plasmalógenos 20-40%, otros fosfolípidos con enlace éter y lípidos con cadenas alifáticas poli-insaturadas largas. Los fosfolípidos representan alrededor del 70% de los lípidos de la membrana plasmática del

espermatozoide del cerdo y la fosfatidilcolina es casi dos tercios de los fosfolípidos de los espermatozoides del carnero (Reyes, 2012).

2.9. FACTORES QUE AFECTAN LA CÉLULA ESPERMÁTICA DURANTE EL PROCESO DE REFRIGERACIÓN

Olivo *et al.* (2017) indican que el semen congelado del cerdo reduce la fertilidad y prolificidad en un 10-20% y 1 a 2 lechones equitativamente, que está por debajo del semen refrigerado, estos difieren entre razas incluso en eyaculados de un mismo individuo, este hecho puede explicarse porque la membrana del espermatozoide de cerdo es diferente a las de otras especies debido a su menor cantidad de colesterol. La calidad de semen congelado de cerdo disminuye con respecto a la del semen fresco o refrigerado, ya que un 50% de los espermatozoides no sobreviven al proceso de crioconservación y sufren daños bioquímicos (ralentización metabólica) como estructurales (cambios en la estructura de la bicapa lipídica de la membrana plasmática y de los orgánulos), que finalmente van a afectar la funcionalidad de los espermatozoides alterando la capacidad de fertilización.

Otro factor que afecta la calidad de los espermatozoides de cerdos durante la fase de crioconservación son las ligerezas y temperaturas de enfriamiento, una compensación sustancial de los cambios de la membrana plasmática puede atribuirse al enfriamiento de las células a 5°C, pero si los espermatozoides se conservan entre 15, 17 o 18°C durante cursos que van de las 10 a las 20 horas aumenta el porcentaje de la integridad de la membrana plasmática postdescogelación pero con baja de la motilidad. Las células espermáticas de los cerdos eyaculados son muy sensibles al choque frío, perdiendo apresuradamente su viabilidad al enfriamiento rápido a 0°C, no obstante, se ha justificado que la resistencia al frío se ve aumentada al hacer una pausa de 2 a 4 horas antes de disminuir la temperatura a menos de 15°C (Olivo *et al.*, 2017).

2.10. LOS ANTIOXIDANTES

Un antioxidante es una molécula capaz de retrasar o advertir la oxidación de un sustrato oxidable, procediendo como donante de electrones (agente reductor). Los seres vivos que utilizan el oxígeno para adquirir energía, liberan radicales libres, lo cual es incompatible con la vida a menos que existan mecanismos

celulares de defensa que los neutralice, ciertamente a estas defensas se las denomina antioxidantes. Los niveles bajos de los mismos, o la inhibición de las enzimas antioxidantes causan estrés oxidativo y pueden deteriorar o matar las células (Criollo, 2015).

Rodríguez y Nivia (2017) indican, que con el fin de proporcionar una alta sobrevivencia espermática post-descongelación, se han empleado diversos tipos de antioxidantes de naturaleza enzimática y no enzimática, los cuales benefician la respuesta de variables como la motilidad, viabilidad e integridad del ADN. Adicionalmente, se ha reportado que combaten el estrés oxidativo formado por el desbalance entre la producción y eliminación de las especies reactivas de oxígeno (ERO) durante los procesos de congelación y descongelación. También se ha encontrado que el uso de antioxidantes como el butil hidroxitolueno (BHT) en los medios de criopreservación de semen de algunas especies, aumentan los porcentajes de fertilidad, expresando una alta tasa de producción.

Se han probado también antioxidantes naturales tales como tocoferoles, ácido ascórbico, ácido docosahexaenoico y otros aditivos como el extracto de romero, aceite de salvado de arroz, extractos de té verde y algunos flavonoides que a pesar de no ser definidos como antioxidantes, que al ser añadidos a los medios de congelación ejercen un efecto protector sobre la membrana plasmática de los espermatozoides, manteniendo tanto su actividad metabólica, funcionalidad y vida al disminuir el estrés oxidativo, disminuyen las crio lesiones incrementando el sistema de defensa de los espermatozoides contra los procesos oxidativos producto de la criopreservación espermática (Guachún, 2017).

2.11. FUNCIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes tienen varias funciones, como impedir que moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar e interactuar más rápido con las especies reactivas de oxígeno en un determinado microambiente, dismutar el oxígeno para crear el peróxido de hidrógeno y resguardar a las células contra el anión superóxido, y regular la permeabilidad de la membrana plasmática frenando su peroxidación lipídica (Rodríguez y Nivia 2017).

2.12. RED ANTIOXIDANTE

Los antioxidantes plasmáticos e intracelulares yacen armónicamente integrados para obtener la máxima inhibición de las reacciones que generan radicales libres (RL). Se distribuyen preferentemente en los organelos que, por la magnitud de su actividad y rol metabólico, crean una mayor producción de radical libre, localizándose tanto en membranas como en el citosol. Existe una aprobación en que la defensa antioxidante en los organismos aerobios implica no solo a los antioxidantes preventivos que limitan la formación de ERO o capturan los RL intermediarios interrumpiendo las reacciones en cadena, sino también al complejo enzimático encargado de reparar a los constituyentes celulares dañados o alterados (Lizarbe, 2018).

2.13. RADICALES LIBRES

Son aquellas moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo. Esta configuración espacial les hace muy inestables, reactivos y de vida efímera, con una enorme capacidad para combinarse con la mayoría de las biomoléculas celulares (carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y derivados de cada uno de ellos) provocando un gran daño en ellas y en las membranas celulares (Criado y Moya 2009).

Para Venereo (2002) y Hicks *et al.* (2006), los radicales libres también tienen importantes funciones fisiológica en el organismo como la de que participan en la fagocitosis, favorecen la síntesis de colágeno, favorecen la síntesis de prostaglandinas, activan enzimas de la membrana celular, disminuyen la síntesis de catecolaminas por las glándulas suprarrenales, modifican la biomembrana y favorecen la quimiotaxis; en este sentido, Chihuailaf *et al.*, (2002) indicaron que los radicales libres se deben considerar que son benéficos o tóxicos, dependiendo de su concentración y de los mecanismos antioxidantes que los produzcan.

2.14. ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo de los espermatozoides, hace referencia al desgaste que sufre la integridad de todos sus compuestos estructurales y fisiológicos, esto lleva a que este estrechamente relacionado con el bajo porcentaje de

supervivencia al momento de ser eyaculados. Dicho estrés estimula una alta creación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Los autores recalcan que la pérdida de las funciones de los espermatozoides, las capacidades fecundantes por la aparición de muchas cantidades de ROS hacen que haya una mayor importancia de investigación en el tema de la conservación del semen de machos (Córdova *et al.*, 2009).

2.15. CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes se saben clasificar en enzimáticos y no enzimáticos; también pueden ser clasificados obedeciendo su mecanismo con el que realizan su acción protectora, agrupándolos en los que desempeñan una acción defensora en la cadena de RL y en aquellos que reparan o expulsan las biomoléculas que fueron dañadas por el ataque de RL (Hernández, 2013).

2.15.1. ANTIOXIDANTES ENZIMÁTICOS

Hernández (2013) menciona que, durante los procesos de oxidación, los sistemas biológicos previenen una gran cantidad de mecanismos, entre las cuales los antioxidantes tienen una importante ocupación en forma de enzimas; el sistema antioxidante del plasma seminal (PS) está compuesto por las enzimas superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GSH-Px), catalasa (CAT) y glutatión reductasa (GSH) este grupo de antioxidantes enzimáticos, catalizan la transferencia de electrones desde un sustrato hacia los RL.

2.15.2. ANTIOXIDANTES NO ENZIMÁTICOS

Córdova (2016) indica, que se componen de un grupo de moléculas hidrófobas e hidrófilas que encarcelan los RL y ocasionan especies químicas menos nocivas para la integridad celular, se encuentran primordialmente en el citosol, matriz mitocondrial y nucleares, y en fluidos extracelulares. Estos antioxidantes se unen a los RL y los trasladan a sitios donde pueden causar daños, como de la membrana hacia el citoplasma, o los convierten en radicales menos violentos. Entre este grupo de antioxidantes se encuentra la vitamina C y flavonoides polifenólicos.

2.15.2.1. VITAMINA C O ACIDO ASCÓRBICO

El procedimiento estándar más utilizado para la separación y el estudio de la vitamina C es la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). No obstante, este método solicita equipos altamente especializados y un mayor nivel de habilidad técnica. Conjuntamente, la localización de la vitamina C en el plasma o suero requiere cautela, ya que es un compuesto sencillamente oxidable. Debido a su facilidad de oxidación a neutral (fisiológica) o pH alcalino, se sugiere la acidificación plasma, preferible después de su separación por centrifugación (Huet, 2017).

2.15.2.3. VITAMINA E O TOCOFEROL

La medida de la vitamina E en suero, plasma, plaquetas y eritrocitos se efectúa por una técnica cromatografía HPLC-RPC (cromatografía líquida de fase reversa). Los compuestos de la muestra se pasarán dependiendo de la polaridad, los cuales se revelarán continuamente mediante espectrofotometría y se cuantificarán tras el balance de los picos con un prototipo estándarhur (Huet, 2017).

2.15.2.4. FLAVONOIDES POLIFENÓLICOS

Son una de las ascendentes clases de metabolitos secundarios de plantas, químicamente logran ser determinados como sustancias que tienen un anillo aromático conteniendo uno o más grupos hidroxilo. Los compuestos fenólicos están en los alimentos protegen ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides y taninos. Los flavonoides son compuestos con valioso poder antioxidante. Están formados por una gran familia de compuestos polifenólicos sintetizados por las plantas, son poderosos agentes antioxidantes que actúan como inactivadores de radicales libres o también como agentes quelantes de metales prooxidantes, como es el caso del hierro y del cobre (Gárate *et al.*, 2017).

2.16. ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS

Estos fueron desarrollados a partir de la insuficiencia de conseguir una defensa más efectiva y, al mismo tiempo, aumenta la económica relación a los antioxidantes naturales. Dentro de los antioxidantes sintéticos, cuatro de ellos son los más usados de la industria alimenticia y ahora para la conservación espermática: BHT, entre otros (Córdova, 2016).

2.16.1. El BHT (Butil Hidroxitolueno)

El butilhidroxitolueno, es conocido como BHT por sus siglas en inglés. Es un compuesto orgánico lipofílico, químicamente obtenido del fenol, que es usado como antioxidante. La especie actúa como un análogo sintético de la vitamina E, que trabaja principalmente como un agente de terminación al retener la autooxidación, un proceso por el cual compuestos orgánicos insaturados generalmente son atacados por el oxígeno atmosférico (Rubio, 2016).

2.17. EFECTO DE ANTIOXIDANTES EN LAS CARACTERÍSTICAS DEL SEMEN PORCINO

En el porcino la conservación del semen es muy delimitada esto se debe a que los espermatozoides tienen una sensibilidad a bajas temperaturas de 15°C, esto daña la membrana plasmática y también el acrosoma del espermatozoide y así mismo altera la función de la célula y la viabilidad (Vélez, 2016).

La conservación del material seminal es una de las técnicas más relevantes que se está utilizando en la industria porcina, debido a que juega un papel importante en mejorar la calidad de la genética en diferentes especies de animales y en este caso en cerdos, con esta tecnología se obtiene mejores resultados en producción y reproducción de animales, también en controlar enfermedades y aprovechar mejor los sementales y así obtener un mejor rendimiento económico (Pareja *et al.*, 2011).

Otros autores mencionan que la manipulación del semen altera un mejor desempeño de los espermatozoides, llegando a que el material seminal se vea expuesto a un bajo rendimiento en la evaluación microscópica, pese a esto se opta por la adición de antioxidantes que ayudan a que la vida del espermatozoide se alargue (Cocchia *et al.*, 2011).

Dichos antioxidantes son capaces de prolongar o prevenir la oxidación de las moléculas como son las ROS que protegen a la célula espermática y ayudan a la conservación del material seminal (Han *et al.*, 2012).

2.18. COENZIMA Q10

Es un potente antioxidante liposoluble presente en todas las células del cuerpo que procede de la dieta (carne, vísceras, pescado, sardinas, cacao, etc.) y

también es sintetizado en el organismo a partir de tirosina, fenilalanina y Acetil CoA. Se encuentra en todas las membranas celulares, principalmente en la de la mitocondria, donde participa en la cadena de respiración aeróbica. Además, potencia la respuesta del sistema inmune (su capacidad de producir anticuerpos), y como antioxidante es capaz de proteger el ADN de la acción de radicales libres y también de impedir la peroxidación lipídica (Criado y Moya, 2009).

La coenzima Q10 está localizada en las mitocondrias, aparte de ser componente esencial en toda la respiración, también interviene en la oxidación de todos los ácidos grasos, así como también regula las propiedades físicas y químicas de la membrana plasmática. Se han localizado otras funciones que permiten el transporte de electrones en otros sistemas redox asociados a membranas como es el complejo de Golgi y también la MP (Córdova, 2016).

Dicha coenzima es derivada de la quinona, su estructura es parecida al tocoferol y se la ha reconocido como un cargador adicional en la cadena respiratoria, cerca de 50% de la ubiquinona celular se halla en la mitocondria aunque su función antioxidante *in vivo* esta en controversia de su forma reducida, el ubiquinol posee una fuerte actividad antioxidante, también imposibilita que las ROS liberen la lipoperoxidación, así mismo participa en el reutilizamiento de la vitamina E en el ámbito mitocondrial (Chihuailaf *et al.*, 2002).

Matos (2017) dice que la COQ10 es una sustancia similar a una vitamina liposoluble que esta de forma natural en todas las células del cuerpo y que resulta muy importante para la producción de energía en ñas células. Dicha coenzima pertenece a la familia de las ubiquinonas, sustancias cuyo nombre hace referencia a que están presentes en todos los organismos celulares. En el cuerpo humano presenta tres formas en función de su estado oxido/ reducción. La forma oxidada se denomina «ubiquinona» (Q), la forma reducida «ubiquinol» (QH₂) y existe un estado intermedio de óxido-reducción en el que la molécula se llama «ubisemiquinona» (Q). El porcentaje de esta forma reducida presente en las membranas y en el suero fluctúa entre el 30 y el 90%, dependiendo del estado metabólico de la célula.

Estudios realizados con este antioxidante relatan que dicha coenzima se halla de forma original en los alimentos, que sujetan cantidades volubles según su genealogía. Las carnes rojas y las aves son las fuentes más ricas en CoQ10. según estudios realizados por investigadores manifestó que las mayores concentraciones de CoQ10 se encuentran en las carnes rojas (8-203 µg/g), en las aves (17 µg/g) y en el pescado (4-27 µg/g).

Mata (2015) asegura que la CoQ10 también llamada ubiquinona es una molécula primordial presente en todas las membranas celulares, membranas mitocondriales y en todas las células del cuerpo humano, su principal función es la de transportar electrones en la cadena respiratoria mitocondrial, así como también actúa como antioxidante en algunas células.

Este autor nos dice que la CoQ10 fue descubierta por primera vez en (1995) por Fetenstein, luego dos años más tarde fue aislada de las mitocondrias de corazones de ternera, donde descubrieron su capacidad en la regulación redox, también en la presencia de cadena de transporte de electrones (García, 2015). Esta coenzima cuida a la célula del daño oxidativo que puede causarle agentes intrínsecos como extrínsecos, otras de las funciones que ejerce dicha coenzima y que es de suma importancia para el metabolismo celular, es de estabilizar el sistema encargado de dar protección a la célula en la membrana plasmática, no solo realiza esa acción, sino que también protege a otras membranas como son membranas de los lisosomas y el retículo endoplasmático, todas estas membranas contienen un sinnúmero de elementos que ayudan a que la célula no se dañe.

Vallejo *et al.* (2017) relatan que la principal función de esta coenzima está relacionada con procesos los cuales están estrechamente relacionados con el oxígeno y los nutrientes transformándose en energía, esta a su vez actúan como escudo protector de las células frente a exposiciones del medio en que se encuentre formando una capa defensora.

Aparte de las funciones que cumple la coenzima Q10, también se desempeña como un potente antioxidante en diversas membranas y lipoproteínas plasmáticas donde reaccionan directamente contra radicales de oxígeno y

lipoperóxidos previniendo el daño a moléculas en distintos tejidos y partes celulares, así como también de forma indirecta por medio del reciclado de otros antioxidantes como son la vitamina E, y C. esta función que ejerce es de importante relevancia y ya que es conocido como el único y primer antioxidante lipofílico endógenamente sintetizado e $\dot{\text{c}}$ n todos los organismos vivos (Mata, 2015).

Estudios realizados muestran que esta coenzima sirve para diversos tipos de enfermedades ya sean cardio vasculares, infertilidad masculina, migrañas, Miopatía por estatinas, Cáncer, enfermedades dentales y enfermedades de Parkinson. También diferentes investigaciones relatan que es utilizada para la conservación del material genético.

Santos (2019) afirma que existen diferentes beneficios que desempeña la Coenzima Q10, de los cuales tenemos; la prevención de la formación del hidroperóxido, esto se da porque neutraliza los radicales después que se hayan formado, en investigaciones hechas en esperma de cabras utilizando CoQ10 en diluyentes muestran que tiene un mayor porcentaje de motilidad progresiva y una buena integridad de membrana plasmática.

El total de CoQ10 que una persona puede incorporar regularmente a través de la dieta es muy variable y va a depender del tipo de alimentación que tenga. En ciertos países europeos, se aprecia que puede alcanzar a tener alrededor de los 10 mg, aunque un estudio realizado demostró que los daneses ingerían una media de entre 3 y 5 mg de CoQ10 al día, sin embargo, las vísceras de los animales (corazón, hígado, riñones, etc.) ya no suelen constituir parte habitual de los menús semanales y muchas personas tienen dietas bajas en carne roja y pescado, de modo que algunos autores consideran que la ingesta de CoQ10 puede ser subóptima (García, 2015).

Este mismo autor menciona que la CoQ10 es examinada como un antioxidante intracelular, también considerada como un protector del daño oxidativo en los fosfolípidos de la membrana, la proteína de la membrana mitocondrial y la lipoproteína de baja densidad, y ejerce en el organismo como un antioxidante endógeno no enzimático protegiendo a las células, y en especial a las

membranas celulares, de los daños que los radicales libres pueden inducir en importantes componentes como el ADN, los lípidos y las proteínas. La CoQ10 tiene también una actividad antioxidante indirecta muy importante, pues recupera los radicales tocoferil reduciéndolos a tocoferol. Las concentraciones plasmáticas de CoQ10 se han manejado como marcador de estrés oxidativo. Además, distintos estudios han probado la relación directa entre niveles bajos de CoQ10 en el organismo, los procesos de envejecimiento y distintos procesos degenerativos vinculados al estrés oxidativo.

2.19. INVESTIGACIONES REALIZADAS CON ANTIOXIDANTES EN EL SEMEN

Morani *et al.* (2004) argumentan que investigaciones hechas con antioxidantes en el manejo de la conservación de semen ovino, causa que tenga una baja viabilidad, motilidad y una crecida de la capacitación espermática. Puede ser que durante el proceso de conservación se produzca un aumento de las ROS y una disminución de las enzimas antioxidantes que se encuentran en el semen.

Santiani (2003) menciona que existen diversas investigaciones en ovino donde precisan si la adición de antioxidantes al material seminal podrá disminuir el daño que sufre la membrana hecho por las ROS. La adición de algunos antioxidantes, tal es el caso de hidroxitolueno butilado, tocoferol, lacto albúmina, seroalbúmina taurina y análogos de la superóxido dismutasa regeneran significativamente la motilidad, viabilidad e integridad de membrana luego del proceso de criopreservación.

Lanconi (2018) afirma que estudios realizados en semen equino tienen mucha variabilidad entre el semen de los machos, debido a que influye al momento de la conservación del material seminal, es por esto que la adición de la CoQ10 mejora la calidad seminal del semental.

2.19.1. USO DE ANTIOXIDANTES EN LA CRIOPRESERVACIÓN DE SEMEN

2.19.1.1. USO DE LA VITAMINA C Y E

Córdova (2015) menciona, que se ha notado que en la actualidad al añadir antioxidantes tales como las vitaminas C y E, al diluyente de los espermatozoides antes de proceder a la congelación y descongelación, se

reduce el grado de peroxidación lipídica de la membrana plasmática y las células espermatozoides han mejorado su duración en conservación de la motilidad, la viabilidad e integridad acrosomal posteriormente del proceso de descongelación.

2.19.1.2. USO DE ALOE VERA

Guachún (2017) reporta que, el Aloe vera aporta un mayor nivel de capacidad antioxidantes acatando el periodo de madurez, lo que indica que la planta tiene distintas concentraciones en sus compuestos activos y varios valores de capacidad antioxidante, que se ha venido adicionando en los diluyentes de conservación y congelación de semen en ciertas especies, como en la dilución del semen de ganado ovino.

2.19.1.3. USO DEL BHT

Se ha utilizado el antioxidante BHT que adicionado al medio de dilución espermática, aumentó la movilidad e integridad acrosómica tras un choque por frío a 5°C y disminuyó considerablemente la peroxidación lipídica del semen criopreservado, ofreciendo un alto desarrollo embrionario, asimismo se han adicionado otros antioxidantes en el medio de enfriamiento, congelación y descongelación como son la el α -Tocoferol (Vitamina E), el Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), glutatión (GSH) y el superóxido dismutasa con resultados favorables (Guachún, 2017).

2.19.1.4. USO DE LA CoQ10

Matos (2017) menciona que, la CoQ10 puede mitigar el estrés oxidativo en PS, aportando características seminales mejoradas y actividad de enzimas antioxidantes. En los espermatozoides del toro, se empleó en el semen descongelado, haciendo incubación in vitro a 37°C durante cinco horas, efectuando valoraciones cada 1 hora, dando como resultado, que conservó los parámetros de las células espermáticas, previno la peroxidación lipídica y evitó la fragmentación del ADN espermático.

2.20. DILUYENTES ESPERMÁTICOS

Los diluyentes espermáticos son sustancias que tienen la capacidad e aumentar el volumen del eyaculado y generar un medio de sobrevivencia, estos

protegen a los espermatozoides durante las fases de enfriamiento, descongelación y congelación, también proporcionan una especie de tampón que protegen a la célula de cambios bruscos de temperatura. Los diluyentes se clasifican por ser de larga, media y corta duración, pero algunos autores mencionan que el tiempo de conservación es relativo debido que existen factores que afectan directamente a la capacidad de conservación del diluyente (Guachún, 2017), los diluyentes poseen una serie de elementos como son citrato de sodio, bicarbonato de sodio, tris-hidroximetil aminometano (TRIS); ácido 2-N-morfolino etanosulfónico (MOPSn) y el ácido N-2hidroxietilpiperazina-N-2-etanosulfónico (HEPES) estos son sustancias que amortiguan y que permiten controlar el pH.

2.20.1. BTS (BELTSVILLE THAWING SOLUTION)

Cuenca *et al.* (2017) expresa que el BTS es un diluyente creado en Beltsville, por el Dr. Pursel en Estados Unidos es de corta duración dependiendo la calidad del semen y de su manipulación, este diluyente está compuesto por glucosa, bicarbonato de sodio, citrato de sodio y cloruro de potasio. Además, tiene bajo costo de utilización permitiendo mantener viable los espermatozoides a 17C° durante unos 5 días, manteniendo así un alto porcentaje de preñez.

Cuadro 2.2. Composición del diluyente BTS

Composición del diluyente BTS	
Componentes	g/L
Glucosa(anhidra)	37
Citrato de Sodio (2)	6
Bicarbonato de Sodio	1,25
EDTA (disodio)	1,25
Cloruro de potasio	0,75
Neomicina sulfato	-
Penicilina G (Na)	0,6
Dihidroestreptomina	1

Cuenca *et al.* (2017)

2.20.2. ANDROSTAR PLUS

Este diluyente permite conservar el material seminal del verraco durante 7 días. Tiene factores protectores de membrana donde mantienen la integridad de los espermatozoides, debido a choque térmico ya sea por temperatura, transporte o dilución. Está compuesto por Glucosa: Citrato de Sodio, EDTA, Bicarbonato de Sodio, Estabilizador de membrana, Antioxidante, Antibióticos. La manera de

preparación es vertiendo el polvo en agua destilada previamente temperada (BIOTAY, 2018).

Cuadro 2.3. Composición del diluyente Androstar Plus

Composición del diluyente Androstar Plus	
Componentes	g/L
Glucosa(monohidrato),g/L	26
Citrato de Sodio(2), g/L	8
Bicarbonato de Sodio, g/L	1,2
EDTA(disodio), g/L	2,4
BSA(fraccion V)	2,5
Neomicina sulfato, g/L	-
Penicilina G (Na), g/L	0,6
Dihidrostreptomina, g/L	1

(BIOTAY, 2018).

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN



La siguiente investigación se realizó en los predios de la Unidad de Docencia Investigación y Vinculación (UDIV) Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López (ESPAM-MFL) en el sitio El Limón, cantón Bolívar, situado geográficamente entre las coordenadas 0° 49' 23" latitud sur; 80° 11' 01" longitud oeste y una altitud de 15 msnm.

3.2. CARACTERÍSTICAS CLIMÁTICAS

Las características climáticas en el sitio El Limón, de la parroquia Calceta ubicada en el cantón Bolívar de la Provincia de Manabí son:

Cuadro 3.1. Características climáticas

Variables	Valor
Precipitación media anual	782,60 mm
Temperatura media anual	26,05 °C
Humedad relativa anual	81,40%
Heliofanía anual	1109,80 Horas/sol
Evaporación anual	1256,30 mm

FUENTE: Estación Meteorológica de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López" (2019).

3.3. DURACIÓN DEL TRABAJO

El trabajo de investigación tuvo una duración de 8 meses.

3.4. FACTOR EN ESTUDIO

Coenzima Q10 (0,00; 0,02; 0,04; 0,06 mg/mL)

Días (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7)

3.5. TRATAMIENTOS

Para la evaluación del efecto de la adición de la Coenzima Q10 como antioxidante en el semen fresco porcino, fueron constituidos por dos tipos de diluyentes que fueron Androstar® Plus (Diluyente de 7 días sin adición de CoQ10) y BTS (Diluyente de 3 días con adición de CoQ10). Los tratamientos que se fijaron para la investigación fueron los siguientes:

Cuadro 3.2. Distribución de tratamientos.

TRATAMIENTOS	DESCRIPCIÓN	
T1	Androstar Plus (7 días)	Sin CoEnzima Q10
T2	BTS (7 días)	0,02 mg CoQ10/ml semen
T3	BTS (7 días)	0,04 mg CoQ10/ml semen
T4	BTS (7 días)	0,06 mg CoQ10/ml semen

3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

La investigación se organizó en un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA), con arreglo de tratamientos factorial (4 x 7), sin interacción. Siendo el factor A, la adición de la coenzima Q10 y el factor B los días de la semana transcurridos durante la evaluación. Se consideró la extracción de semen en las distintas semanas como el efecto de bloque, representados en cuatro repeticiones.

Se utilizó el siguiente modelo estadístico:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \delta_k + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} : Observación k-ésima del i-ésimo nivel del factor A y j-ésimo nivel del factor B, en el k-ésimo bloque

μ : Media general.

α_i : Efecto del i-ésimo nivel del factor A (Niveles de inclusión de Coenzima)
i=1,2,3 y 4

β_j : Efecto del j-ésimo nivel del factor B (Días de la semana) j= 1,2,...7

δ_k : Efecto del k-esimo bloque (semana) k=1...4

ε_{ijk} : Efecto aleatorio o error experimental con media cero y varianza común.

Cuadro 3.3. Esquema de análisis de varianza

FUENTES DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD
Error experimental	99
Factor A (Niveles de Coenzima)	3
Factor B (Días de evaluación)	6
Bloques (Semanas)	3
Total	111

3.8. UNIDAD EXPERIMENTAL

Se utilizó como unidad experimental 50 ml de semen diluido, extraído en cerdo de la raza Yorkshire durante cuatro semanas y evaluados en cada uno de los niveles de la CoQ10 durante siete días; para un total de 112 observaciones.

3.9. VARIABLES EN ESTUDIO

3.9.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

Coenzima Q10

Días

3.9.2. VARIABLES DEPENDIENTES

Motilidad (%)

Normalidad (%)

Vitalidad (%)

NAR (Borde Apical Normal)

DAR (Borde Apical Dañado)

GCs (Gota Citoplasmática)

Costo/Beneficio (\$)

3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La variabilidad de las respuestas de los parámetros reproductivos y características morfológicas como consecuencia de los factores de estudio, fue analizada a través del análisis de varianza, utilizando un procedimiento lineal general. Previamente se comprobó el supuesto de homogeneidad de varianza (Prueba de Bartlett). Las variables gota citoplasmática y normalidad no cumplieron el supuesto precitado, se procedió a la transformación por medio de los artificios matemáticos (Logaritmo), y la variable vitalidad se realizó por la vía no-paramétrica, no acepto transformación.

Las comparaciones de medias de rango múltiple por medio de la prueba de Tukey (5%), fueron realizadas para las variables que resultaron significativas ($P < 0,05$).

Las técnicas estadísticas mencionadas se realizaron por medio del software estadístico SAS versión 9.4 (2013).

3.11. PROCEDIMIENTO

3.11.1. MANEJO Y EXTRACCIÓN DEL SEMEN PORCINO

Se realizó la extracción del semen del verraco, ubicado en la Unidad de Docencia, Investigación y Vinculación Hato Porcino de la carrera de Medicina Veterinaria, la técnica que se utilizó fue la de la mano enguantada donde la monta se la hizo en un maniquí o potro, simulando ser la hembra y se procedió hacer la colecta. Se colecto cuatro eyaculados, que consistieron uno por cada semana durante un mes, el material seminal fue colocado en una bolsa de colección con un filtro de papel que se encontraba dentro del vaso de colecta,

solo se colecto la fracción rica del semen. Posteriormente se llevó al laboratorio para el análisis microscópico y macroscópico.

3.11.2. EVALUACIÓN SEMINAL

3.11.2.1. EXAMEN MACROSCÓPICO

VOLUMEN

El volumen se midió con una balanza digital donde se ubicó la funda de colecta con el material seminal. Peñafiel, (2018) afirma que, el volumen del eyaculado normal para los animales jóvenes es de 8 a 12 meses es de 100 a 300 ml; para los mayores de 12 meses, de 100 a 500 ml, cabe mencionar que el volumen también puede variar dependiendo de la raza, del estado del animal y de la nutrición del verraco.

COLOR

El color normal del semen del verraco es blanco lechoso, se considera colores anormales el amarillo, rojizo, café, lo cual nos indica que tiene procesos infecciosos.

OLOR

El olor característico del semen es sui generis, este se caracteriza por estar ligado a feromonas del aparato genital.

pH

El pH del eyaculado va depender de la proporción que constituye las glándulas anexas, se mide con las tiritas de ph, siendo el valor normal 6.4 a 7.5.

3.11.2.2. EXAMEN MICROSCÓPICO

MOTILIDAD

Esta prueba se la realizó con una micropipeta tomando una muestra del semen y poniendo una gota en el portaobjeto previamente calentado a una temperatura de 37°C y se colocó el cubre objeto llevando la muestra para observarla en el microscopio. Se observaron los movimientos circulatorios, rectilíneos y estos fueron expresados en porcentajes, donde la técnica que se la realizo fue con el método subjetivo, donde en la siguiente tabla se detalla la escala de motilidad a utilizar

Cuadro 3.4. Clasificación de motilidad espermática

ESCALA DE VIGOR ESPERMATICO DE ACUERDO A LA MOTILIDAD	
0	Espermatozoides inmóviles o muertos.
1	Espermatozoides sin movimiento progresivo, girando sobre sí mismo
2	Espermatozoides con movimiento anormal o eventualmente progresivo.
3	Espermatozoides sin movimiento progresivo lento y sinuoso
4	Espermatozoides sin movimiento progresivo muy rápido.
5	Espermatozoides sin movimiento progresivo enérgico.

Fuente: (Tana, 2017).

VITALIDAD Y MORTALIDAD

En la vitalidad y mortalidad de los espermatozoides se realizó utilizando colorantes denominados eosina-nigrosina, donde se coloca una gota de semen en un portaobjeto y una gota de eosina-nigrosina y se hace el frotis dejando secar por unos minutos, luego se procede a evaluar la muestra en el microscopio, donde los espermatozoides que se tiñen de colorante están muertos y los que no se tiñen están vivos. Para obtener el porcentaje se contaban 100 células dispersas en la placa y se utilizaba la siguiente formula:

$$\text{Mortalidad} = \frac{\text{Espermatozoides Vivos} * 100 \text{ Celulas espematicas}}{100\%} \quad [3.1]$$

NORMALIDAD

Esta técnica se realizó en el microscopio empleando la técnica de tinción donde permitió observar el aspecto general de los espermatozoides y su integridad acrosomal.

3.11.2. DILUCIÓN DEL SEMEN

Se realizó la extracción de una gota de semen con una micro pipeta y se la ubicó en un tubo de endor donde procedimos a ubicar en la cámara de Neubauer y posteriormente observamos en el microscopio, luego se hizo el cálculo para determinar la concentración espermática.

Para preparar la dosis se determinó la concentración con la que se trabajó todas las dosis seminales. Hay diferentes criterios sobre la concentración

precisa para trabajar, pero en si siempre se trabaja entre 2.5 y 5×10^9 espermatozoides por cada dosis seminal. Se utilizó la siguiente fórmula para la determinación del número de dosis (Farías e Intriago, 2017):

$$N = \frac{(A)(VE)}{C} \quad [3.2]$$

Donde:

N= Número de dosis

A= Número total de espermatozoides (determinado en la prueba de concentración)

VE= Volumen del eyaculado (determinado en la evaluación del eyaculado)

C= Concentración que se desea en la dosis seminal (Ej.: 3×10^9)

Una vez determinado el número total de dosis, se pudo determinar el volumen total de eyaculado y extensor que debemos utilizar (Aguilar, 2015):

Fórmula para la determinación del volumen total:

$$VT = (N)(CB) \quad [3.3]$$

Donde:

VT= Volumen total

N=Número de dosis (determinado de la fórmula anterior)

CB= Capacidad de la botella de inseminación (Dependiendo del equipo que tengamos, en este caso 90 CC)

Como último paso se obtuvo la cantidad de extensor a mezclar al eyaculado, partir de la fórmula anterior.

Fórmula para la determinación de la cantidad de extensor a utilizar (Farías e Intriago, 2017):

$$E = VT - VE \quad [3.4]$$

Donde:

E= Cantidad de extensor a utilizar

VT=Volumen total (determinado del resultado de la fórmula anterior)

VE= Volumen del eyaculado (determinado de la evaluación del eyaculado)

3.11.3. ADICIÓN DE COENZIMA Q10

La colecta fue dividida por igual para todos los tratamientos y se prepararon 21 muestras con 50 ml, repartidas en 3 tratamientos con diluyente BTS para la adición de la coenzima Q10 en concentraciones de 0,02 mg/ml; 0,04 mg/ml; 0,06 mg/ml del antioxidante y un tratamiento testigo con diluyente Androstar® Plus (sin aplicación de CoQ10) donde se preparó 7 muestras con 50 ml. Cabe recalcar que cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones.

3.11.4. ENVASADO DEL SEMEN DILUIDO

Se procedió al llenado de las botellas de inseminación, se colocó aproximadamente 50ml de semen diluido por botella y se rotulo las botellas.

3.11.5. ALMACENAMIENTO DEL SEMEN DILUIDO

Envasadas las dosis seminales, se almacenaron en la nevera a una temperatura entre 15°C a 20°C.

3.11.6. EVALUACIÓN DEL SEMEN ALMACENADO

Se evaluó los 4 tratamientos cada 24 horas, mediante el microscopio donde se cuantificó la motilidad, Vitalidad, normalidad por 7 días.

3.11.7. EVALUACIÓN MORFOLÓGICA

Para la evaluación de las placas seminales, anteriormente hechas mediante un frotis, se la realizo ubicando una gota de aceite de inmersión en cada una de las placas, donde se evaluó las diferentes anomalías presentes en los espermatozoides, siendo estas: Borde Apical Normal (NAR), Borde Apical Dañado (DAR) y Gotas Citoplasmáticas que pueden ser proximal, medial y distal (GCs).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. EFECTO DE LA COENZIMA Q10 SOBRE LA VITALIDAD ESPERMÁTICA DE SEMEN PORCINO REFRIGERADO

Como se puede observar en el cuadro 4.1 no se encuentra diferencia estadística en el parámetro de borde apical normal, sin embargo, hubo una mayor normalidad en el T1 y T4 ($95,42 \pm 0,27$); mientras que en el Borde Apical Dañado se destacó el T2 ($3,67 \pm 0,69$). Por otra, parte en la incidencia de Gota Citoplasmática hubo presencia de diferencia estadística ($P < 0,05$) obteniendo un mayor promedio en el T3 con $2,16 \pm 0,10$ (Ver Anexo 27 y 28).

Cuadro 4.1. Promedios y error estándar de la vitalidad espermática con respecto a los distintos niveles de CoQ10.

Tratamientos (CoQ10)	NAR		DAR		GCs [€]	
	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar
T1	$95,42 \pm 0,27$		$3,25 \pm 0,55$		$1,53^b \pm 0,14$	
T2	$92,64 \pm 0,56$		$3,67 \pm 0,69$		$2,15^a \pm 0,14$	
T3	$93,85 \pm 0,41$		$3,03 \pm 0,48$		$2,16^a \pm 0,10$	
T4	$95,42 \pm 0,27$		$3,39 \pm 0,45$		$2,10^a \pm 0,11$	

^{a, b} Letras distintas en las filas difieren estadísticamente al 5% (Tukey)

NAR: Borde Apical Normal; **DAR:** Borde Apical Dañado; **GCs:** Gota Citoplasmática; **T1:** Tratamiento de Androstar Plus sin adición de CoQ10; **T2:** Tratamiento de BTS + CoQ10 (0,02 mg/ml); **T3:** Tratamiento de BTS + CoQ10 (0,04 mg/ml); **T4:** Tratamiento de BTS + CoQ10 (0,06 mg/ml)

[€] Promedios resultantes de la transformación a logaritmo

En el cuadro 4.2 se observa que no existe diferencia estadística en los parámetros morfológicos con respecto a las distintas semanas, donde se encontró una mayor normalidad en el borde apical en el S2 ($94,92 \pm 0,37$). Por otra parte, en las variables Borde Apical Dañado y Gota Citoplasmática se encontraron diferencia estadística ($P > 0,05$) donde se destacó DAR el S2 con ($4,89 \pm 0,39$) y en GCs con un promedio de ($2,45 \pm 0,16$) en el S1 (Ver Anexo 30).

Cuadro 4.2. Promedios y error estándar de la vitalidad espermática con respecto al efecto semanas.

Semanas	NAR		DAR		GCS [€]	
	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar
1	93,75 ± 0,52		1,64 ^b ± 0,46		2,45 ^a ± 0,16	
2	94,92 ± 0,37		4,89 ^a ± 0,39		2,10 ^{ab} ± 0,14	
3	94,57 ± 0,54		3,17 ^{ab} ± 0,67		1,61 ^c ± 0,09	
4	94,10 ± 0,31		3,64 ^a ± 0,46		1,79 ^{bc} ± 0,06	

^{a, b, c} Letras distintas en las filas difieren estadísticamente al 5% (Tukey)

NAR: Borde Apical Normal; **DAR:** Borde Apical Dañado; **GCS:** Gota Citoplasmática; [€] Promedios resultantes de la transformación a logaritmo

El análisis de varianza para el efecto día no presentó diferencias estadísticas ($P > 0,05$) para las variables NAR, DAR Y GCs (Ver Anexo 27). Como se puede observar en el cuadro 4.3 los parámetros morfológicos con respecto a los días, donde se encontró una mayor normalidad en el borde apical en el sexto día ($94,06 \pm 0,73$); mientras que en la variable Borde Apical Dañado se destacó el séptimo día con ($7,12 \pm 0,59$) y en la Gota Citoplasmática al segundo día con un promedio de ($2,10 \pm 0,19$).

Cuadro 4.3. Promedios y error estándar de la vitalidad espermática con respecto al efecto días.

Días	NAR		DAR		GCS [€]	
	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar
1	93,87 ± 0,87		5,37 ± 0,67		1,78 ± 0,19	
2	93,06 ± 0,77		6,12 ± 1,08		2,10 ± 0,19	
3	93,50 ± 0,58		6,62 ± 0,59		1,98 ± 0,13	
4	93,00 ± 0,84		6,06 ± 0,85		1,91 ± 0,18	
5	93,68 ± 0,76		5,87 ± 0,81		2,05 ± 0,15	
6	94,06 ± 0,73		5,81 ± 0,67		2,01 ± 0,24	
7	92,18 ± 0,48		7,12 ± 0,59		2,07 ± 0,15	

NAR: Borde Apical Normal; **DAR:** Borde Apical Dañado; **GCS:** Gota Citoplasmática

[€] Promedios resultantes de la transformación a logaritmo

Estos resultados son parecidos a los obtenidos por Córdova *et al.* (2015) quienes demostraron en estudios realizados que la implementación de

antioxidantes en la refrigeración de semen porcino refrigerado no altera la calidad del borde apical normal de las células espermáticas durante los primeros 7 días, lo que los hacen candidatos para prometedores en la conservación seminal de porcinos.

De la misma manera Córdova (2010) expresa que la inclusión de antioxidantes previo a la refrigeración de semen porcino, no desfavorece la calidad de las células espermáticas, lo que podría considerarse como una alternativa en la congelación de semen de verracos.

Los promedios obtenidos son similares a los encontrados por Díaz *et al.* (2009) donde afirman que las células espermáticas con daño en borde apical en semen porcino refrigerado oscilan entre 3,85% y 6,40%; lo cual puede ser causado por el almacenamiento en cadenas de frío, lo que causa daño en el acrosoma de la célula ya que el semen de porcinos tiene una mayor susceptibilidad alta frente a bajas temperaturas.

De la misma manera Osorio *et al.* (2007) en estudios realizados encontraron que, en el procesamiento de semen refrigerado, se encuentra alteraciones en la calidad de la esperma debido a factores físicos, además se obtuvo diferencia significativa ($P < 0,05$) entre las 0 a 24 horas post dilución en el deterioro de acrosoma (borde apical dañado) en células espermáticas, lo que se da generalmente por choques térmicos en semen diluido.

Es importante resaltar lo mencionado por Henao *et al.* (2011) donde expresan que no hubo presencia de diferencia estadística ($P > 0,05$) en la variable de porcentaje de gotas citoplasmática en células espermáticas con un aproximado de 38% cercano al rango mínimo considerado aceptable (30%), además afirman que hay ciertos factores como la fructosa y el AMPc (Adenosín monofosfato cíclico) del plasma seminal que intervienen en la maduración espermática, en el desprendimiento de las GCs.

Por otra parte, Gómez *et al.* (2014) reportan que la presencia de 20% de gotas citoplasmáticas se relaciona en la baja tasa de fertilidad en machos reproductores y se ven asociados a factores como la edad, morfología de las

células espermáticas, control y manejo del reproductor, nutrición, tiempo de servicio.

En resumen, con lo antes mencionado se podrían decir que la célula espermática no alcanzó un estado de maduración por lo cual se generó dichas gotas citoplasmáticas, además, también influyen tanto la alimentación y el estado del animal donde se encuentre. Además, el daño de la membrana se pudo haber debido a la manipulación del semen al momento de la extensión de las tinciones realizadas.

4.2. EFECTO DE LA ADICIÓN DE COENZIMA Q10 SOBRE LA CALIDAD Y FUNCIONALIDAD DE LA MEMBRANA ESPERMÁTICA EN EL SEMEN PORCINO REFRIGERADO

Se observa en el cuadro 4.4 los promedios de errores estándar, donde se encuentra diferencia estadística ($P > 0,05$) en los parámetros reproductivos de motilidad y normalidad con respecto a los distintos niveles de coenzima Q10, donde se encontró una mayor motilidad en el T1 ($91,07 \pm 1,10$) y de la misma manera en la variable normalidad ($85,35 \pm 1,51$); mientras la vitalidad se destacó T1 y T4 ($4,55 \pm 0,20$) (ver Anexo 27).

Cuadro 4.4. Promedios y error estándar de la funcionalidad de membrana con respecto a los distintos niveles de coenzima Q10.

Tratamientos (CoQ10)	Motilidad		Normalidad [€]		Vitalidad [£]	
	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar
T1	91,07 ^a ± 1,10		85,35 ^a ± 1,51		4,55 ^a ± 0,27	
T2	82,32 ^c ± 0,87		78,03 ^b ± 1,18		4,52 ^b ± 0,56	
T3	85,00 ^{bc} ± 0,68		78,39 ^b ± 0,96		4,54 ^b ± 0,41	
T4	86,25 ^b ± 0,87		79,46 ^b ± 0,93		4,55 ^a ± 0,20	

^{a, b, c} Letras distintas en las filas difieren estadísticamente al 5% (Tukey)

T1: Tratamiento de Androstar Plus sin adición de CoQ10; **T2:** Tratamiento de BTS + CoQ10 (0,02 mg/ml); **T3:** Tratamiento de BTS + CoQ10 (0,04 mg/ml); **T4:** Tratamiento de BTS + CoQ10 (0,06 mg/ml)

[€] Promedios resultantes de la transformación a logaritmo

[£] Analizada por la vía no paramétrica.

En el cuadro 4.5 se observan los promedios obtenidos en el análisis de varianza (ver Anexo 27) que no existe diferencia estadística ($P < 0,05$) en los parámetros reproductivos de motilidad, normalidad y vitalidad con respecto a

las distintas semanas, donde se encontró una mayor motilidad en el T2 ($86,96 \pm 1,03$); de la misma manera se encontraron mayores promedios de la variable normalidad en el T2 con ($82,67 \pm 1,21$) y en la vitalidad con un promedio de ($94,92 \pm 0,37$).

Cuadro 4.5. Promedios y error estándar de la funcionalidad de membrana con respecto al efecto semanas.

Semanas	Motilidad		Normalidad [€]		Vitalidad [£]	
	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar
1	85,71 \pm 1,08		79,82 \pm 1,16		93,75 \pm 0,52	
2	86,96 \pm 1,03		82,67 \pm 1,21		94,92 \pm 0,37	
3	85,17 \pm 1,29		78,03 \pm 1,41		94,57 \pm 0,54	
4	86,78 \pm 0,82		80,71 \pm 1,25		94,10 \pm 0,31	

[€] Promedios resultantes de la transformación a logaritmo

[£] vía no paramétrica.

Los promedios obtenidos como observar en el cuadro 4.6 con respecto al análisis se encuentra diferencia estadística ($P < 0,05$) en los parámetros reproductivos de motilidad y normalidad con respecto a los días, donde se encontró una mayor motilidad en el primer día ($89,37 \pm 1,28$) y de la misma manera en la variable normalidad ($84,68 \pm 1,67$). Por otra parte, en la vitalidad no hubo diferencias estadísticas entre tratamientos ($P > 0,05$), sin embargo, hubo mayor vitalidad al segundo día ($94,87 \pm 0,36$).

Cuadro 4.6. Promedios y error estándar de la funcionalidad de membrana con respecto a los días.

Días	Motilidad		Normalidad [€]		Vitalidad [£]	
	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar
1	89,37 ^a \pm 1,28		84,68 ^a \pm 1,67		94,81 \pm 0,85	
2	88,12 ^{ab} \pm 1,43		83,12 ^{ab} \pm 1,92		94,87 \pm 0,36	
3	87,50 ^{ab} \pm 1,51		81,56 ^{ab} \pm 1,69		94,00 \pm 0,49	
4	86,25 ^{ab} \pm 1,61		80,62 ^{ab} \pm 1,70		94,68 \pm 0,37	
5	86,25 ^{ab} \pm 1,40		79,37 ^{abc} \pm 1,70		95,18 \pm 0,55	
6	85,00 ^b \pm 0,79		78,12 ^{bc} \pm 0,89		93,75 \pm 0,71	
7	80,62 ^c \pm 0,62		74,68 ^c \pm 1,06		93,06 \pm 0,60	

^{a, b, c} Letras distintas en las filas difieren estadísticamente al 5% (Tukey)

[€] Promedios resultantes de la transformación a logaritmo

[£] Analizada por la vía no paramétrica.

Los promedios obtenidos por Valdez *et al.* (2017) contrastan con los encontrados en esta investigación, donde afirma que la implementación de ácido ascórbico en dosis de 0,02 mg/ml tiene una mayor incidencia en el tratamiento de estrés oxidativo de células espermáticas dentro de la refrigeración de semen porcino diluido a partir del quinto día. Por otro lado, afirman que la motilidad que se encontró (entre 75% y 80%) son rangos aceptables para ser considerados como un semen viable.

Flores *et al.* (2018) expresan que dentro del sector bioreproductivo la refrigeración de semen fresco la preservación de las células espermáticas es de alta relevancia, ya que es una alternativa a la difusión de recursos genéticos. Además, manifiesta que la implementación de antioxidantes no causa daño a nivel morfológico en la célula, ni causa baja tasa de motilidad o fertilidad en hembras.

Córdova *et al.* (2017) encontraron diferencias significativas cuando aplicaron diferentes dosis de ácido ascórbico (Vitamina C) 1, 2 y 4 mg/ml obteniendo mejores resultados en una concentración de 4 mg/ml en pajas de 0,25 ml, 0%, 41% ,40% y 63% de la motilidad y normalidad espermática.

De la misma manera Cabrita *et al.* (2011) en estudios realizados afirman que las propiedades antioxidantes que presentan los extensores de vida de células espermáticas en la refrigeración del semen porcino son favorables, ya que no alteran la morfología, vitalidad, normalidad y motilidad de este.

Peña *et al.* (2003) afirman que, en experimentos hechos en semen de verracos con la adición de Vitamina E, la vitalidad de las células espermáticas tuvo un efecto mayor en el tratamiento con una dosis más elevada y se encontró una mayor cantidad de espermatozoides con una elevada actividad mitocondrial.

Giaretta *et al.* (2015) reportan que uno de los efectos benéficos de algunos antioxidantes implementados en diluyentes para la refrigeración de semen porcino reduce el estrés oxidativo y así, mejorar las características seminales espermáticas, lo que hace de ellas células viables para la reproducción.

Los promedios obtenidos de las variables relacionadas a la calidad y funcionalidad de la membrana, son similares a los reportados en otras investigaciones. Ante este hecho es importante resaltar, que el efecto de la Coenzima Q10, puede estar asociado a las condiciones climáticas, además del diluyente que pueda ser utilizado.

4.3. ANÁLISIS DE COSTO DEL USO DE LA COENZIMA Q10 COMO COADYUVANTE EN PROCESO DE REFRIGERACIÓN SEMEN PORCINO

El cuadro 4.7 se presenta el análisis de costo del uso de la coenzima Q₁₀ y los egresos correspondientes al preparar una dosis seminal con una duración de 7 días, se pudo constatar la diferencia de precio, con BTS + Co Q₁₀ \$1,20 y Androstar Plus un costo de \$2,15 en el cual se ahorra \$0,90 centavos de dólar por dosis haciendo más rentable la elaboración de las dosis seminales usando BTS + CoQ₁₀ haciendo que las células espermáticas mejoren su calidad previniendo el estrés oxidativo y acortando el aceleramiento y el envejecimiento celular prematuro, reduciendo los costos de elaboración y almacenamiento.

Cuadro 4.7. Análisis económico de la adición de la CoQ10.

CANTIDAD	MATERIALES	BTS + CoQ10	ANDROSTAR PLUS
1	Diluyente	\$3,50	\$14,00
4	Guantes	\$1,00	\$1,00
2	Fundas	\$1,00	\$1,00
1	Microcubeta	\$1,75	\$1,75
2	Papel filtro	\$0,50	\$0,50
1	Agua Biodestilada	\$2,00	\$2,00
1	Botella dosificadora	\$1,25	\$1,25
1	CoEnzima Q10	\$1,00	\$0,00
TOTAL		\$12,00	\$21,50
/		10	
VALOR POR DOSIS		\$1,20	\$2,15

Guachún (2017) cuando utilizó el extracto del Aloe vera (*Aloe barbadensis miller*) en la refrigeración del semen porcino, concluyó que la implementación de antioxidantes en la crioconservación de células espermáticas porcinas puede ser considerada una alternativa que baje el costo de producción y mantenga los niveles óptimos para reproducción porcina. Esta aseveración podría ser considerada para inferir el mismo comportamiento cuando se utiliza la Coenzima Q10.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

La adición de CoQ10 como antioxidante en la refrigeración de semen porcino no tiene efectos negativos sobre los parámetros de calidad morfológicos en células espermáticas, lo que permite aumentar el tiempo de preservación.

El efecto de la CoQ10 sobre el semen porcino diluido en las variables motilidad, normalidad y vitalidad no se evidenció anomalías en los rangos obtenidos, lo que convierte en una alternativa favorable para la reproducción porcina ya que no altera los indicadores de calidad en el semen porcino refrigerado.

En el análisis de los costos de producción al utilizar CoQ10 como extensor de vida de las células espermáticas, se observó que la adición de este antioxidante obtuvo un costo/beneficio con el uso de BTS + CoQ10 de \$1,20, mientras que el Androstar® Plus obtuvo un valor por dosis de \$2,15 en el mismo tiempo de conservación.

5.2. RECOMENDACIONES

Aunque ha transcurrido casi un siglo utilizando la inseminación artificial porcina, el conocimiento sobre los procesos de conservación de los espermatozoides porcinos es aún muy limitado, por lo que es necesario profundizar en los estudios en diversas direcciones como el uso de antioxidantes naturales que mejoren la calidad de la estructura y vitalidad espermática.

Se recomienda realizar más investigaciones sobre el uso de niveles más altos de coenzima Q10, en los sistemas de reproducción porcino con el objetivo de cuantificar la fertilidad, la prolificidad y la fecundidad, para de esta manera validar los resultados obtenidos en este ensayo y recomendar su utilización.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, J. 2015. Evaluación del Uso de Agua de Coco (Cocos Nucifera L.) Como Diluyente Natural En Inseminación Artificial En Cerdas. (En Línea). Guatemala. Consultado, 19 Nov, 2019. Formato PDF. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu/>
- Almaguer, Y., Font, H., Rosell, R., Quirino, R., Montes, I. 2015. Evaluación de la calidad seminal en sementales porcinos en un Centro de Inseminación Artificial. Málaga, España. Rev. Electrónica de Veterinaria. 16 (7): 1-7.
- Ariagno, J; Mormandi, E. 2016. Guía práctica para la evaluación del semen. Buenos Aires, AR. Rev. Guía práctica. 80 (3): 29-36.
- Biotay (Empresa Argentina). 2018. Antioxidantes. (En línea). AR. Consultado. 06 de Nov. 2019. Disponible en: <http://www.biotay.com>.
- Cabrita, E.; Ma, S; Diogo, P; Martínez, S; Sarasquete, C; Dinis, M. T. 2011. The influence of certain aminoacids and vitamins on post-thaw fish sperm motility, viability and DNA fragmentation. Animal reproduction science, 125(1-4), 189-195.
- Castañeda, R. 2018. Estudio Comparativo entre la Inseminación Artificial Cervical y Uterina, Influencia en la Fertilidad y Prolificidad en Marranas Multíparas, de la granja el Chaparral. (En línea) Lambayeque, PE. Consultado, 6 de Nov 2019. Formato PDF. Disponible en: <http://repositorio.unprg.edu.pe/>
- Chihuailaf, R; Contreras, P; Wittwer, F. 2002. Patogénesis del estrés oxidativo: Consecuencias y evaluación en salud animal. México, MX. Rev. Veterinaria México. (33): 3.
- Cocchia, N; Pasolini, M; Mancini, R; Petrazzuolo, O.; Cristofaro, I; Rosapane, I. 2011. Effect of sod (superoxide dismutase) protein supplementation in semen extenders on motility, viability, acrosome status and ERK (extracellular signal-regulated kinase) protein phosphorylation of chilled stallion spermatozoa. (En línea). US. Consultado, 01 Dic. 2018. Formato PDF. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Córdova, A. 2015. Uso de antioxidantes en la conservación del semen de cerdo. Zaragoza. Rev. Ibercaja agroinforma.7 (124): 33-40.
- Córdova A. y Muñoz R. 2010. Características del semen de verraco y su evaluación seminal. (En línea). EC. Consultado, 16 de oct. 2019. Formato PDF. Disponible en: <http://66.147.240.151/>
- Córdova, A. 2016. Usos de antioxidante en la ganadería. Departamento de Producción Agrícola y Animal. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. D.F México. Rev. Ganadero. (61): 4.

- Córdova, A; Guerra, J; Méndez, M; Villa, A; Huerta, R; Olivares, J; Méndez W; Sánchez, L; Juárez, M; Belmont, F. Efecto del uso de antioxidantes en el diluyente sobre la calidad espermática del semen de verraco congelado-descongelado. (En línea). MX. Consultado, 25 de ene. 2018. Formato PDF. Disponible en: <https://www.engormix.com/>
- Córdova, A; Iglesias, A; Guerra, J; Méndez, M; Villa, A; Huerta, R; Oivares, J; Méndez, W.; Sánchez, P.; Juárez, M.; Belmont, F. 2015. Antioxidantes en el diluyente y calidad espermática del semen refrigerado de verraco. (En línea). Tabasco, MX. Consultado, 09 de nov. 2019. Formato PDF. Disponible en: <https://www.engormix.com/>
- Córdova, A; Pérez, J; Méndez, H; Villa, M; Huerta, C. 2015. Obtención, evaluación y manipulación del semen de verraco en una unidad de producción mexicana. Argentina. Rev. Veterinaria (26): 69-74.
- Córdova, A; Ruiz, C; Córdova, C; Córdova, J; Guerra, J; Rodríguez, B; Yarancibia, K. 2009. Oxidative Stress and Antioxidants in the Spermatic Conservation. Madrid, España. Rev. Complutense De Ciencias Veterinarias. 3 (1): 01-38.
- Córdova, C. 2010. Control de la peroxidación lipídica del semen refrigerado y criopreservado de verraco mediante antioxidantes (α-Tocoferol / Glutatión reducido), y su repercusión sobre la calidad espermática. (En línea). Madrid, ES. Consultado, 09 de nov. 2019. Formato PDF. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/>
- Criado, C. y Moya, M. 2009. Vitaminas y antioxidantes. Departamento de medicina de la universidad autónoma de Madrid. (En línea). Madrid, ES. Consultado, 04 de Dic. 2018. Formato PDF. Disponible en: <http://elmedicointeractivo.com/>
- Criollo, A. 2015. Determinación cuantitativa de polifenoles y metabolitos con propiedades antioxidantes en el extracto de altamisa (*Ambrosia artemisiifolia*). (En línea). El Oro, EC. Consultado, 04 de Nov. 2019. Formato PDF. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/>
- Cuenca, C; Mercy; Avellaneda, C. 2017. Diluyentes utilizados en inseminación artificial porcina. Málaga, ES. Rev. Electrónica de Veterinaria. 18 (9). 1-11.
- Del Valle, A. 2017. Evaluación de la calidad espermática de sementales porcinos utilizados en la monta natural. Málaga, España. Rev. Electrónica de Veterinaria 18(10) 1-17.
- Díaz, O; Mesa, H.; Gómez, G.; Henao, F. 2009. Evaluación in vitro de la viabilidad del semen porcino hasta 120 horas de almacenamiento en refrigeración. Caldas, CO. Vet. Zootec. 3 (1): 32-37.
- Farias, L. y Intriago, S. 2017. Agua de Coco como diluyente de Semen Porcino a diferentes temperaturas sobre la respuesta reproductivas con Inseminación artificial en cerdas. (En línea). Calceta, EC. Consultado, 15

de feb. 2019. Formato PDF. Disponible en:
<http://repositorio.espam.edu.ec/>

- Flores, C; Meléndez, C; Mendoza, C; Márquez, Y; Vilanova, L. 2018. Efecto antioxidante de la melatonina durante la conservación de semen de cerdo. Lara, VE. Rev. Veterinaria. 29 (1): 13-17.
- Gallegos, M. 2019. Determinación de las Características Microscópicas y Macroscópicas y subpoblaciones espermáticas del semen de llama colectado por electroeyaculación y vagina artificial. (En Línea) Cusco, PE. Consultado el 7 de Oct 2019. Formato PDF. Disponible en: <http://bitstream/handle/UNSAAC/>
- Garate, I; Sanchez, T; Carrillo, L. 2017. Los Antioxidantes en los Alimentos. (En línea). Lima, PE. Consultado, 04 de Nov. 2019. Formato PDF. Disponible en: <http://repositorio.unab.edu.pe/>
- García, J; Vargas, M; Aguilar, M; Ocaña, F; Sarmiento, A; Guisado, R. 2015. Efecto del Phlebodium decumanum y de la coenzima q10 sobre el rendimiento deportivo en jugadores profesionales de voleibol. Nuevo León. Mex. Rev. Nutrición Hospitalaria. 31(1):401-41
- Giaretta, E; Estrada, D; Bucci, M; Spinaci, J; Rodríguez, G; Yeste, M. 2015. Combining reduced glutathione and ascorbic acid has supplementary beneficial effects on boar sperm cryotolerance. Theriogenology. 83: 399–407.
- Gómez, G; Vélez, C; Ceballos, A; Henao, F. 2014. Revisión sistemática de los factores asociados a la presentación de gotas citoplásmicas en porcinos. Bogotá, CO. Revista de Salud Pública. 16 (6): 779-788.
- Gómez, G. 2014. Efecto de las gotas citoplasmáticas sobre la capacidad fecundante del espermatozoide en el cerdo. (En Línea) COL. Consultado el 19 de Nov 2019. Disponible en: <https://doctoradoagrarias.files.wordpress.com/>
- Guachún, M. 2017. Efecto del extracto del Aloe vera (Aloe barbadensis miller) en la congelabilidad del semen porcino. (En línea). Cuenca, EC. Consultado, 09 de nov. 2019. Formato PDF. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/>
- Han, R; Zhang, J; Skibsted, L; 2012. Reaction Dynamics of Flavonoids and Carotenoids as Antioxidants. CN. Rev. Molecules. 17 (12): 2140-60.
- Henao, F; Valencia, J; Díaz, O.; Rangel, M. 2011. Efecto de la adición de plasma seminal sobre la eliminación de gotas citoplásmicas en semen de sus Scrofa linnaeus, 1758. Bucaramanga, CO. Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. 15 (2): 94-104.
- Hernández, K. 2013. Viabilidad y función espermática de semen Descongelado de porcino adicionado con plasma Seminal homólogo. (En línea):

- Veracruz, ME. Consultado, 04 de Nov. 2019. Formato PDF. Disponible en: <https://www.uv.mx/>
- Hicks, J; Torres,R; Sierra,V. 2006. Estrés Oxidante.Concepto y clasificación. México. Rev. De Endocrinología y Nutrición. 14 (4): 223-226.
- Huaman, B. y Yaringaño, B. 2013. Efecto de dos dilutores sobre la criopreservación de semen de verraco. (En línea). PE. Consultado, 01 de Jun. 2018. Formato PDF. Disponible en: <http://repositorio.unh.edu.pe/>
- Huet, C. 2017. Métodos Analíticos para la Determinación de Antioxidantes en Muestras Biológicas. (En línea). Madrid, ES. Consultado, 04 de Nov. 2019. Formato PDF. Disponible en: <http://147.96.70.122/Web/>
- Lançon, R. 2018. Papel da ubiquitina em ganhões com alta e baixa congelabilidade e aplicação da Coenzima Q-10 como promotora da função mitocondrial espermática. (En línea). Pirassununga, BR. Consultado, 16 de Oct. 2019. Formato PDF. Disponible en: <https://teses.usp.br/>
- Lizarbe, E. 2018. Actividad Antioxidante In Vitro del Aceite de las Semillas de Attalea Phalerata Mart. Ex Spreng. "Palmera". (En línea). Ayacucho, PE. Consultado, 16 de Oct. 2019. Formato PDF. Disponible en: <http://repositorio.unsch.edu.pe/>
- Mata, M. 2015. Tratamiento de la Disfunción Mitocondrial con Coenzima Q10. (En Línea) Madrid. Consultado el: 11 de nov 2019. Formato Disponible en: <https://rio.upo.es/xmlui/bitstream/handle/>
- Matos, J. 2017. Ação da coenzima q10 sobre a viabilidade Espermática de ganhões resistentes ou sensíveis À congelação. (En línea). Botucatu, SP. Consultado, 4 de nov, 2019. Formato disponible en: <https://repositorio.unesp.br/>
- Morani, E; Roncoletta, M; Ancieto, K; Franceschini, P; Tedesco, A. 2004. Production of reactive oxygen specie in bovine semen after freezing and thawing 15th International Congress on Animal Reproduction. Brasil. Rev. Escavador. 474.
- Núñez, O; Montero, M; Rosero, M; Lozada E; Pazmiño, P. 2017. Evaluación comparativa de los parámetros reproductivos entre el método de auto inseminación cervical GEDIS y el tradicional en cerdas multíparas. La Paz, BO. Journal of the Selva Andina Animal Science. 4 (1): 72-81.
- Ochoa, R. 2002. La situación de la porcicultura en el Ecuador. Paute, EC. La Granja. 1: 5-6.
- Olivo, I; Conejo, J; Flores, J; Núñez, R; García, F; Val, D; Toscano, I. 2017. Evaluación de dos protocolos de refrigeración, previos a la congelación del semen de porcino. Tarímbaro, ME. Rev. Actas Iberoamericanas en Conservación Animal. (10):195-200

- Ordóñez, W. 2017. Eficacia De La Radiación Ultravioleta en la Esterilización del Plasma Seminal Porcino y su Comportamiento sobre Calidad Espermática. (En línea). Cuenca, EC. Consultado, 16 de Oct. 2019. Formato PDF. Disponible en: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>
- Osorio, R; Giraldo, J; Mesa, H; Gómez, G; Henao, F. 2007. Evaluación de la integridad acrosómica en semen de verraco. Caldas, CO. Vet. Zootec. 1 (1): 41-47.
- Osorio, R; Giraldo, J; Mesa, H; Gómez, G; Henao, F. 2007. Evaluación de la integridad acrosómica en semen de verraco. (En Línea)COL. Consultado 19 de Nov 2019. Disponible en: <http://www.vetzootec.ucaldas.edu>.
- Otoya, R. 2018. Estrategias Para Reducir El Estrés Calórico Y Su Efecto Sobre Características Seminales En Verracos Jóvenes. (En línea). Lima, PE. Consultado, 15 de Oct. 2019. Formato PDF. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/>
- Pareja, A. y Camargo, O. 2011. Efecto de los sistemas de empaque abierto y cerrado y diferentes crioprotectores sobre las características de semen porcino criopreservado. Colombia. Rev. Colombiana de Ciencias Pecuarias. (24): 3.
- Restrepo, G; Montoya, J; Rojano, B. 2016. Capacidad antioxidante y calidad post-descongelación del semen equino criopreservado con quercetina y ergotioneina. Bogotá-Colombia. Rev. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. 63 (3): 167-178.
- Restrepo, G; Úsuga, A; Rojano, B. 2013. Técnicas para el análisis de la fertilidad potencial del semen equino. Medellín, CO. Rev. CES Medicina Veterinaria y Zootecnia. (8): 69-81.
- Reyes, M. 2012. Estudio de las balsas lipídicas en espermatozoides de cerdo criopreservados. (En línea) Iztapalapa, ME. Consultado 17 de Nov 2019. Formato disponible en: <http://148.206.53.84/tesiuami/>
- Rodríguez, M. y Nivia, A. 2017. Efecto de la adición de antioxidantes sobre la motilidad espermática post-criopreservación y fertilidad del semen de peces. Bogotá, CO. Revista Veterinaria. 28 (2): 157-165.
- Rubio, J; Lopez, J; Vasquez, M.; Alcaraz, Y. 2016. Evaluación de la Actividad Antioxidante de Análogos del Bht. Guanajuato, MX. Rev. Verano De La Invetigacion Científica. (2): 1.
- Salazar, L. 2014. Evaluación del dipol como diluyente de recolección seminal y su efecto sobre la conservación y fertilidad de semen refrigerado de verraco. (En línea). Riobamba, EC. Consultado, 15 de Oct. 2019. Formato PDF. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/>

- Santiani, A. 2003. Criopreservación de semen ovino: Efecto de la adición de antioxidantes al diluyente. (En línea). Temuco, CH. Consultado, 01 de Feb. 2019. Formato PDF. Disponible en: <https://www.researchgate.net/>
- Santos, R. 2019. Adição De Piruvato e Coenzima Q10 Ao Diluente À Base de Leite Desnatado para Refrigeração de Sêmen Equino. (En Línea) Botucatu. Brazil. Consultado el 12 de Nov del 2019. Dispoible en Formato PDF: <https://repositorio.unesp.br/>
- Suhevic, J; Malcervelli, D; González, L; Acerbo, M; Miguez, M; García, M; Torres, P; Fischman, M; Cisale, M. 2015. Influencia de diferentes diluyentes de precongelado en el congelado/descongelado de semen porcino. Lima, Perú. Rev. Spermova. 5 (1): 124 – 128.
- Tana, H. 2017. Concentración espermática de semen porcino (sus scrofa var. domesticus) mediante metodologías aplicadas comercialmente en la parroquia Conocoto del cantón Rumiñahui. (En Línea) Quevedo, EC. Consultado, 19 de nov. 2019. Formato PDF Disponible en: <http://190.15.134.12/bitstream/43000/2727/1/T-UTEQ>
- Vallejo, E; Rojas, A; Torres, O. 2017. Una poderosa herramienta en la medicina preventiva del cáncer los antioxidantes. (En línea) Guadalajara. Mex. Consultado 12 de Nov 2019. Formato disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/residente/>
- Vélez, V. 2016. Efecto de la suplementación con antioxidantes y el sistema de empaque sobre las características espermáticas del semen equino criopreservado y su relación con la criotolerancia espermática. (En línea). Medellín, CO. Consultado, 05 de Jun. 2019. Formato PDF. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/>
- Venereo, J. 2002. Daño Oxidativo, Radicales Libres y Antioxidantes. La Habana, CU. Rev. Cubana Medicina Militar. (31): 2.

ANEXOS

Anexo 1. Foto del Cerdo reproductor de la raza Yorkshire extraído semen



Anexo 2. Foto de Colecta de semen de cerdo reproductor Yorkshire.



Anexo 3. Foto Dilución de semen de cerdo en diluyentes comerciales.



Anexo 4. Foto de la Distribución de la CoQ10 por tratamiento (0,02 mg/ml; 0,04 mg/ml y 0,06 mg/ml).



Anexo 5-A. Foto de Adición de la CoQ10 por tratamiento.



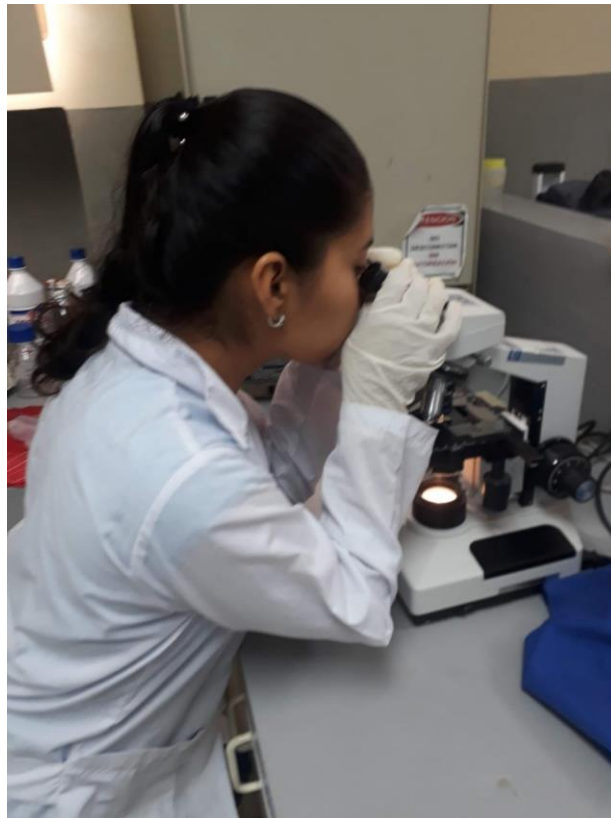
Anexo 5-B. Foto de Adición de la CoQ10 por tratamiento.



Anexo 6-A. Foto de la Observación de las variables a medir.



Anexo 6-B. Foto de la Observación de las variables a medir.



Anexo 7-A. Foto de la Toma de resultados de las variables a medidas.



Anexo 7-A. Foto de la Toma de resultados de las variables a medidas.



Anexo 8-A. Foto de la evaluación Evaluación de la morfología espermática.



Anexo 8-B. Foto de la Evaluación de la morfología espermática.



Anexo 9. Análisis descriptivo de las variables bajo estudio con respecto a la CoQ10 (sin adición de CoQ10).**Descriptive Statistics for CoQ10 = 1**

	DAR	MOTILIDAD	GCs	NAR
NORMALIDA				
N	28	28	28	28
Mean	3.2500	91.071	1.5344	95.429
SD	2.9518	5.8305	0.7506	1.4764
SE Mean	0.5578	1.1019	0.1418	0.2790
C.V.	3.1654	6.4021	48.918	1.5472
Minimum	87.000	80.000	0.0000	91.000
Maximum	98.000	95.000	2.8904	98.000
	VTL			
N	28			
Mean	4.5583			
SD	1.4764			
SE Mean	0.2790			
C.V.	1.5472			
Minimum	91.000			
Maximum	98.000			

Anexo 10. Análisis descriptivo de las variables bajo estudio con respecto a la CoQ10 (0,02 mg/ml).**Descriptive Statistics for CoQ10 = 2**

	DAR	MOTILIDAD	GCs	NAR
NORMALIDA				
N	28	28	28	28
Mean	3.6790	82.321	2.1584	92.643
SD	3.6924	4.6112	0.7689	2.9841
SE Mean	0.6978	0.8714	0.1453	0.5639
C.V.	3.9415	5.6015	35.621	3.2211
Minimum	84.000	75.000	0.6931	85.000
Maximum	98.000	90.000	4.7185	98.000
	VTL			
N	28			
Mean	4.5282			
SD	2.9841			
SE Mean	0.5639			
C.V.	3.2211			
Minimum	85.000			
Maximum	98.000			

Anexo 11. Análisis descriptivo de las variables bajo estudio con respecto a la CoQ10 (0,04 mg/ml).**Descriptive Statistics for CoQ10 = 3**

	DAR	MOTILIDAD	GCs	NAR
NORMALIDA				
N	28	28	28	28
Mean	3.0360	85.000	2.1682	93.857
SD	2.5745	3.6004	0.5771	2.1725
SE Mean	0.4865	0.6804	0.1091	0.4106
C.V.	2.7673	4.2358	26.617	2.3146
Minimum	88.000	80.000	0.6931	90.000
Maximum	97.000	90.000	3.1781	98.000
	VTL			
N	28			
Mean	4.5415			
SD	2.1725			
SE Mean	0.4106			
C.V.	2.3146			
Minimum	90.000			
Maximum	98.000			

Anexo 12. Análisis descriptivo de las variables bajo estudio con respecto a la CoQ10 (0,06 mg/ml).**Descriptive Statistics for CoQ10 = 4**

	DAR	MOTILIDAD	GCs	NAR
NORMALIDA				
N	28	28	28	28
Mean	3.3930	86.250	2.1057	95.429
SD	2.4089	4.6398	0.6099	1.4764
SE Mean	0.4552	0.8768	0.1153	0.2790
C.V.	2.5793	5.3795	28.964	1.5472
Minimum	90.000	80.000	1.0986	90.000
Maximum	97.000	95.000	3.2958	97.000
	VTL			
N	28			
Mean	4.5583			
SD	1.4764			
SE Mean	0.2790			
C.V.	1.5472			
Minimum	90.000			
Maximum	97.000			

Anexo 13. Análisis descriptivo de las variables bajo estudio con respecto a la Semana 1.**Descriptive Statistics for SEMANA = 1**

	DAR	MOTILIDAD	GCs	NAR
NORMALIDA				
N	28	28	28	28
Mean	1.6430	85.714	2.4532	93.750
SD	2.4827	5.7275	0.8676	2.7571
SE Mean	0.4692	1.0824	0.1640	0.5211
C.V.	2.7092	6.6821	35.365	2.9410
Minimum	87.000	80.000	0.0000	90.000
Maximum	96.000	95.000	4.7185	98.000
	VTL			
N	28			
Mean	93.750			
SD	2.7571			
SE Mean	0.5211			
C.V.	2.9410			
Minimum	90.000			
Maximum	98.000			

Anexo 14. Análisis descriptivo de las variables bajo estudio con respecto a la Semana 2.**Descriptive Statistics for SEMANA = 2**

	DAR	MOTILIDAD	GCs	NAR
NORMALIDA				
N	28	28	28	28
Mean	4.8930	86.964	2.1054	94.929
SD	2.1141	5.5007	0.7727	1.9987
SE Mean	0.3995	1.0395	0.1460	0.3777
C.V.	2.2279	6.3253	36.703	2.1055
Minimum	90.000	80.000	0.0000	90.000
Maximum	98.000	95.000	3.0445	98.000
	VTL			
N	28			
Mean	94.929			
SD	1.9987			
SE Mean	0.3777			
C.V.	2.1055			
Minimum	90.000			
Maximum	98.000			

Anexo 15. Análisis descriptivo de las variables bajo estudio con respecto a la Semana 3.**Descriptive Statistics for SEMANA = 3**

	DAR	MOTILIDAD	GCs	NAR
NORMALIDA				
N	28	28	28	28
Mean	3.179	85.179	1.6108	94.571
SD	3.5700	6.8694	0.5094	2.8986
SE Mean	0.6747	1.2982	0.0963	0.5478
C.V.	3.8313	8.0647	31.621	3.0650
Minimum	84.000	75.000	0.6931	85.000
Maximum	97.000	95.000	2.8904	97.000
	VTL			
N	28			
Mean	94.571			
SD	2.8986			
SE Mean	0.5478			
C.V.	3.0650			
Minimum	85.000			
Maximum	97.000			

Anexo 16. Análisis descriptivo de las variables bajo estudio con respecto a la Semana 4.**Descriptive Statistics for SEMANA = 4**

	DAR	MOTILIDAD	GCs	NAR
NORMALIDA				
N	28	28	28	28
Mean	3.6430	86.786	1.7974	94.107
SD	2.4527	4.3492	0.3433	1.6852
SE Mean	0.4635	0.8219	0.0649	0.3185
C.V.	2.6192	5.0114	19.103	1.7907
Minimum	89.000	80.000	1.0986	90.000
Maximum	98.000	95.000	2.4849	96.000
	VTL			
N	28			
Mean	94.107			
SD	1.6852			
SE Mean	0.3185			
C.V.	1.7907			
Minimum	90.000			
Maximum	96.000			

Anexo 17. Análisis descriptivo de las variables bajo estudio con respecto al día 1.**Descriptive Statistics for DIAS = 1**

	MOTILIDAD	DAR	GCs	NAR
NOR				
N	16	16	16	16
16				
Mean	89.375	5.3750	1.7864	93.875
84.688				
SD	5.1235	2.6802	0.7840	3.4809
6.7004				
SE Mean	1.2809	0.6700	0.1960	0.8702
1.6751				
C.V.	5.7326	49.864	43.885	3.7080
7.9120				
Minimum	80.000	2.0000	0.0000	84.000
70.000				
Maximum	95.000	13.000	3.2958	98.000
95.000				
	VTL			
N	16			
Mean	94.813			
SD	3.4297			
SE Mean	0.8574			
C.V.	3.6173			
Minimum	85.000			
Maximum	98.000			

Anexo 18. Análisis descriptivo de las variables bajo estudio con respecto al día 2.**Descriptive Statistics for DIAS = 2**

	MOTILIDAD	DAR	GCs	NAR
NOR				
N	16	16	16	16
16				
Mean	88.125	6.1250	2.1097	93.063
83.125				
SD	5.7373	4.3493	0.7709	3.1085
7.7190				
SE Mean	1.4343	1.0873	0.1927	0.7771
1.9298				
C.V.	6.5104	71.009	36.541	3.3402
9.2860				
Minimum	75.000	1.0000	0.6931	87.000
70.000				
Maximum	95.000	17.000	3.2958	98.000
95.000				
	VTL			
N	16			
Mean	94.875			
SD	1.4549			
SE Mean	0.3637			
C.V.	1.5335			
Minimum	92.000			
Maximum	97.000			

Anexo 19. Análisis descriptivo de las variables bajo estudio con respecto al día 3.**Descriptive Statistics for DIAS = 3**

	MOTILIDAD	DAR	GCs	NAR
NOR				
N	16	16	16	16
16				
Mean	87.500	6.6250	1.9876	93.500
81.563				
SD	6.0553	2.3629	0.5534	2.3381
6.7623				
SE Mean	1.5138	0.5907	0.1384	0.5845
1.6906				
C.V.	6.9203	35.667	27.845	2.5006
8.2910				
Minimum	75.000	3.0000	0.6931	88.000
70.000				
Maximum	95.000	12.000	2.8332	97.000
90.000				
	VTL			
N	16			
Mean	94.000			
SD	1.9664			
SE Mean	0.4916			
C.V.	2.0919			
Minimum	90.000			
Maximum	97.000			

Anexo 20. Análisis descriptivo de las variables bajo estudio con respecto al día 4.**Descriptive Statistics for DIAS = 4**

	MOTILIDAD	DAR	GCs	NAR
NOR				
N	16	16	16	16
16				
Mean	86.250	6.0625	1.9170	93.000
80.625				
SD	6.4550	3.4345	0.7439	3.3862
6.8007				
SE Mean	1.6137	0.8586	0.1860	0.8466
1.7002				
C.V.	7.4840	56.652	38.807	3.6411
8.4350				
Minimum	75.000	2.0000	0.0000	85.000
70.000				
Maximum	95.000	16.000	2.8904	97.000
90.000				
	VTL			
N	16			
Mean	94.688			
SD	1.4930			
SE Mean	0.3733			
C.V.	1.5768			
Minimum	90.000			
Maximum	96.000			

Anexo 21. Análisis descriptivo de las variables bajo estudio con respecto al día 5.**Descriptive Statistics for DIAS = 5**

	MOTILIDAD	DAR	GCs	NAR
NOR				
N	16	16	16	16
Mean	86.250	5.8750	2.0512	93.688
SD	5.6273	3.2429	0.5999	3.0489
SE Mean	1.4068	0.8107	0.1500	0.7622
C.V.	6.5244	55.199	29.246	3.2543
Minimum	80.000	2.0000	1.0986	89.000
Maximum	95.000	13.000	3.0445	98.000
VTL				
N	16			
Mean	95.188			
SD	2.2277			
SE Mean	0.5569			
C.V.	2.3403			
Minimum	90.000			
Maximum	98.000			

Anexo 22. Análisis descriptivo de las variables bajo estudio con respecto al día 6.**Descriptive Statistics for DIAS = 6**

	MOTILIDAD	DAR	GCs	NAR
NOR				
N	16	16	16	16
Mean	85.000	5.8125	2.0182	94.063
SD	3.1623	2.6887	0.9876	2.9319
SE Mean	0.7906	0.6722	0.2469	0.7330
C.V.	3.7203	46.257	48.932	3.1169
Minimum	80.000	2.0000	0.6931	89.000
Maximum	90.000	10.000	4.7185	98.000
VTL				
N	16			
Mean	93.750			
SD	2.8636			
SE Mean	0.7159			
C.V.	3.0545			
Minimum	89.000			
Maximum	97.000			

Anexo 23. Análisis descriptivo de las variables bajo estudio con respecto al día 7.**Descriptive Statistics for DIAS = 7**

	MOTILIDAD	DAR	GCs	NAR	NOR
N	16	16	16	16	16
Mean	80.625	7.1250	2.0717	92.188	74.688
SD	2.5000	2.3629	0.6253	1.9397	4.2696
SE Mean	0.6250	0.5907	0.1563	0.4849	1.0674
C.V.	3.1008	33.164	30.183	2.1041	5.7166
Minimum	75.000	4.0000	1.0986	90.000	70.000
Maximum	85.000	10.000	2.9957	96.000	80.000

	VTL
N	16
Mean	93.063
SD	2.4075
SE Mean	0.6019
C.V.	2.5869
Minimum	89.000
Maximum	96.000

Anexo 24. Prueba de Bartlett homogeneidad de varianza parámetros reproductivos.**MOTILIDAD**

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	6.07	3	0.1083
Cochran's Q	0.3788		
Largest Var / Smallest Var	2.6224		

NORMALIDAD

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	8.36	3	0.0391
Cochran's Q	0.4175		
Largest Var / Smallest Var	2.6185		

PRUEBA HOMOGENEIDAD NORMALIDAD TRASNFORMADA

Grand Mean 1.9032 CV 1.79

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	7.39	3	0.0604
Cochran's Q	0.4085		
Largest Var / Smallest Var	2.5334		

VITALIDAD

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	19.0	3	0.0003
Cochran's Q	0.4951		
Largest Var / Smallest Var	4.0850		

Anexo 25. Análisis no paramétrico la variable vitalidad con respecto a los días, semanas y CoQ10.**Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV for VTL by CoQ10**

CoQ10	Mean Rank	Sample Size
1	69.9	28
2	36.6	28
3	47.3	28
4	72.3	28
Total	56.5	112

Kruskal-Wallis Statistic 24.9494
P-Value, Using Chi-Squared Approximation 0.0000

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	3	25493	8497.62	10.4	0.0000
Within	108	87925	814.12		
Total	111	113418			

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV for VTL by SEMANA

SEMANA	Mean Rank	Sample Size
1	49.8	28
2	63.4	28
3	63.5	28
4	49.3	28
Total	56.5	112

Kruskal-Wallis Statistic 5.2788
P-Value, Using Chi-Squared Approximation 0.1525

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	3	5394	1797.93	1.80	0.1520
Within	108	108024	1000.22		
Total	111	113418			

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV for VTL by DIAS

DIAS	Mean Rank	Sample Size
1	70.1	16
2	59.3	16
3	47.5	16
4	58.1	16
5	70.3	16
6	51.0	16
7	39.1	16
Total	56.5	112

Kruskal-Wallis Statistic 12.5363
P-Value, Using Chi-Squared Approximation 0.0510

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	6	12809	2134.91	2.23	0.0460
Within	105	100609	958.18		
Total	111	113418			

Anexo 26. Prueba de Bartlett homogeneidad de varianza parámetros morfológicos.**NAR (BORDE APICAL NORMAL)**

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	5.95	3	0.1142
Cochran's Q	0.3920		
Largest Var / Smallest Var	2.3494		

DAR (BORDE APICAL DAÑADO)

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	4.00	3	0.2610
Cochran's Q	0.3501		
Largest Var / Smallest Var	2.0293		

CGS (GOTAS CITOPLASMATICAS)

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	88.5	3	0.0000
Cochran's Q	0.8286		
Largest Var / Smallest Var	20.704		

TRANSFORMADA A LOGARITMO

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	3.30	3	0.3478
Cochran's Q	0.3179		
Largest Var / Smallest Var	1.7750		

Anexo 27. Análisis de varianza para los parámetros reproductivos.**Analysis of Variance Table for MOTILIDAD**

Source	DF	SS	MS	F	P
SEMANA	3	61.61	20.536	1.28	0.2870
DIAS	6	767.86	127.976	7.95	0.0000
CoQ10	3	1125.89	375.298	23.31	0.0000
Error	99	1593.75	16.098		
Total	111	3549.11			

Grand Mean 86.161 CV 4.66

Analysis of Variance Table for NORMALIDAD

Source	DF	SS	MS	F	P
SEMANA	3	313.17	104.390	3.67	0.0148
DIAS	6	1056.25	176.042	6.19	0.0000
CoQ10	3	981.03	327.009	11.51	0.0000
Error	99	2813.62	28.420		
Total	111	5164.06			

Grand Mean 80.313 CV 6.64

Analysis of Variance Table for VITALIDAD

Source	DF	SS	MS	F	P
CoQ10	3	0.01777	0.00592	12.39	0.0000
SEMANA	3	0.00255	0.00085	1.78	0.1557
DIAS	6	0.00626	0.00104	2.18	0.0509
Error	99	0.04732	0.00048		
Total	111	0.07390			

Grand Mean 4.5466 CV 0.48

Anexo 28. Análisis de varianza para los parámetros morfológicos.**Analysis of Variance Table for NAR**

Source	DF	SS	MS	F	P
SEMANA	3	60.07	20.0238	2.21	0.0922
DIAS	6	31.59	5.2649	0.58	0.7455
CoQ10	3	43.36	14.4524	1.59	0.1961
Error	99	898.70	9.0777		
Total	111	1033.71			

Grand Mean 6.1429 CV 49.05

Analysis of Variance Table for DAR

Source	DF	SS	MS	F	P
SEMANA	3	151.464	50.4881	6.68	0.0004
DIAS	6	39.607	6.6012	0.87	0.5171
CoQ10	3	6.107	2.0357	0.27	0.8473
Error	99	747.929	7.5548		
Total	111	945.107			

Grand Mean 93.339 CV 2.94

Analysis of Variance Table for GCs1

Source	DF	SS	MS	F	P
SEMANA	3	11.4452	3.81506	10.04	0.0000
DIAS	6	1.1573	0.19288	0.51	0.8012
CoQ10	3	7.8699	2.62330	6.91	0.0003
Error	99	37.6062	0.37986		
Total	111	58.0786			

Grand Mean 1.9917 CV 30.94

Anexo 29. Prueba de Tukey para el análisis de CoQ10 en las variables motilidad, normalidad, vitalidad y GCs.**Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of MOTILIDAD for CoQ10**

CoQ10	Mean	Homogeneous Groups
1	91.071	A
4	86.250	B
3	85.000	BC
2	82.321	C

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of NORMALIDAD for CoQ10

CoQ10	Mean	Homogeneous Groups
1	85.357	A
4	79.464	B
3	78.393	B
2	78.036	B

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of VITALIDAD for CoQ10

CoQ10	Mean	Homogeneous Groups
1	4.5583	A
4	4.5583	A
3	4.5415	B
2	4.5282	B

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of GCs1 for CoQ10

CoQ10	Mean	Homogeneous Groups
3	2.1682	A
2	2.1584	A
4	2.1057	A
1	1.5344	B

Anexo 30. Prueba de Tukey para el análisis de semanas en las variables DAR y GCs.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of DAR for SEMANA

SEMANA	Mean	Homogeneous Groups
2	4.8930	A
4	3.6430	A
3	3.1790	AB
1	1.6430	B

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of GCs1 for SEMANA

SEMANA	Mean	Homogeneous Groups
1	2.4532	A
2	2.1054	AB
4	1.7974	BC
3	1.6108	C

Anexo 31. Prueba de Tukey para el análisis de semanas en las variables motilidad y normalidad.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of MOTILIDAD for DIAS

DIAS	Mean	Homogeneous Groups
1	89.375	A
2	88.125	AB
3	87.500	AB
5	86.250	AB
4	86.250	AB
6	85.000	B
7	80.625	C

Tukey HSD All-Pairwise Comparison Test of NORMALIDAD for DIAS

Dias	Mean	Homogeneous	Groups
1	84.688	A	
2	83.125	AB	
3	81.563	AB	
4	80.625	AB	
5	79.375	ABC	
6	78.125	BC	
7	74.688	C	