

Efecto de la suplementación con vitaminas liposolubles sobre los patrones de movilidad y cinética en semen de verraco

Effect of fat-soluble vitamin supplementation on the motility and kinematics patterns in boar semen

Francisco Sevilla-Benavides¹, Josué Calderón-Calderón¹, Vinicio Barquero¹, Anthony Valverde *

¹Instituto Tecnológico de Costa Rica, Escuela de Agronomía, Laboratorio de Reproducción Animal, BioTEC, Campus Tecnológico Local San Carlos, 223-21002 Alajuela, Costa Rica

Fecha de recepción: 19 de marzo de 2022. **Fecha de aceptación:** 1 de agosto de 2022.

***Autor de correspondencia:** anvalverde@itcr.ac.cr

Resumen. La suplementación vitamínica es importante para optimizar el potencial reproductivo del verraco. El objetivo de este estudio fue evaluar la calidad seminal del eyaculado de verracos suplementados con vitaminas liposolubles y el efecto de la durabilidad de las muestras de semen a través del tiempo. Se utilizaron cuatro verracos de una línea comercial terminal (Duroc*Pietrain) con edades promedio de 25,3±8,8 meses y de fertilidad conocida. Las muestras de semen se recogieron por la mañana, una vez por semana. Los animales se asignaron aleatoriamente a dos grupos y se alimentaron con cualquiera de los dos tratamientos durante 16 semanas: (1) tratamiento de control (TC, sin suplementos de vitaminas liposolubles), (2) tratamiento que contenía un 100 % de suplementos de vitaminas liposolubles (TS) a base de vitaminas liposolubles (A, D3, E). Se encontraron diferencias ($P<0,05$) en la movilidad total del eyaculado para el tratamiento que recibió suplementación vitamínica (TS) ($85,11 \pm 0,79$ %), respecto del tratamiento control (TC) ($74,39 \pm 0,79$ %). Los animales suplementados con vitaminas presentaron mayor movilidad progresiva ($P<0,05$), con respecto al TC ($79,84 \pm 0,80$ %; $69,63 \pm 0,80$ %, respectivamente). No hubo diferencias ($P>0,05$) en los valores de movilidad total y progresiva a las 24 y 48 horas, pero si hubo una disminución significativa ($P<0,05$) para ambas variables al término de las 96 horas de conservación. Los resultados del TS con respecto al TC en las variables velocidad curvilínea (VCL), velocidad rectilínea (VSL) y porcentaje de linealidad (LIN) fueron mejores ($P<0,05$), durante 24 horas de conservación. La conservación del eyaculado puede contribuir a la eficiencia del manejo en las granjas porcinas y puede verse afectada por distintos factores, donde la suplementación y la nutrición adecuada, pueden aportar a la calidad seminal del verraco.

Palabras clave. Espermatozoide, nutrición, reproducción, sistema CASA.

Abstract. Vitaminic supplementation is important to optimize the boar reproductive potential. The study was aimed to evaluate the sperm quality of boar ejaculates supplemented with fat-soluble vitamins and the effect of the conservation in seminal samples through time. Four boars of a commercial terminal line (Duroc*Pietrain) with average age of 25.3±8.8 months and known fertility, were used. Semen samples were collected in the morning, once per week. Animals were randomly allotted to two groups and fed either of the two treatment for 16 weeks: (1) control treatment (TC without supplementation of fat-soluble vitamin), (2) treatment containing 100% fat-soluble vitamin supplementation (TS) based on fat-soluble vitamin supplementation (A, D3, E). Differences were found ($P<0.05$) in the total motility of the ejaculate for treatment that received vitaminic supplementation (TS) ($85.11 \pm 0.79\%$), regarding the control treatment (TC) ($74.39 \pm 0.79\%$). The supplemented animals with vitamins showed higher progressive motility ($P<0.05$), regarding to TC ($79.84 \pm 0.80\%$; $69.63 \pm 0.80\%$, respectively). No differences were found ($P>0.05$) in total motility and progressive motility values at 24 and 48 hours, but after the 96 hours of conservation differences were found ($P<0.05$) for both variables. Results of TS regarding TC in the curvilinear velocity (VCL), straight-line velocity (VSL), and linearity of forward progression (LIN) variables were higher ($P<0.05$), during the 24 h of conservation. The ejaculates conservation could contribute to the efficiency of management in the pig farms and can be affected by multiple factors where the supplementation and adequate nutrition could contribute to the seminal quality of boar.

Keywords. Spermatozoa, nutrition, reproduction, CASA systems.

1. Introducción

La inseminación artificial (IA) en la industria porcina es realizada generalmente con semen fresco preservado y refrigerado. El semen utilizado por lo general es evaluado por medio de estimaciones subjetivas, las cuales deben ser reemplazadas con los análisis objetivos; esto permitirá alcanzar los requerimientos básicos de la industria, que se basan en mantener la aptitud fertilizante de los eyaculados de los verracos [1]. Asimismo, el objetivo de las evaluaciones consiste en obtener la precisión requerida para la fiabilidad en la estimación de las variables de calidad, por lo tanto, para llegar a alcanzar este tipo de datos se requiere de los sistemas computarizados de análisis seminal (*computer assisted semen analysis* - CASA) [2].

Las restricciones de algunas vitaminas o deficiencias de estas, provoca un desbalance nutricional que influye en la libido y la calidad seminal del eyaculado de los verracos reproductivos [3]. La vitamina A es necesaria para llevar a cabo un adecuado proceso de espermatogénesis mientras que el ácido retinoico es un metabolito alternativo de la vitamina A; que permite controlar la diferenciación del espermatogonio y la adhesión característica de las espermátidas [3]. Por otro lado, la vitamina E y la vitamina C son antioxidantes no enzimáticos, considerados los más importantes en la suplementación nutricional. También, la vitamina E se incluye dentro del grupo de los compuestos grasos solubles, así como los tocoferoles y tocotrienoles, que funcionan como antioxidantes ante el estrés oxidativo [4]. Lo anterior se debe a la acción de la vitamina E que captura los radicales libres y estabiliza la membrana del espermatozoide con la formación de complejos menos nocivos [5]. Además, la alta suplementación con vitamina D, está asociada con la calidad seminal [6].

La conservación del semen ocupa un papel de gran relevancia, para mantener y conservar los germoplasmas; en la búsqueda de la eficiencia reproductiva, y existen ventajas que favorecen al uso racional y económico del eyaculado, dando un mejor aprovechamiento de verracos de alto valor genético [7]. El objetivo del presente estudio consistió en evaluar la calidad seminal del eyaculado a través del tiempo de la conservación, relacionado con el tipo de suplementación vitamínica al que se sometieron los verracos.

2. Materiales y métodos

El experimento fue llevado a cabo en una granja porcina comercial (Agropecuaria Los Sagitarios S.A., Alajuela, Costa Rica) durante el 2020, situada en el noroeste de Costa Rica (Río Cuarto, 10°20'32" N, 84°12'55" O, Alajuela, Costa Rica) siguiendo las leyes y regulaciones para el control de experimentos con animales vivos en Costa Rica. Este estudio fue desarrollado siguiendo los principios de ética y con la aprobación del Comité del Centro de Investigación y Desarrollo en Agricultura Sostenible para el Trópico Húmedo del Instituto Tecnológico de Costa Rica (CIDASTH-ITCR) de acuerdo con la Sección 08/2020, artículo 1.0, DAGSC-100-2020.

2.1 Animales y tratamientos

Cuatro verracos sexualmente maduros y sanos de una línea comercial terminal (Duroc*Pietrain), con una edad de 25,3±8,8 meses al inicio del experimento y de fertilidad conocida, fueron usados como donadores de semen en este estudio. Para el experimento, los verracos reproductores se alojaron individualmente en corrales bien ventilados con una temperatura promedio de 25,79±2,73°C con un rango de 20,20-33,70°C, durante la fase experimental. Los animales fueron alimentados con la mezcla estándar para reproductores elaborada en la finca (tabla 1), que contenía maíz, harina de soya, mezcla de minerales y sal común, como ingredientes para cumplir con los requerimientos de nutrientes. Los machos fueron alimentados por la mañana y por la tarde, consumieron 2,5 kg por día y se les proporcionó agua *ad libitum*.

Tabla 1. Composición nutricional en porcentaje formulado de alimento para verracos reproductores

Nutriente	Mín./Máx.	Porcentaje (%)
Humedad	Máx.	12
Proteína cruda	Mín.	16
Grasa cruda	Mín.	2
Fibra cruda	Máx.	7
Cenizas	Máx.	7
Sal	Mín.	0,4
Sal	Máx.	0,5
Fósforo	Mín.	0,7
Calcio	Mín.	0,8
Calcio	Máx.	1
Energía digestible	Mín.	3300 kcal·kg ⁻¹
E.L.N.	-	56

Mín.: mínimo; Máx.: máximo; E.L.N.: extracto libre de nitrógeno. Alimento formulado y balanceado para 40 kg.

Los animales seleccionados para el estudio se suplementaron por vía intramuscular con un producto comercial, proporcionando vitaminas liposolubles. El proceso se realizó 20 días antes del inicio del experimento. No obstante, a los machos se les continuó realizando extracciones seminales para favorecer el recambio espermático por el epidídimo. La suplementación vitamínica se realizó mensualmente durante toda la etapa de desarrollo del experimento. El experimento consistió en un tratamiento basado en suplementación (TS) con vitaminas (A, D3, E) y un tratamiento control.

El tratamiento control (TC) estuvo constituido por animales sin suplementación, salvo el aporte del concentrado ofrecido por la granja durante el desarrollo del experimento. El tratamiento suplementación (TS) se basó en el aporte de vitaminas (975 000 microgramos de equivalentes de actividad de retinol (μg EAR), 13 125 microgramos (μg), y 4 270 miligramos (mg) de A, D3 y E, respectivamente por cada 400 kg de peso (tabla 2). Las asignaciones fueron completamente aleatorias, para el tratamiento control se asignaron dos verracos, para el tratamiento suplementación se asignaron dos verracos. Se recolectaron un total de 8 eyaculados a razón de cuatro eyaculados por tratamiento.

Tabla 2. Descripción del aporte nutricional de vitaminas en verracos de acuerdo con la distribución experimental

Nutriente	Control	Suplementación
Vitamina A (μg EAR)	225 000	975 000
Vitamina D ₃ (μg)	3 750	13 125
Vitamina E (mg α -tocoferol)	4 020	4 270

μg : microgramo. EAR: equivalentes de actividad de retinol. mg: miligramo.

2.2 Colección y análisis del semen

Las muestras de semen se recolectaron por la mañana, una vez por semana, utilizando la técnica de la "mano enguantada" [8] y se colocaron inmediatamente en un baño maría a 37°C en el laboratorio de la granja. En todos los casos, las fracciones ricas en esperma se recolectaron y diluyeron con un diluyente comercial (Zoosperm ND5; Import-Vet, Barcelona, España) para dar como resultado una concentración de aproximadamente $3,7 \times 10^9$ espermatozoides por dosis. Las muestras de cada eyaculado se evaluaron en cuanto a movilidad, morfología y parámetros de concentración (Spermacue, Minitube, GmbH, Tiefenbach, Alemania) siguiendo protocolos establecidos, y sólo se utilizaron eyaculados con al menos 70 % de espermatozoides móviles, 80 % espermatozoides morfológicamente normales y más de

$8,5 \times 10^9$ espermatozoides totales por eyaculado. Las muestras de semen se transportaron al laboratorio en las mismas condiciones refrigeradas (17°C) utilizadas para la distribución comercial. Cada eyaculado se agitó y dividió en dos submuestras con un volumen de un mililitro (1 ml) en un tubo Eppendorf® (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) y se mantuvo a 37 °C durante 30 minutos antes del análisis seminal.

2.3 Análisis de variables de cinética espermática

El análisis de la cinética espermática fue realizado usando cámaras de recuento desechables ISAS®D4C16 (Proiser R+D, S.L., Paterna, España), las cuales fueron precalentadas a 37°C. Posterior a agitar las muestras de semen, se colocaron 2,7 microlitros (μl) en un campo de la cámara de recuento por capilaridad. El análisis fue realizado usando el Sistema CASA-Mot ISAS®v1 (*Integrated Semen Analysis System*, Proiser R+D, Paterna, España) equipado con una cámara de video (Proiser 782M, Proiser R+D), con 25 fotogramas adquiridos por campo a una tasa de fotogramas de 25 Hz y una resolución final de 768 x 576 píxeles. La cámara estaba unida a un microscopio UB203 (UOP/Proiser R+D) con un ocular de 1x y un objetivo de contraste de fase negativo 10x (AN 0,25) y una platina calefactora integrada mantenida a $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

2.4 Análisis computarizado de la cinética espermática

El análisis CASA fue realizado en siete campos microscópicos para alcanzar un mínimo de 600 células analizadas por muestra. Las variables cinéticas consideradas en el estudio fueron: la velocidad rectilínea (VSL, $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), correspondiente a la línea recta desde el principio hasta el final de la trayectoria; la velocidad curvilínea (VCL, $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), medida sobre la trayectoria real de punto a punto seguida por el espermatozoide; la velocidad de trayectoria promedio (VAP, $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), calculada como una interpolación entre los puntos correspondientes a la trayectoria de la VCL. La amplitud de desplazamiento lateral de la cabeza (ALH, μm), expresada como la altura máxima (o media) de la amplitud del movimiento oscilatorio de la trayectoria curvilínea; y la frecuencia de entrecruzamiento (BCF, Hz), expresada como el número de veces que la trayectoria curvilínea cruza la lineal. Tres relaciones de progresión expresadas como porcentajes, a partir de las mediciones de velocidad descritas anteriormente: linealidad de la progresión directa (LIN= $\text{VSL} / \text{VCL} * 100$), rectitud (STR= $\text{VSL} / \text{VAP} * 100$) e índice de oscilación (WOB= $\text{VAP} / \text{VCL} * 100$). Además, la movilidad (%), el porcentaje total de células móviles y móviles progresivas (%), correspondiente a los espermatozoides que nadan rápidamente hacia adelante en línea recta (evaluado como índice de rectitud ≥ 45 %; VAP $\geq 25 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$).

El análisis de las variables de movilidad y cinética espermática mencionado anteriormente fue llevado a cabo a 24, 48 y 96 h después de la extracción del eyaculado.

3. Resultados y discusión

Se encontraron diferencias ($P < 0,05$) entre tratamientos para la variable movilidad total, siendo mayor para TS ($85,11 \pm 0,79$ %) en comparación con el tratamiento control ($74,39 \pm 0,79$ %). De igual manera, el porcentaje de espermatozoides con movilidad progresiva fue mayor ($P < 0,05$) en el tratamiento con suplementación ($79,84 \pm 0,80$ %) con respecto al tratamiento control ($69,63 \pm 0,80$ %). Lo anterior se relaciona con otros estudios, donde la suplementación vitamínica, mejoró la movilidad espermática y el número de células efectivas [6]. Los espermatozoides con movimiento rápido fueron mayores ($P < 0,05$) en TS con respecto al tratamiento control. En relación con los espermatozoides que presentaron movimiento medio y lento, hubo mayor porcentaje de células con estos tipos de movimiento en el tratamiento control con respecto a TS ($P < 0,05$). Otro estudio realizado sin suplementación en condiciones tropicales, reportan valores de $47,34 \pm 1,51$ %, $22,84 \pm 0,77$ % y $7,42 \pm 0,59$ %, para los patrones de movimiento rápido, medio y lento, respectivamente [9], estos resultados fueron menores a los valores obtenidos en el presente estudio para ambos tratamientos.

Al realizar una comparación entre los tiempos de análisis post recolección de las muestras, se obtuvo que, para la movilidad total y progresiva, el porcentaje fue mayor a las 24 y 48 h, respecto de las 96 ($P < 0,05$). Sin embargo, no hubo diferencias para estas variables cuando las muestras se analizaron a 24 y 48 h. Al analizar los espermatozoides con movimiento rápido y lento, no se presentaron diferencias ($P > 0,05$) entre los tres periodos de análisis. En el caso de las células que presentaron un movimiento medio se obtuvo que el mayor porcentaje fue a las 48 h ($11,90 \pm 0,66$ %) respecto de los porcentajes obtenidos a las 24 y 96 h (tabla 3).

Además, en cuanto a la relación de movilidad y la conservación del eyaculado, las afectaciones se atribuyen al tipo de diluyente utilizado [10], sin embargo, se conoce que restricciones de vitaminas en la dieta de los verracos podrían afectar los valores de movilidad y calidad seminal así como la espermátogénesis [3]. Además, la ausencia de algunas vitaminas en la dieta de verracos podría provocar alteraciones en la cinética [11]. En otras especies, también se ha reportado

el efecto de la suplementación vitamínica y su relación con los patrones del movimiento espermático [12]. En este estudio, los tratamientos tuvieron las mismas condiciones de clima, manejo, diluyente y se controlaron los demás factores que podrían influir en los parámetros de movilidad y cinética, como la temperatura y tasa de dilución [13]; por lo tanto, se atribuye la mejora para dichos resultados por la suplementación vitamínica realizada en el TS.

En el tratamiento control se observó que el patrón en la variable VCL fue inconsistente, dado que los valores más altos se obtuvieron a las 24 y 96 h, sin diferencias ($P > 0,05$) entre ambos. Las variables VSL, VAP, LIN, STR y WOB tuvieron diferencias ($P < 0,05$) entre los valores obtenidos a las 24, 48 y 96 h. La BCF no presentó diferencias ($P > 0,05$) a las 24 h ($8,84 \pm 0,07$ Hz) y 48 h ($9,35 \pm 0,07$ Hz), siendo estos valores distintos ($P < 0,05$) con el valor obtenido a las 96 h ($10,38 \pm 0,07$). Para TS la variable VCL, presentó diferencias significativas a las 24, 48 y 96 h, siendo el valor más alto a las 96 h ($87,43 \pm 0,55 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$). La VSL fue mayor a las 24 h y con diferencias ($P < 0,05$) en comparación con los datos de las 48 y 96 h. En estos dos últimos tiempos de análisis, no hubo diferencias ($P > 0,05$). La variable VAP presentó diferencias ($P < 0,05$) en los tres tiempos de análisis, siendo el valor más alto a las 24 h. Para las variables que representaron los índices de progresividad espermática LIN, STR, WOB se presentaron diferencias ($P < 0,05$) a las 24, 48 y 96 h. La ALH y BCF no presentaron diferencias ($P > 0,05$) a las 24 y 48 h, post análisis, sin embargo, a las 96 h si hubo diferencias ($P < 0,05$) con respecto a los datos obtenidos a las 24 y 48 h.

Al realizar comparaciones entre las horas post recolección entre los tratamientos, se encontraron diferencias ($P < 0,05$) para las variables de VCL, VAP, LIN, WOB en las comparaciones entre tratamientos en los distintos tiempos de análisis. Para la VSL, hubo diferencias ($P < 0,05$) a las 24 y 48 h, no siendo así para las 96 h posteriores a la recolección, donde no hubo diferencias ($P > 0,05$). Para la variable STR no se encontraron diferencias ($P > 0,05$) a las 24 h entre los tratamientos, pero a las 48 y 96 h si hubo diferencias ($P < 0,05$) entre ambos tratamientos (tabla 4). En el tratamiento TS, se obtuvieron valores más altos de VCL, VSL y VAP a las 24 h, a las 48 h hubo valores más altos de VCL y VAP. A las 96 h, los valores de VCL y VAP, en TS, respecto del tratamiento control, lo que sugiere una mayor capacidad de la célula para mantener las condiciones de velocidad promedio mediada por suplementación de vitaminas liposolubles.

Tabla 3. Variables de movilidad (media±EE) en el eyaculado de verraco evaluado en diferentes tiempos de análisis

Variable	Tratamiento (T)		Tiempo (H)			Significancia		
	Control	Suplementación	24 h	48 h	96 h	T	H	T*H
Movilidad total	74,39±0,79 ^b	85,11±0,79 ^a	80,82±0,85 ^j	81,89±0,85 ^j	76,54±0,85 ^k	*	*	ns
Movilidad progresiva	69,63±0,80 ^b	79,84±0,80 ^a	76,41±0,87 ^j	76,02±0,87 ^j	71,77±0,87 ^k	*	*	ns
Espermatozoides rápidos	57,91±1,30 ^b	78,59±1,30 ^a	69,58±1,42 ^j	68,43±1,42 ^j	66,73±1,42 ^j	*	ns	ns
Espermatozoides medios	14,15±0,61 ^a	6,08±0,61 ^b	9,76±0,66 ^k	11,90±0,66 ^j	8,67±0,66 ^k	*	*	*
Espermatozoides lentos	2,37±0,20 ^a	0,44±0,20 ^b	1,57±0,22 ^j	1,54±0,22 ^j	1,12±0,22 ^j	*	ns	ns

EE: error estándar. h: horas. Tratamiento (T), Tiempo (H) y la interacción de T con H (T*H). *P<0,05. No significativo (ns). ^{a-b} Diferente letra indica diferencias entre tratamientos. ^{j-k} Diferente letra indica diferencias entre tiempo de análisis. P<0,05.

Tabla 4. Variables de cinética (media±EE) en eyaculados de verraco evaluados a diferentes tiempos de análisis

Variable	TC			TS		
	24 h	48 h	96 h	24 h	48 h	96 h
n	4 258	4 319	4 014	5 778	6 405	6 431
VCL	70,22±0,59 ^{by}	66,56±0,59 ^{ay}	70,33±0,60 ^{by}	81,66±0,56 ^{kx}	79,80±0,55 ^{lx}	87,43±0,55 ^{jx}
VSL	46,17±0,46 ^{cy}	42,69±0,48 ^{bx}	41,26±0,49 ^{ax}	48,17±0,46 ^{ix}	41,20±0,46 ^{ky}	41,62±0,46 ^{kx}
VAP	50,43±0,58 ^{cy}	47,55±0,58 ^{by}	46,55±0,59 ^{ay}	53,36±0,57 ^{ix}	49,12±0,56 ^{ix}	50,42±0,56 ^{kx}
LIN	66,61±0,40 ^{cx}	65,02±0,39 ^{bx}	60,87±0,40 ^{ax}	59,91±0,37 ^{iy}	53,26±0,36 ^{ky}	49,22±0,36 ^{ly}
STR	88,65±0,49 ^{cx}	87,76±0,49 ^{bx}	87,30±0,50 ^{ax}	88,13±0,47 ^{ix}	82,00±0,47 ^{ky}	81,32±0,47 ^{ly}
WOB	72,93±0,34 ^{cx}	72,20±0,34 ^{bx}	67,93±0,35 ^{ax}	66,28±0,32 ^{iy}	63,00±0,32 ^{ky}	59,20±0,32 ^{ly}
ALH	2,39±0,02 ^{by}	2,23±0,02 ^{ay}	2,41±0,02 ^{by}	2,86±0,02 ^{kx}	2,84±0,02 ^{kx}	3,14±0,02 ^{ix}
BCF	8,84±0,07 ^{ay}	9,35±0,07 ^{by}	10,38±0,07 ^{cx}	9,76±0,07 ^{kx}	9,76±0,07 ^{kx}	10,42±0,07 ^{jx}

n: número total de espermatozoides. EE: error estándar. h: horas. VCL: velocidad curvilínea ($\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$); VSL: velocidad rectilínea ($\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$); VAP: velocidad promedio de la trayectoria ($\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$); LIN: linealidad de la progresión (%); STR: índice de rectitud (%); WOB: oscilación de la trayectoria (%); ALH: amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza (μm); BCF: frecuencia de entrecruzamiento (Hz). TC: tratamiento control, TS: tratamiento suplementación ^{a-c} Diferente letra indica diferencias entre tiempo de análisis dentro de TC. ^{j-l} Diferente letra indica diferencias entre tiempo de análisis dentro de TS. ^{x-y} Diferente letra indica diferencias entre tratamientos dentro del tiempo de análisis. P<0,05.

Algunos estudios reportan que, independientemente del diluyente utilizado u otros factores, la conservación tiene un efecto sobre la calidad seminal mientras que otros autores argumentan que la influencia del tiempo de conservación reduce los valores de movilidad total y progresiva, pero no afecta a las variables de cinética [14]. En otras especies como la equina se ha reportado diferencias tanto en las variables de movilidad total y progresiva, como en la cinética espermática, con suplementación vitamínica y conservación mayor a 36 horas [12]. Asimismo, en verracos, la suplementación mejora la calidad seminal, en semen conservado [5].

La nutrición, por lo tanto, es considerada como un factor que puede incidir en la calidad del movimiento y cinética espermática. La adecuada nutrición y el cumplimiento de los requerimientos nutricionales cumplen un papel importante en el desempeño reproductivo del verraco [3]. Además, durante el periodo de conservación del eyaculado, las vitaminas pueden favorecer una función antioxidante donde intervienen en la regulación de las sustancias oxígeno reactivas (ROS) [11]. Los valores bajos de movilidad progresiva y movilidad total podrían estar relacionados con la hiperactivación de las células, lo cual se asemeja con los resultados de TC de este estudio en ausencia de suplementación vitamínica, mientras que los valores altos de movilidad total y progresiva encontrados en TS, podrían asociarse con la fertilidad, pero no pueden ser considerados como buenos predictores de esta [15].

4. Conclusiones

- La suplementación vitamínica mejoró los parámetros de movilidad total y progresiva.
- La movilidad total, progresiva y la cinética espermática, disminuye conforme aumenta el tiempo de conservación del eyaculado.
- La velocidad curvilínea, no se relaciona de forma consistente con la suplementación vitamínica y la conservación del eyaculado.
- La suplementación vitamínica mejoró los movimientos rápidos progresivos y rectilíneos de los espermatozoides hasta las 24 h de conservación.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Agropecuaria Los Sagitarios S.A. por proveer las dosis de semen. Fundación para el Fomento y Promoción de la Investigación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria de Costa Rica (FITTACORI; "Proyecto F23-19") y Vicerrectoría de Investigación y Extensión "Proyecto VIE-5402-2151-1015" del Instituto Tecnológico de Costa Rica.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener algún conflicto de interés.

REFERENCIAS

- [1] M. De Ambrogi et al., "Effect of storage in short- and long-term commercial semen extenders on the motility, plasma membrane and chromatin integrity of boar spermatozoa," *Int. J. Androl.*, vol. 29, no. 5, pp. 543–552, Oct. 2006, doi: 10.1111/j.1365-2605.2006.00694.x.
- [2] R. Amann and D. Waberski, "Computer-assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potential developments," *Theriogenology*, vol. 81, no. 1, pp. 5-17.e3, Jan. 2014, doi: 10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2013.09.004.
- [3] Y. Cheah and W. Yang, "Functions of essential nutrition for high quality spermatogenesis," *Adv. Biosci. Biotechnol.*, vol. 02, no. 04, pp. 182–197, Aug. 2011, doi: 10.4236/abb.2011.24029.
- [4] S. Alonge, M. Melandri, R. Leoci, G. M. Lacalandra, M. Caira, and G. G. Aiudi, "The effect of dietary supplementation of Vitamin E, Selenium, Zinc, Folic Acid, and N-3 polyunsaturated fatty acids on sperm motility and membrane properties in dogs," *Animals*, vol. 9, no. 2, p. 34, Jan. 2019, doi: 10.3390/ani9020034.
- [5] Q. Liu, Y. Zhou, R. Duan, H. Wei, J. Peng, and S. Jiang, "Dietary n-6:n-3 ratio and Vitamin E improve motility characteristics in association with membrane properties of boar spermatozoa," *Asian J. Androl.*, vol. 19, no. 2, pp. 223–229, 2017, doi: 10.4103/1008-682X.170446.
- [6] Y. Lin et al., "Effects of the different levels of dietary vitamin D on boar performance and semen quality," *Livest. Sci.*, vol. 203, pp. 63–68, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.livsci.2017.07.003.
- [7] A. Lopez-Rodriguez, A. Van Soom, I. Arsenakis, and D. Maes, "Boar management and semen handling factors affect the quality of boar extended semen," *Porc. Heal. Manag.*, vol. 3, p. 15, Jul. 2017, doi: 10.1186/s40813-017-0062-5.
- [8] J. Hancock and G. Hovell, "The collection of boar semen," *Vet. Rec.*, vol. 71, pp. 664–665, 1959.
- [9] A. Valverde, M. Madrigal-Valverde, M. Camacho-Calvo, A. Zambrana-Jiménez, and L. López, "Efecto de la composición racial sobre la calidad espermática de verracos," *Agron. Mesoam.*, vol. 29, no. 3, p. 485, Sep. 2018, doi: 10.15517/ma.v29i3.32445.
- [10] E. Pinart, M. Yeste, N. Prieto-Martínez, J. Reixach, and S. Bonet, "Sperm quality and fertility of boar seminal doses after 2days of storage: Does the type of extender really matter?," *Theriogenology*, vol. 83, no. 9, pp. 1428–1437, Jun. 2015, doi: 10.1016/j.theriogenology.2015.01.007.
- [11] P. Horky, J. Sochor, J. Skladanka, I. Klusonova, and P. Nevrkla, "Effect of selenium, vitamins E and C on antioxidant potential and quality of boar ejaculate," *J. Anim. Feed Sci.*, vol. 25, no. 1, pp. 29–36, 2016, doi: 10.22358/jafs/65584/2016.
- [12] M. L. Freitas, C. S. Bouéres, T. A. Pignataro, F. J. Gonçalves de Oliveira, M. A. de Oliveira Viu, and R. A. de Oliveira, "Quality of Fresh, Cooled, and Frozen Semen From Stallions Supplemented with Antioxidants and Fatty Acids," *J. Equine Vet. Sci.*, vol. 46, pp. 1–6, Nov. 2016, doi: 10.1016/j.jevs.2016.07.003.
- [13] C. Murphy, S. Holden, E. Murphy, A. Cromie, P. Lonergan, and S. Fair, "The impact of storage temperature and sperm number on the fertility of liquid-stored bull semen," *Reprod. Fertil. Dev.*, vol. 28, no. 9, pp. 1349–1359, 2016, doi: 10.1071/RD14369.
- [14] M. B. Menegat et al., "Sperm quality and oxidative status as affected by homogenization of liquid-stored boar semen diluted in short- and long-term extenders," *Anim. Reprod. Sci.*, vol. 179, pp. 67–79, Apr. 2017, doi: 10.1016/j.anireprosci.2017.02.003.
- [15] J. Yáñez, M. Silvestre, P. Santolaria, and C. Soler, "CASA-Mot in mammals: an update.," *Reprod. Fertil. Dev.*, vol. 30, no. 6, pp. 799–809, Mar. 2018, doi: 10.1071/RD17432.