



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE
LA AGRICULTURA.**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

**TESIS PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA: EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA CALIDAD
SEMINAL BAJO DOS NIVELES NUTRICIONALES EN
SEMENTALES DE RAZAS *Bos taurus* Y *Bos indicus* EN
HACIENDA ZOILA LUZ, SANTO DOMINGO DE LOS
TSÁCHILAS**

**AUTORES: AYALA SALTOS BYRON DAMIAN
MOREJON MORETA ANGEL EDUARDO**

DIRECTOR: Dr. FELIX VALDIVIESO

CODIRECTOR: Dr. FREDY CARRERA MSc.

SANTO DOMINGO – ECUADOR

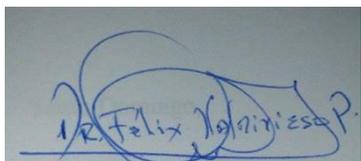
2015

CERTIFICACIÓN

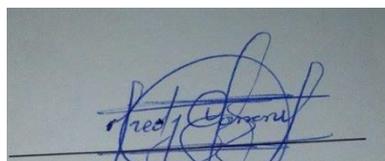
Los suscritos, docentes de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria, Santo Domingo, certificamos que el Proyecto de Investigación de Grado intitulado **“EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA CALIDAD SEMINAL BAJO DOS NIVELES NUTRICIONALES EN SEMENTALES DE RAZAS *Bos taurus* Y *Bos indicus* EN HACIENDA ZOILA LUZ, SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS** cumple las disposiciones reglamentarias establecidas en la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

Esta investigación desarrollada por los señores egresados AYALA SALTOS BYRON DAMIAN; MOREJON MORETA ANGEL EDUARDO, fue guiada en forma permanente por nuestra parte y en las conclusiones y recomendaciones de este documento se destaca la importancia para el sector ganadero de la zona.

Santo Domingo, _____ de _____ del 2015



Dr. FELIX VALDIVIESO
DIRECTOR.



Dr. FREDY CARRERA Ms.
CODIRECTOR.

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

AYALA SALTOS BYRON DAMIAN

Y

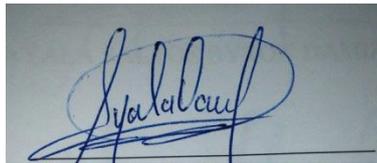
MOREJON MORETA ANGEL EDUARDO.

Declaro que:

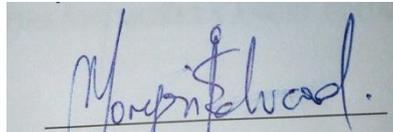
El proyecto de grado denominado **“EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA CALIDAD SEMINAL BAJO DOS NIVELES NUTRICIONALES EN SEMENTALES DE RAZAS *Bos taurus* Y *Bos indicus* EN HACIENDA ZOILA LUZ, SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS,** fue desarrollado con base a una investigación exhaustiva, respetando derechos intelectuales de terceros, conforme las citas que constan al pie de las páginas correspondientes, cuyas fuentes se incorporan en la bibliografía. Consecuentemente este trabajo es de mi autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance científico del proyecto de grado en mención.

Santo Domingo,



AYALA SALTOS BYRON DAMIAN



MOREJON MORETA ANGEL EDUARDO

AUTORIZACIÓN

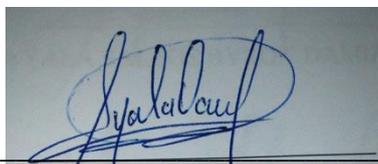
AYALA SALTOS BYRON DAMIAN

Y

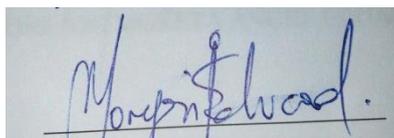
MOREJON MORETA ANGEL EDUARDO.

Autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE la publicación, en la biblioteca virtual de la Institución del trabajo **“EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA CALIDAD SEMINAL BAJO DOS NIVELES NUTRICIONALES EN SEMENTALES DE RAZAS *Bos taurus* Y *Bos indicus* EN HACIENDA ZOILA LUZ, SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS**, manifiesto que el contenido, ideas y discusiones son de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Santo Domingo,



AYALA SALTOS BYRON DAMIAN



MOREJON MORETA ANGEL EDUARDO

DEDICATORIA

A Dios.

Por darnos la oportunidad de experimentar un día más, de nuestras valiosas vidas y cumplir los sueños y objetivos diariamente propuestos.

Este Proyecto va dedicado para nuestras padres que nos proporcionaron todo el amor y las herramientas necesarias para ser alguien en la vida, estando con nosotros en cada batalla y siendo parte fundamental de nuestro corazón , a todas aquellas personas que confiaron en nuestro trabajo y pasión por nuestra profesión, a todos los miembros que conforman nuestra familia agropecuaria, a la vida siendo este el acápite máximo, para la conclusión de un sueño, que con mucho esfuerzo colaboración y trabajo, se ha hecho realidad.

*Ayala Saltos Byron Damián
Morejon Moreta Angel Eduardo*

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a todas las personas que hicieron parte parcial o completa de este proyecto de investigación, por brindar un apoyo incondicional y el interés necesario para llevar a cabo las diferentes actividades

A la Universidad de las Fuerzas Armadas, a la Carrera de Ingeniería Agropecuaria Santo Domingo – ESPE-IASA II y al Laboratorio de Biotecnología Animal.

Al Crnl. E.M.C. Francisco Narváez, al Mayo Vet. Julio Tobar, a los Dr(s) Félix Valdivieso y Fredy Carrera, Director y Codirector de tesis respectivamente, por su ayuda en el desarrollo del presente trabajo.

Al Ing. Vinicio Uday, por su colaboración para la culminación de este trabajo.

Al Doctor Santiago Ulloa por su amistad y apoyo en el desarrollo y culminación de la investigación.

Al Doctor Cesar Ulloa por su apoyo técnico y práctico en el desarrollo de las actividades

INDICE DE CONTENIDO

Certificación	ii
Autoría de Responsabilidad	iii
Autorización	iv
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
Resumen	xix
Abstract	xx
I. Introducción	1
1.1 Objetivo General	2
1.2 Objetivo Especifico	2
II. Revisión de Literatura	3
2.1 Anatomía Reproductiva del Toro	3
2.1.1 Partes y Funciones del Aparato Reproductor del Toro	3
2.1.1.1 Escroto	3
2.1.1.2 Testículos	3
2.1.1.3 Epidídimo	4
2.1.1.4 Las Vesículas Seminales	4
2.1.1.5 Próstata	5
2.1.1.6 Uretra	5
2.1.1.7 Glándulas Bulbo Uretrales o de Cowper	5
2.1.1.8 Pene	5
2.2 Importancia de la Reproducción	6
2.2.1 Espermatogénesis	6
2.2.2 El semen	7
2.2.2.1 Métodos de colección de semen	7
2.2.2.1.1 Método de electroeyaculación	8
2.3 Nutrición	10
2.3.1 Nutrición en reproductores bovinos	10
2.3.2 Los minerales	12
2.3.2.1 Clasificación de los Minerales	13
2.3.2.2 Funciones de los Minerales	14
2.4. Evaluación de la Calidad Seminal	14
2.4.1 Características Macroscópicas del Semen	14
2.4.2 Características Microscópicas del Semen	15
2.5 Evaluación de la Calidad Seminal Asistida por Computadora (CASA)	18
2.5.1. Parámetros del Sistema CASA	19
2.5.2. Ventajas del Sistema CASA	20
2.5.3 Desventajas del Sistema CASA	22
III. Materiales y Métodos	23

3.1	Ubicación del Área de investigación	23
3.1.1.	Ubicación Política	23
3.1.2.	Ubicación Geográfica	23
3.1.3.	Ubicación Ecológica	24
3.1.3.1.	Características Climáticas	25
3.2	Materiales	25
3.3	Métodos	27
3.3.1	Diseño Experimental	27
3.3.1.1.	Factores de Prueba	27
3.3.1.2	Tratamientos Comparativos	27
3.3.1.3.	Tipo de Diseño	28
3.3.1.4.	Repeticiones o Bloque	28
3.3.1.5.	Características de la Unidad Experimental	28
3.3.2	Análisis Estadístico	29
3.3.2.1.	Esquema de Análisis de Varianza	29
3.3.2.2.	Coeficiente de Variación	29
3.3.2.3.	Análisis funcional	29
3.3.4	VARIABLES A MEDIR	30
3.3.5	Métodos Específicos en el Manejo del Experimento	30
3.3.5.1.	Metodología Específica para Extracción de Semen	30
3.3.5.2	Metodología para Análisis de Laboratorio de Semen Fresco	32
3.3.5.3	Metodología de Análisis de Datos	35
IV.	Resultados y Discusión	37
4.1	Caracterización de Toros Experimentales:	37
4.2	Análisis de la Influencia Nutricional en las Características Seminales Macro y Microscópicas en Toros de Raza <i>Bos taurus</i> y <i>Bos indicus</i>	38
4.2.1	Análisis de Varianza para los Resultados Obtenidos	43
V.	Conclusiones	106
VI.	Recomendaciones	107
VII.	Bibliografía	108
VIII	Anexo	120

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
Cuadro 1.	Factores de Prueba del Experimento	27
Cuadro 2.	Tratamientos comparados en el experimento de calidad espermática entre dos razas bovinas: Bos taurus x Bos indicus bajo el efecto de dos niveles nutricionales	27
Cuadro 3.	Análisis de Varianza del Experimento	29
Cuadro 4.	Caracterización de toros Experimentales	37
Cuadro 5.	Selección Aleatoria de Toros para Tratamientos	38
Cuadro 6.	Promedios de Extracciones de variables de la calidad espermática en el experimento.	39
Cuadro 7.	Promedios de Tratamientos, de variables de la calidad espermática en el experimento.	39
Cuadro 8.	Promedios de resultados de las variables analizadas, en comparación de los tratamientos correspondientes a la primera extracción.	40
Cuadro 9.	Promedios de resultados de las variables analizadas, en comparación de los tratamientos correspondientes a la segunda extracción.	41
Cuadro 10.	Promedios de resultados de las variables analizadas, en comparación de los tratamientos correspondientes a la tercera extracción.	41
Cuadro 11.	Promedios de resultados de las variables analizadas, en comparación de los tratamientos correspondientes a la cuarta extracción.	42
Cuadro 12.	Promedios de resultados de las variables analizadas, en comparación de los tratamientos correspondientes a la quinta extracción.	42
Cuadro 13.	Promedios de resultados de las variables analizadas, en comparación de los tratamientos correspondientes a todas las extracciones.	43
Cuadro 14.	Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable pH	44
Cuadro 15.	Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable temperatura	48

Cuadro 16.	Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable volumen	52
Cuadro 17.	Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable concentración	54
Cuadro 18.	Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable Motilidad Masal	59
Cuadro 19.	Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable motilidad progresiva	62
Cuadro 20.	Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable velocidad curvilínea	66
Cuadro 21.	Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable velocidad promedio	70
Cuadro 22.	Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable velocidad rectilínea	72
Cuadro 23.	Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable vitalidad	75
Cuadro 24.	Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable Morfología-Normalidad	77
Cuadro 25.	Cuadrados medios de variables para las fuentes de variación del experimento obtenidas del análisis de varianza de los resultados de todas extracciones	81

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Referencia Cartográfica de ubicación del área de Investigación	24
Figura 2.	Croquis del área de Investigación	24
Figura 3.	Diagrama de barras de la variable pH para el factor raza, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.	45
Figura 4.	Diagrama de barras de la variable pH para el factor nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.	46
Figura 5.	Diagrama de barras de la variable pH para la interacción de factores raza por nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.	47
Figura 6.	Diagrama de barras de la variable temperatura para el factor raza, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.	49
Figura 7	Diagrama de barras de la variable temperatura para el factor nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.	50
Figura 8.	Diagrama de barras de la variable temperatura para la interacción de factores raza por nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.	50
Figura 9.	Diagrama de barras de la variable volumen para el factor raza, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.	53
Figura 10.	Diagrama de barras de la variable concentración para el factor raza, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.	55
Figura 11.	Diagrama de barras de la variable concentración para el factor Nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.	57

- Figura 12. Diagrama de barras de la variable concentración para la interacción de factores raza por nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 57
- Figura 13. Diagrama de barras de la variable motilidad masal para el factor nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 60
- Figura 14. Diagrama de barras de la variable motilidad masal para la interacción de factores raza por nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 61
- Figura 15. Diagrama de barras de la variable motilidad progresiva para el factor raza, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 63
- Figura 16. Diagrama de barras de la variable motilidad progresiva para el factor nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 64
- Figura 17. Diagrama de barras de la variable motilidad progresiva para la interacción de factores raza por nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 65
- Figura 18. Diagrama de barras de la variable velocidad curvilínea para el factor raza, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 67
- Figura 19. Diagrama de barras de la variable velocidad curvilínea para el factor nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 68
- Figura 20. Diagrama de barras de la variable velocidad curvilínea para la interacción de factores raza por nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 69

- Figura 21. Diagrama de barras de la variable velocidad promedio para el factor raza, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 71
- Figura 22. Diagrama de barras de la variable velocidad promedio para el factor nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 72
- Figura 23. Diagrama de barras de la variable velocidad rectilínea para el factor raza, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 73
- Figura 24. Diagrama de barras de la variable velocidad rectilínea para el factor nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 74
- Figura 25. Diagrama de barras de la variable velocidad rectilínea para la interacción de factores raza por nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 74
- Figura 26. Diagrama de barras de la variable vitalidad para el factor raza, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 76
- Figura 27. Diagrama de barras de la variable vitalidad para el factor nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 77
- Figura 28. Diagrama de barras de la variable morfología normal para el factor nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 78
- Figura 29. Diagrama de barras de la variable morfología normal para la interacción de factores raza por nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento. 79
- Figura 30. Diagrama de barras de la variable temperatura para el factor raza, del análisis de varianza de todas las extracciones realizadas en el experimento. 84

- Figura 31. Diagrama de barras de la variable temperatura para el factor nutrición, del análisis de varianza de todas las extracciones realizadas en el experimento. 84
- Figura 32. Diagrama de barras de la variable temperatura para la interacción de factores raza por nutrición, del análisis de varianza de todas las extracciones realizadas en el experimento. 85
- Figura 33. Diagrama de barras de la variable volumen para el factor raza, del análisis de varianza de todas las extracciones realizadas en el experimento. 86
- Figura 34. Diagrama de barras de la variable concentración para el factor raza, del análisis de varianza de todas las extracciones realizadas en el experimento. 87
- Figura 35. Diagrama de barras de la variable vitalidad para el factor raza, del análisis de varianza de todas las extracciones realizadas en el experimento 88
- Figura 36. Diagrama de barras de la variable normalidad morfológica para la interacción de factores raza por nutrición, del análisis de varianza de todas las extracciones realizadas en el experimento. 89
- Figura 37. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable concentración. 90
- Figura 38. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable pH. 91
- Figura 40. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable volumen. 93
- Figura 41. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable motilidad masal (mm). 94
- Figura 42. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable motilidad progresiva (mp). 95

- Figura 43. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable velocidad curvilínea (VCL). 96
- Figura 44. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable velocidad promedio (VAP). 97
- Figura 45. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable velocidad rectilínea (VSL). 98
- Figura 46. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable vitalidad. 99
- Figura 47. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable morfología. 100
- Figura 48. Diagrama de líneas correspondiente al comportamiento de la variable pH durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales 100
- Figura 49. Diagrama de líneas correspondiente al comportamiento de la variable temperatura durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales 101
- Figura 50. Diagrama de barras correspondiente al comportamiento de la variable volumen durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales 101
- Figura 51. Diagrama de líneas correspondiente al comportamiento de la variable concentración durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales 102
- Figura 52. Diagrama de líneas correspondiente al comportamiento de la variable motilidad masal durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos

	experimentales	
		102
Figura 53.	Diagrama de líneas correspondiente al comportamiento de la variable motilidad progresiva durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales	103
Figura 54.	Diagrama de barras correspondiente al comportamiento de la variable velocidad curvilínea durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales	103
Figura 55.	Diagrama de barras correspondiente al comportamiento de la variable velocidad promedio durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales	104
Figura 56.	Diagrama de barras correspondiente al comportamiento de la variable velocidad rectilínea durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales	104
Figura 57.	Diagrama de barras correspondiente al comportamiento de la variable vitalidad durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales	105
Figura 58.	Diagrama de barras correspondiente al comportamiento de la variable normalidad morfológica durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales	105

INDICE DE ANEXOS

Anexo1. Hoja de Campo y Laboratorio para semen fresco	;	Error!
Marcador no definido.		
Anexo2. Resultados Varios	;	Error!
Marcador no definido.		
Anexo 3. Resultados del Análisis de Varianza	;	Error!
Marcador no definido.		
Anexo 4 Resultados generales	;	Error!
Marcador no definido.		
Anexo 5 Fotografías de actividades	;	Error!
Marcador no definido.		

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar las características seminales macroscópicas y microscópicas del semen de toros raza *Bos taurus* (Holstein) y *Bos indicus* (Brahman) bajo el efecto de dos niveles nutricionales, para analizar la influencia de la nutrición sobre las variables de calidad espermática, en razas de mayor predominio en Santo Domingo de los Tsáchilas. La investigación se llevó a cabo en la parroquia Luz de América en la hacienda Zoila Luz, se evaluaron 16 sementales de razas Brahman y Holstein, con una edad entre 18 a 22 meses de edad, las variables evaluadas fueron, pH, temperatura, color, volumen, concentración, motilidad masal, motilidad progresiva, vitalidad, morfología muchas de ellas se analizaron con la ayuda del sistema computarizado CASA. Para el análisis de las variables estudiadas se utilizó la estadística descriptiva, el análisis de varianza para un diseño completamente al azar, con prueba de significancia DMS con un valor ($p < 0,05$), El promedio de pH dentro del experimento fue de 7,2, para la variable color, fue lechoso, temperatura 30°C, Volumen 6,8 ml, concentración 722×10^6 espermatozoides/ml, motilidad masal, 71,9 %, motilidad progresiva 62,97 %, Normalidad morfológica 75,8 %, estos valores corresponden a buena calificación en cuanto a características de calidad espermática, se encontró que las variables antes mencionadas no presentaron diferencia significativa en los tratamientos propuestos, a excepción de variables como temperatura, concentración y vitalidad que fueron diferentes para las fuentes de variación raza, no siendo así para los tratamientos propuestos por la interacción de fuentes de variación raza por nutrición.

PALABRAS CLAVE:

SEMEN, RAZA, NUTRICIÓN

CALIDAD ESPERMATICA

EQUIPO CASA, (*Análisis Espermático Asistido Computarizado*)**ABSTRACT**

The target of this research was to evaluate macroscopic and microscopic seminal features from bulls *Bos taurus* breed (Holstein) and *Bos indicus* (Brahman) under the effect of two levels of nutrition, to analyze the influence of nutrition on variables sperm quality in Predominance Mayor Races in Santo Domingo de los Tsáchilas. The research was conducted in Luz de America in the farm Zoila Luz, 16 Brahman and Holstein stallion races variables were evaluated, pH, temperature, color evaluated, aged 18-22 months, volume, concentration, massive motility and progressive motility, viability, morphology, many were analyzed using a computer system called CASA. For this analysis of the variables we used descriptive statistics, a analysis of variance completely randomized design with a significance test of courage DMS ($p < 0.05$), the average pH in the experiment was 7, 2, paragraph, the variable color, milky WAS 30 ° C temperature, 6.8 ml volume, sperm concentration 722x106 / ml, mass motility, 71.9%, 62.97% motility, 75.8 % morphologically normal, these values are a good price on a quality sperm characteristics, considering that the aforementioned variables showed no significant differences in the treatments raised an objection of variables such as temperature, concentration and vitality were different sources race on variation, without being so for treatments proposed by the interaction of the sources of variation on race by Nutrition.

KEY WORDS:**SEMEN, BREEDS, NUTRITIÓ****ESPERM QUALITY****CASA EQUIP (computer assisted sperm analysis)**

EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA CALIDAD SEMINAL BAJO DOS NIVELES NUTRICIONALES EN SEMENTALES DE RAZAS *Bos taurus* Y *Bos indicus* EN HACIENDA ZOILA LUZ, SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS

I. INTRODUCCIÓN

La calidad seminal de una especie, está directamente relacionada con la herencia genética. Por ende toda la información que se pueda obtener sobre la funcionalidad de una raza u otra en un mismo medio, permiten analizar, procesar y seleccionar especies que desarrollen su contenido genético en mejores u óptimas condiciones en un medio requerido. En el Ecuador a partir de los años 80, empieza a poner interés sobre la base genética de las explotaciones ganaderas, en conjunto con la introducción de técnicas como la Inseminación Artificial, las cuales hacen indispensable hacer una evaluación de la calidad del semen misma, que debe ser el fundamento básico para conocer la capacidad fecundante de un reproductor; dicho análisis posibilita no solo el examen de las características seminales sujetas a la influencia de diversos factores, sino también una expresión más exacta de la fisiología o alteraciones del aparato reproductor masculino, particularmente en el proceso de la espermatogénesis (Tamayo, 2006).

El desarrollo de la ganadería avanza rápidamente cuya finalidad es el incremento de la producción, la rentabilidad y la sostenibilidad para ello la obtención y fraccionamiento de semen, permite acelerar el mejoramiento de las características productivas del hato, ocasionando un mayor número de crías mejoradas, además de la multiplicación y difusión de genes así como la conservación del material genético reduciendo riesgos sanitarios. Esto va de la mano con la nutrición reproductiva que consiste en la adición de diferentes elementos nutricionales necesarios para la optimización y mejoramiento del factor reproductivo en animales destinados a este fin, potenciando sus capacidades genéticas y fisiológicas (Barth, A. *et al.*, 2008).

Para realizar la presente investigación, se extrajo semen con la ayuda del electroeyaculador a toros de raza Holstein y Brahman bajo una dieta en base a balanceado y sales minerales, con lo cual se obtuvieron muestras frescas que fueron analizadas en laboratorio a través de un sistema computarizado llamado CASA (*computer assisted sperm analysis*), comparando entre sí, la mejor calidad espermática entre razas bajo su respectiva nutrición, dichas actividades se

desarrollaron en el Laboratorio de Biotecnología Animal de la Universidad de las Fuerzas Armadas (ESPE –IASA II) localizado en la Hacienda Zoila Luz, en Santo Domingo de los Tsáchilas.

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar las características seminales macro y microscópicas (motilidad y morfología) del semen de toros raza *Bos taurus* (Holstein) y *Bos indicus* (Brahman) bajo el efecto de dos niveles nutricionales mediante electroeyaculación y el Sistema Computarizado de Análisis Seminal (CASA) en el trópico húmedo en Santo Domingo de los Tsáchilas

1.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Evaluar la influencia nutricional, sobre las características macro y microscópicas (motilidad y morfología) de eyaculados frescos de reproductores *Bos indicus* y *Bos taurus* , luego de haber estado sometido a mismas condiciones nutricionales y ambientales dentro de un plazo establecido

- Evaluar, utilizando el Sistema Computarizado de Análisis Seminal (CASA), las características microscópicas (motilidad y morfología) en eyaculados de toros Brahman y Holstein Fressian

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Anatomía Reproductiva del Toro

Los órganos sexuales masculinos son los testículos, que en los mamíferos se hallan localizados en una bolsa externa llamada escroto. Los órganos sexuales secundarios son los conductos; el epidídimo, los vasos eferentes que comunican los testículos con el exterior y el pene, que se halla atravesado por la uretra, la vía común a la orina, las secreciones sexuales y los espermatozoides. Los órganos sexuales accesorias son la glándula prostática, las vesículas seminales y las glándulas bulbo uretrales o glándulas de Cowper. Los órganos sexuales principales, secundarios y accesorios forman el aparato reproductor masculino (Salisbury, *et al.*, 1961).

2.1.1 Partes y Funciones del Aparato Reproductor del Toro

2.1.1.1 Escroto

Es la bolsa exterior que recubre los testículos. Sirve de sostén, protección y actúa como termorregulador (Cabrera y Gutiérrez, 2010).

2.1.1.2 Testículos

Los testículos están recubiertos por dos capas serosas de la túnica vaginalis, y una capa de tejido conectivo denso e irregular, que constituye la túnica albugínea (Wrobel y Dellmann, 1993).

Los órganos sexuales primarios (testículos), que tiene como funciones principales la de producción de espermatozoides (función exocrina) y la producción de hormonas esteroides (función endocrina) (Galina, *et al.*, 2006).

2.1.1.3 Epidídimo

El epidídimo es un túbulo elongado y tortuoso empaquetado en un saco de tejido conectivo que es una extensión de la túnica albugínea y mide alrededor de 30- 35 metros de largo en el toro (Salisbury *et al.*, 1978; Chenoweth, 1997).

Se ubica paralelo al testículo y cumplen funciones importantes como la de transportar, concentrar, almacenar y madurar las células espermáticas, una vez que estas entran a este órgano.

Es el tubo que sirve de salida a toda la esperma que se produce en los testículos y cualquier bloqueo que se produzca en él es un grave problema. A veces ocurren bloqueos temporales debido a inflamaciones producidas por alguna lesión o infección (epididimitis). Sin embargo, esta inflamación o infección puede resultar en la formación de cicatrices en el tubo que lo bloquean permanentemente con lo que impiden el paso espermático (Deutscher, 2010).

Un epidídimo tiene capacidad para almacenar 4 ml de fluidos rico en espermatozoides, con una concentración de 3.55×10^9 espermatozoides/ml, que ocupa la mitad del volumen total (Salisbury *et al.*, 1978).

2.1.1.4 Las vesículas seminales

Son dos órganos accesorios que, erróneamente, fueron considerados como reservorio de semen, por lo que se les denominó vesículas seminales. Tienen la forma de sacos alargados, colocados a lo largo de la ampolla seminal, con abertura donde ésta se une con los eyaculadores que desembocan en la uretra. La función es que aporta una gran cantidad de fluidos al semen que posee un alto contenido de fructuosa, ácido cítrico, potasio y enzimas (Cabrera y Gutiérrez, 2010).

2.1.1.5 Próstata

Es una glándula accesoria, relativamente pequeña, que está situada transversalmente sobre la cara dorsal del cuello de la vejiga, en el origen de la uretra. Segrega un líquido opaco que tiene una reacción neutra, con un olor característico rico en proteínas y sales minerales (Cabrera y Gutiérrez, 2010).

2.1.1.6 Uretra

Comienza con el orificio uretral interno, en el extremo caudal del cuello de la vejiga y llega hasta el orificio uretral externo en la punta del pene. Revestida por un músculo esquelético capaz de continuar la ola de contracción eyaculativa. Alberga al colículo seminal de la uretra craneodorsal y recibe las secreciones de las glándulas vesiculares y el esperma proveniente de las ampollas. Además las aberturas de los conductos prostáticos vacían su contenido en esta sección de la uretra antes y durante la eyaculación (Konig, *et al.*, 2002).

2.1.1.7 Glándulas bulbo uretrales o de cowper

Son dos glándulas pequeñas y firmes, situadas a ambos lados de la uretra. Se cree que una de las funciones principales de su secreción es la limpieza de la uretra de los residuos de orina que pudieran dañar a los espermatozoides (Deutscher, 2010).

2.1.1.8 Pene

La raíz se localiza en la región del músculo bulbo esponjoso. El toro tiene un pene fibro-elástico, su estructura y tamaño, durante la erección varía tanto en diámetro y longitud. La función de este segmento de unos 25 cm de largo es doblarse cuando el pene está relajado, lo que permite retraerlo y mantenerlo protegido. Durante la erección, la flexura sigmoidea se endereza y el pene se extiende a los fines de la copula (Galina,*et al.*, 2006).

2.2 Importancia de la Reproducción

La reproducción, es el proceso fundamental de los animales que posibilitan la perpetuación de las especies dando origen a otros seres semejantes a ellos; además, es un eslabón importante para proporcionar alimento al hombre y herramientas básicas en el mejoramiento genético (Mamani, 2007).

En el proceso reproductivo es necesaria la concurrencia de hembras y machos que a través de la actividad funcional de su aparato reproductor proporcionan los espermatozoides y los óvulos que albergan a través de los genes la información propia de la especie y que además transmiten a la progenie las características de precocidad y productividad, factores tan importantes que permiten el mantenimiento de una explotación costea (García, 2010).

El toro es responsable en un 80 %, o más, del mejoramiento que pueda lograrse en una población. Si una hembra falla lo que se pierde es un ternero; pero si falla el toro pueden perderse entre 25 y 50 (o más) terneros cada 100 hembras (Boggio s.f.)

2.2.1 Espermatogénesis

Es el proceso biológico de la transformación gradual de las células germinales en espermatozoides durante un periodo de tiempo dentro de los límites de los túbulos seminíferos de los testículos. Este proceso involucra la proliferación celular por divisiones mitóticas, duplicación de cromosomas, recombinación genética, reducción y división meiótica, hasta producir espermatides haploides y la diferenciación terminal de las espermatides en espermatozoides (Knobil, *et al.*, 2003)

La espermatogénesis toma aproximadamente de 64 a 74 días para la formación de espermatozoides y de 14 a 18 días para que el esperma viaje a lo largo del epidídimo (lugar de acumulación y maduración final de los espermatozoides). Por lo tanto, los síntomas de infertilidad del toro se presentarán dos y medio a tres meses luego de que el proceso de formación de espermatozoides ha sido afectado (Sánchez, 2003)

La espermatogénesis puede ser afectada por diversos factores. Así tenemos que es afectada negativamente por el incremento de la temperatura escrotal que puede ocurrir por procesos de inflamación, fiebre, o temperatura ambiental muy elevada. Cuando se afecta la espermatogénesis todos los estadios de espermatogonias mueren, las espermatídes sufren anomalías estructurales y metabólicas, disminuye la proporción de espermatozoides vivos y progresivos móviles, y se incrementan las atipias por defectos de cabeza principalmente (Setchell, 1998).

2.2.2 El Semen

El semen o espermatozoide, proviene del griego (sperma, que significa semilla), es un líquido viscoso y blanquecino, que es expulsado a través del pene durante la eyaculación. Está compuesto por espermatozoides (de los testículos) y plasma seminal (de glándulas vesicales, próstata y glándulas bulbouretrales) (Rivas, *et al.*, 2011).

Suspensión celular líquida que contiene los gametos masculinos (espermatozoides) y las secreciones de los órganos accesorios sexuales del aparato reproductor masculino, y se mezclan en el momento de la eyaculación (Knobil *et al.*, 2003).

2.2.2.1 Métodos de Colección de Semen

Las técnicas de recogida del semen pueden alterar decididamente la calidad del mismo. El procedimiento ideal debe ser seguro para el que lo practica y para el animal, obtener una muestra de semen representativa de una eyaculación normal, no hallarse expuesto a contaminación y estar protegido contra el choque térmico y la luz solar (A.B.S., 1986).

La obtención de semen es el primer paso dentro de un programa de congelación, preservación e inseminación artificial. Esta primera fase es de vital importancia para

la obtención de muestras de óptima calidad, así como para la adecuada utilización de los sementales (Vallecillos, 2011).

Existen básicamente tres métodos de colección de semen de los bovinos: Método del Masaje, Vagina artificial y el método del Electro eyaculador (Angelino, 2009)

2.2.2.1.1 Método de electro-eyaculación

Es el método más útil para obtener muestras de semen de toros o carneros cuando no resulta práctico o posible el uso de vagina artificial. Se ha comprobado que las características del semen recogido por electro- eyaculación pueden variar un poco en relación al obtenido con vagina artificial. La electro eyaculación proporciona muestras de mayor volumen y pH más alto y concentraciones de células espermáticas inferiores (McDonal, 1978).

Brejoy, *et al.*, (2014). Enseña que esta técnica permite extraer semen a los animales sin previo acostumbramiento. Esto es de suma importancia para la evaluación de reproductores a campo, donde la colección de semen se puede realizar en la manga en el mismo momento del examen clínico. Además, es muy utilizada cuando se trabaja con animales no domésticos, sino de vida silvestre o de zoológicos.

Está basada en la aplicación rítmica de un estímulo eléctrico por vía transrectal estimulando el sistema nervioso autónomo y somático, que conduce a la obtención de secreciones de las glándulas accesorias y finalmente a la eyaculación. Existen diferencias en cuanto al modo de operar y en cómo los animales responden a distintos tipos de electro eyaculadores. La elección de éstos es una cuestión de preferencia personal.

El uso del electro eyaculación está indicado en las siguientes situaciones: Eyaculado para diagnóstico (espermograma, cultivo bacteriológico, reacciones inmunológicas, piospermia, etc.); Procesamiento de semen para inseminación artificial; Inspección

clínica del pene por producir protrusión del mismo; Animales indóciles o de baja libido; Animales con algún tipo de impotencia pero fértiles (por ejemplo enfermedades en los miembros o columna que les impidan la monta natural).

Es muy importante destacar que la cantidad de estimulación debe ser estimada a través de las respuestas del animal y no prestando atención al voltaje del equipo. La primera estimulación debe ser pequeña hasta que el macho demuestre una mínima respuesta. Las estimulaciones sucesivas deben ir siendo incrementadas de a poco, con una duración de uno o dos segundos y luego discontinuarse por medio segundo antes de comenzar con la siguiente estimulación. El fluido pre seminal no debe recolectarse porque diluye el eyaculado y puede originar falsos resultados.

Cuando éste comienza a tornarse más opaco y espeso comienza la colección en el cono o tubo de examinación colocado directamente en el pene. Si el animal no protruye el pene, el ayudante debe presionar sobre la flexura sigmoidea detrás del operador debe estar listo con una gasa para tomarlo apenas protruya. Aunque la estimulación se continúa hasta la obtención de dos a cinco ml de semen, la cantidad de éste no tiene mucho que ver con la calidad. La mayoría de los animales eyaculan sin mucha estimulación, sin embargo, si se ha alcanzado el máximo de estímulos sin obtener la eyaculación se deben dar cuatro o cinco estímulos máximos seguidos de uno o dos minutos de descanso (González, S. 2002).

El pene debe ser agarrado con una gasa y mantenido durante el período de descanso, dado que si no se deja libre no protruirá para la segunda colección. El operador debe estar atento porque a menudo el semen es emitido cuando el individuo se relaja en el período de descanso.

2.3 Nutrición

Barth, *et al.*, 2008. En un experimento llevado en la Universidad de Saskatchewan, Canadá, se compararon dos grupos de toros menores de un año, un primero alimentado con una ración hipercalórica, un segundo con una ración estándar, observándose luego a la faena el tamaño testicular, el peso de los mismos y el peso del escroto. Los resultados mostraron un mayor peso de los testículos para los del primer grupo, aunque no necesariamente un tamaño mayor, siendo los del primer grupo los que presentaron mayor peso escrotal. La conclusión a la que llegaron los investigadores fue que el aumento diferencial de la calidad espermática en los que habían recibido la dieta hipercalórica fue debido tanto al desarrollo del tejido testicular como al depósito de grasa en el escroto.

Si el racionamiento hipercalórico continúa más allá del año de edad, se compromete la calidad seminal como consecuencia del depósito de grasa en el cuello escrotal, lo que compromete la termorregulación testicular (Barth, *et al.*, 2008)

2.3.1 Nutrición en Reproductores Bovinos

Varios estudios realizados no aconsejan que la alimentación de los toros sea alta en energía porque va en detrimento de la capacidad reproductiva, la que es medida en la calidad del semen y libido. Los toros que consumieron una dieta muy energética tuvieron un 50% menos de motilidad espermática; un alto porcentaje de espermatozoides anormales, y realizaron menor cantidad de saltos, que aquellos en los que la dieta les permitió estar un poco más delgados. El porqué, aún no está del todo claro, pero se estima que parte del problema resulta de la deposición de grasa en el cuello escrotal y/o tejido, aumentando de esta manera la temperatura testicular; por ende se reduce la calidad y cantidad de espermatozoides producidos (Mapletoft, *et al.*, 1998).

El efecto del etéreo más grave para la espermatogénesis es la sobrealimentación, el depósito de grasa en bolsa y cuello escrotal alteran la termorregulación. Por ello, se debe evitar trabajar con toros gordos. Toros relativamente flacos no mostraron efectos negativos en la calidad seminal, por lo tanto se busca un estado corporal normal de 5 a 7 administrando la alimentación necesaria para suplir las necesidades de mantenimiento (Munar, 2005).

Existen un conjunto de patologías asociadas a la sobrealimentación de los reproductores que impactan directa o indirectamente sobre la calidad seminal. La acidosis ruminal, producto del consumo de alimentos de alta energía, que puede ser clínica o subclínica, al inflamar la mucosa del rumen, la vuelve permeable a microorganismos habituales, que vía sanguínea colonizan las vesículas seminales, provocando severas seminovesiculitis que afectan la calidad seminal. La acidosis altera la composición de la flora bacteriana ruminal, estas bacterias producen endotoxinas que por vía sanguínea provocan la congestión de los tejidos blandos de la pezuña, laminitis o infosura. Los animales aparecen rengos, surgen deformaciones de la pezuña, chapinudos o pezuñas con forma de zapato chino, y actitudes posturales anormales, lo que compromete la rutina de extracción del semen. El hígado graso, producto también de la sobrecarga energética, es la degeneración grasa del tejido hepático que afecta el metabolismo general y por lo tanto también el de las hormonas esteroides sexuales (progesterona, estrógenos, testosterona). El tejido graso produce hormonas esteroides, que participan del desequilibrio hormonal y afectan la gametogénesis. Como ya se ha mencionado la grasa escrotal afecta la termorregulación testicular, y la normal espermatogénesis. Impotencia copulatoria por exceso de peso, dolores esqueléticos y pezuñas debilitadas por secuelas de infosura, libido disminuida por combinación de todos los factores mencionados, también hace difícil la obtención de semen de calidad en los centros de colecta y procesamiento de semen (Munar, 2005).

Los niveles de energía y proteína que son aportados en las raciones de los terneros tienen un impacto importante sobre la aparición de la pubertad y el desarrollo sexual, factores que están involucrados en la futura calidad espermática. Los niveles nutricionales influyen sobre las hormonas que controlan la maduración sexual a través de aquellas hormonas metabólicas que responden al contenido energético de

la ración. Estas hormonas sexuales son las que aparecen en determinado momento del crecimiento y comandan las funciones y número de células de Sertoli y Leidig. Es necesario un correcto nivel de energía en la dieta para lograr un máximo crecimiento del parénquima testicular con un menor depósito de grasa, la cual va en desmedro de la calidad seminal al comprometer la termorregulación (González, S. 2002).

Los niveles de proteína influyen en el desarrollo de testículos, glándulas accesorias, epidídimo y características seminales tales como concentración espermática. Así mismo, los excesos de energía predisponen a enfermedades como la acidosis, seminovesiculitis y esteatosis hepática que comprometen la gametogénesis. La aplicación de biotecnologías como la inseminación artificial, transferencia embrionaria, fertilización in vitro, etc., requiere de un semen de excelente calidad que permita su procesamiento sin perder la capacidad de fecundar (Asprón, 2004).

2.3.2 Los Minerales

Los minerales constituyen entre 4-5 % del peso vivo del animal, y su presencia es necesaria para la vida y salud de todas las especies (Ciria *et al.*, 2005). Muchos minerales tienen más de una función ya que los tejidos del animal contienen minerales que no son reconocidos como esenciales pero que tienen funciones en actividades metabólicas aún desconocidas, mientras que otros están presentes como contaminantes. Algunos pueden afectar adversamente a un animal si se incluyen en la dieta a niveles extremadamente altos (Church y Pond, 1996; Sahagún, 1998).

Algunos elementos minerales resultan esenciales para el crecimiento, conservación, reproducción y funcionamiento de los tejidos corporales. Son precisamente cantidades y proporciones mínimas para equilibrar las pérdidas corporales que se están produciendo constantemente, de modo que un consumo inferior al normal de dichos minerales puede provocar graves trastornos metabólicos y funcionales (Braun,

s.f.). Además pueden mejorar la actividad antioxidante y actúan como cofactores tolerantes a la glucosa, así como activadores de los sistemas enzimáticos o como componentes de los compuestos orgánicos (Church y Pond, 1996; Sahagún, 1998).

Siempre se ha considerado que los aportes de proteína y energía representan las principales limitantes en la producción animal (Pfander, 1971). Sin embargo la deficiencia de minerales aumenta esta problemática, ya que estos ejercen una marcada influencia para el mejor aprovechamiento de estos nutrientes (McDowell y Hernández, 1975).

2.3.2.1 Clasificación de los Minerales

Los minerales se clasifican por la cantidad o presencia de estos elementos en el cuerpo del animal. Así, podemos considerar a los elementos mayores o macro minerales cuyos requerimientos son superiores a 100 partes por millón (ppm) en la dieta y se encuentran formando partes estructurales del cuerpo como los huesos y fluidos corporales, siendo vitales en la regulación del equilibrio ácido -básico, la presión osmótica, el potencial eléctrico de la membrana celular y la transmisión nerviosa; y los elementos menores, micro minerales o minerales traza cuyas necesidades son inferiores a 100 ppm y se encuentran presentes en cantidades pequeñas, formando generalmente parte de enzimas, cofactores enzimático como partes de hormonas (NRC, 2001).

La clasificación de los minerales esenciales en elementos mayoritarios o macro-elementos y micro-elementos o elementos de traza, depende de su concentración en los animales o las cantidades necesarias en la ración. Normalmente, los elementos traza se encuentran en el organismo animal en cantidades inferiores a 50 mg/kg y son necesarios en cantidades inferiores a los 100 mg/kg de la ración (McDonald, s.f.).

2.3.2.2 Funciones de los Minerales

Algunas de las funciones más importantes de los minerales para la producción de los rumiantes se notan a continuación (Huerta, 1997, 1999, citado por Flórez, Cristóbal, 2004):

- Conformación de la estructura ósea y dental (Ca, P y Mg).
- Equilibrio ácido-básico y regulación de la presión osmótica (Na, Cl y K).
- Sistema enzimático y transporte de sustancias (Zn, Cu, Fe y Se).
- Reproducción (P, Zn, Cu, Mn, Co, Se y I).
- Sistema inmune (Zn, Cu, Se, y Cr).

2.4. Evaluación de la Calidad Seminal

El método estándar para evaluar la fertilidad de machos reproductores, aparte de la evaluación directa de vacas gestantes en un rebaño, es el examen del semen. Mediante su uso podemos predecir el potencial reproductivo de los sementales, dicha evaluación se realiza por medio de la observación de características macroscópicas y microscópicas (Asprón, 2004).

2.4.1 Características Macroscópicas del Semen

Las características macroscópicas a evaluar en semen de bovinos son: volumen, color, olor, aspecto, densidad macroscópica.

Volumen.- El volumen de un eyaculado se expresa en mililitros (ml), y su lectura se hace por medio de un tubo recolector graduado. Normalmente dicho valor para el

eyaculado de toros, es de aproximadamente dos ml en animales jóvenes y en animales adultos \geq a cuatro ml, llegando hasta 12 ml.

Color.- Depende del contenido de riboflavina, siendo normalmente desde blanquecino marfil hasta amarillento. Una coloración rojiza, indica la mezcla con sangre fresca; si el color es pardo, indica la presencia de sangre más vieja (hemolizada), denominándose ambos tipos como hemospermia. Una coloración gris indica contaminación. Los eyaculados sin espermatozoides tienen una coloración amarillo-verdosa y son de apariencia acuosa. El pus en el eyaculado se reconoce frecuentemente por la presencia de flóculos, denominándose piospermia.

Olor.- Las muestras de semen recolectadas higiénicamente, de toros sanos y fértiles, tienen un débil olor sui géneris.

2.4.2 Características Microscópicas del Semen

Las características microscópicas a evaluar en el semen de bovinos son: motilidad masal, motilidad individual, vitalidad, morfología y concentración espermática.

Motilidad masal.- Por movimiento de masa se entiende, el movimiento en onda de todos los espermatozoides, observado en los eyaculados densos. Para su evaluación se toma una gota del semen (gota de semen íntegro) con una pipeta, se coloca la gota sobre un porta objeto a 37°C y se observa en campo claro (aumento 10X), sin colocar el cubre objeto.

El grado de motilidad masal (MM) se describe según la siguiente escala:

- ++++ Actividad cinética muy buena, remolinos intensos con ondas espermáticas apreciables.
- +++ Actividad cinética buena, remolinos apreciables aunque menos intensos.
- ++ Actividad cinética regular, pocos remolinos y con menor frecuencia que la anterior.
- + Actividad cinética deficiente, el semen no forma remolinos sino eventualmente y sin ninguna intensidad.
- Actividad cinética ausente.

Motilidad individual.- La motilidad individual de una muestra de semen se expresa como el porcentaje de células móviles bajo un campo microscópico.

Vitalidad.- Esta característica mide el número de espermatozoides vivos. Para medir la vitalidad de una muestra de semen, se utilizan colorantes vitales, como eosina-nigrosina, con los cuales los espermatozoides muertos son teñidos de color rojo o rosa, mientras que los vivos quedan sin teñir, esto debido a que el colorante, cuando existe daño a nivel de la membrana celular, (como en la célula espermática muerta), es capaz de atravesarla y colorearla; aquellos espermatozoides que se observan en la lámina sin teñirse, son los que poseen una membrana celular intacta y no permeable al paso del colorante (Pérez y Pérez, 1985).

Morfología.- Palacios (2005), Señala que la morfología espermática es un factor determinante en la capacidad de fertilización del semen, ya que existe una correlación entre defectos espermáticos e infertilidad. Los espermatozoides son traslucidos y virtualmente invisibles al microscopio de luz directa, por lo que se requiere del uso de colorantes que provean de un fondo oscuro para visualizarlos. La

coloración vital, con eosina, azul de anilina o eosina-nigrosina, son las más usadas para la evaluación morfológica de semen.

Las malformaciones espermáticas, se pueden clasificar siguiendo diferentes criterios.

1) Por el origen de formación de las anomalías, las atipias se clasifican en primarias y secundarias. Las malformaciones primarias, son aquellas que se originan dentro del testículo durante la espermatogénesis y las malformaciones secundarias, son aquellas que se originan a través de su paso por el epidídimo. Así se tiene como atipias primarias: microcefalias, cabeza piriforme, cabeza estrecha, defectos de la pieza media, gota citoplasmática proximal, inserción abaxial de la pieza intermedia, flexión de la pieza media, enrollamiento de la pieza media y la cola, cabeza doble, pieza media doble. Entre las atipias secundarias se tiene: gota citoplasmática distal, enrollamiento final de la cola, flexión de la cola, sin acrosoma, cabezas desprendidas, cola fracturada (Hafez y Hafez, 2000).

2) Por su relación con la fertilidad se clasifica en atipias mayores y menores. Esta clasificación fue propuesta por Bloom (1977), llamando malformaciones mayores a las que estaban asociadas con la infertilidad, y malformaciones menores aquellas que, al momento de crear el método de clasificación, no se encontraban relacionadas con la fertilidad en forma directa.

3) Y un tercer criterio las clasifica como atipias compensables y no compensables. Saacke, *et al.*, (1994) propusieron clasificar los defectos como compensables, a aquellos en los que el espermatozoide no llega a la vecindad del ovocito y no evita que otro espermatozoide realice la fertilización; por lo tanto, si se aumenta la concentración de la dosis seminal, se podría llegar a compensar este tipo de malformación, tal es el caso de espermatozoides con problemas en el sistema de locomoción. Por el contrario, un defecto no compensable es aquel en el cual el espermatozoide está perfectamente capacitado para llegar hasta el ovocito, realiza el bloqueo de la polispermia pero es incapaz de continuar el proceso de fertilización. Dicho defecto no se puede compensar aumentando la concentración de la dosis inseminante, ya que si una muestra posee 20% de espermatozoides con este defecto, no habrá ninguna diferencia si hay 100, 1000 ó 10000 en el oviducto.

Concentración espermática.- La concentración de los espermatozoides se expresa como el número de espermatozoides por ml de semen. Se determina utilizando métodos semejantes al recuento de glóbulos rojos realizado en hematología. El conteo directo de células, a través del hemocitómetro o cámara de Neubauer fue diseñado para contar eritrocitos.

El diluyente utilizado debe inmovilizar a los espermatozoides para que se pueda llevar a cabo el conteo. Normalmente se utiliza NaCl al 3% (solución hipertónica), lo cual hace que la célula deje de ser viable. La dilución de la muestra de semen, para determinar la concentración espermática en el caso del bovino es de 1:200 (Bearden, *et al.*, 1982). Esto quiere decir que se diluye un volumen de semen en 199 volúmenes iguales de NaCl al 3%. Una vez diluido el semen e inmovilizados los espermatozoides, se coloca en la cámara de Neubauer.

2.5 Evaluación de la calidad seminal asistida por Computadora (CASA)

El sistema Computarizado de Análisis Seminal (Computer Assisted Sperm Analysis, CASA, por sus siglas en inglés), fue desarrollado en la Universidad de Pennsylvania y perfeccionado por Amann y Hammersatedt en el año 1980. Es un sistema internacionalmente conocido por ser un equipo rápido, certero, constante y científicamente validado. Involucra una cámara de video (cámara de Makler) conectada a un microscopio de interface, un detector de imágenes y a una computadora que digitaliza las imágenes del tamaño y de los movimientos espermáticos.

Las imágenes digitalizadas a través del tiempo permiten analizar la velocidad de las células, el movimiento rectilíneo, circular o lateral; el cálculo de la cantidad de espermatozoides móviles y la concentración, así como también todos los valores de

velocidad, movimiento lateral, progresivo y linealidad de la trayectoria espermática (Brogliatti, 2008).

2.5.1. Parámetros del Sistema CASA

Los parámetros determinados para cada espermatozoide son: velocidad del movimiento con base en varios descriptores, la trayectoria que realiza la cabeza del espermatozoide y la frecuencia de los cambios de dirección que ésta realiza (Quintero, 2003).

Entre los parámetros que evalúan la velocidad de desplazamiento de los espermatozoides son los siguientes:

Velocidad curvilínea (VCL).- Velocidad promedio de desplazamiento de la cabeza del espermatozoide a lo largo de su trayectoria real. Se mide en $\mu\text{m}/\text{seg}$.

Velocidad rectilínea (VSL).- Velocidad promedio de la cabeza del espermatozoide a lo largo de una línea recta, desde la primera hasta la última posición. Se mide en $\mu\text{m}/\text{seg}$.

Velocidad promedio de desplazamiento (VAP).- Velocidad promedio de la cabeza del espermatozoide a lo largo de su trayectoria promedio. Se mide en $\mu\text{m}/\text{seg}$.

Porcentaje de linealidad (LIN).- Relación entre VSL y VCL. Se mide en porcentaje (%).

Índice de rectitud (STR).- Relación entre VSL y VAP. Se mide en porcentaje (%).

Los parámetros para evaluar la trayectoria que realiza la cabeza del espermatozoide, son:

Índice de oscilación (WOB).- Relación entre VAP y VCL. Se mide en porcentaje (%).

Amplitud del desplazamiento lateral de cabeza (ALH).- Valor promedio lado a lado de la cabeza en cada ciclo de batido. Se mide en μm .

Frecuencia de batido (BCL).- Frecuencia con la cual la verdadera trayectoria del espermatozoide cruza la trayectoria promedio. Se mide en Hz.

2.5.2. Ventajas del Sistema CASA

La evaluación del semen mediante el analizador seminal CASA, posee grandes ventajas, entre ellas, la eliminación de la subjetividad e incorporación del análisis del movimiento cuantificable detallado.

Brogliatti, *et al.*, (2008). Realizaron un estudio para evaluar los parámetros de motilidad del semen fresco de toros colectados por vagina artificial (VA) y por electro eyaculador (EE). en aquel estudio se evaluó menos de 1000 espermatozoides, determinando: concentración (CONC), recorrido de velocidad media (VAP), velocidad rectilínea (VSL), la velocidad curvilínea (VCL), La amplitud lateral de la cabeza (ALH), la frecuencia de batido (BCF), la rectitud (STR), la linealidad (LIN), y el porcentaje de células rápidas o estáticas, encontrando que no hubo diferencias significativas ($P > 0,05$)

El uso del sistema CASA provee mediciones objetivas y confiables de la motilidad espermática, permite diferenciar subpoblaciones en relación al tipo de motilidad espermática (espermatozoides que muestran movimientos lineales o de hiperactividad), así como morfología espermática. Establece, de una manera efectiva, medidas cuantitativas del movimiento individual de los espermatozoides, por lo que con este tipo de análisis se pueden obtener medidas correctas de la motilidad espermática que proporcionen información precisa acerca del estado funcional del axonema y de las membranas espermáticas (Mortimer, 2000).

A su vez, utilizar este equipo para determinar con mayor exactitud la motilidad espermática post descongelación y su vitalidad, es muy útil para determinar el número de espermatozoides/dosis de inseminación, para optimizar el uso de toros élite (Ballester, *et al.*, 2007).

Así como para dar cabida a una eventual aplicación en el semen sexado, dado que los espermatozoides de toro luego de ser sometidos a la crío preservación sufren una alta mortalidad, lo que compromete la fertilidad, y la calidad del espermatozoide después de la descongelación.

El uso del sistema CASA ha permitido la evaluación de la calidad del semen colectado del epidídimo. Los espermatozoides colectados del epidídimo se consideran como una fuente potencial de genes valiosos para los bancos de genoma, sobretodo en especies como los equinos, en los cuales su valor es elevado (Goovaerts, *et al.*, 2006).

El uso del sistema CASA ha sido una herramienta muy útil, en la investigación de las sub-poblaciones espermáticas en diferentes especies. Esto se ha hecho con base a una serie de datos objetivos proporcionados por este sistema. El porcentaje de células móviles presentes en la muestra y la calidad media de ese movimiento, permiten identificar la existencia de sub-poblaciones de espermatozoides, con distintos patrones de movimiento, que coexisten en la misma muestra de semen, lo cual es una visión más real, ya que una muestra de semen es una población heterogénea (Muiño, *et al.*, 2006).

2.5.3 Desventajas del Sistema CASA

Stornelli y De La Sota, (2005). El sistema CASA es costoso y necesita una exacta calibración. Concentraciones $\geq 50-100 \times 10^6$ esp/ml, limitan la capacidad del dispositivo para realizar el análisis.

Verstegen, y Onclin, (2002). El principal problema se relaciona con la estandarización y optimización de los equipos y procedimientos. Por ello antes de la utilización de estos analizadores se deben tomar en consideración algunos factores como son: efecto de la velocidad de fotogramas y el número de fotogramas por campo sobre la motilidad del semen, efecto de la temperatura de descongelación, efecto de la concentración espermática, efecto del tiempo de análisis; ya que una alteración de alguno de estos parámetros, proporcionaría datos errados sobre los patrones de movimiento y velocidad espermática.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 UBICACIÓN DEL AREA DE INVESTIGACIÓN

3.1.1. Ubicación Política

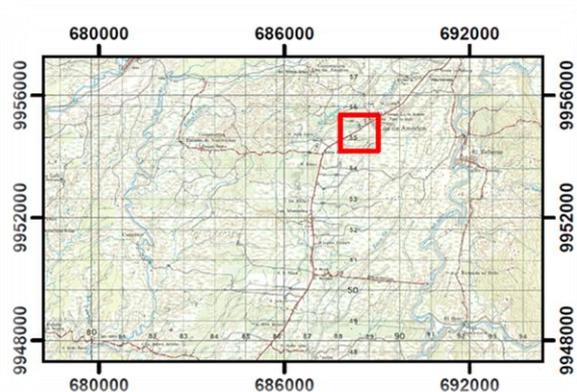
Provincia: Santo Domingo de los Tsáchilas
Cantón: Santo Domingo de los Colorados
Universidad: Universidad de las Fuerzas Armadas (ESPE IASA II)
Campus: Hacienda Zoila Luz
Ubicación: Km 24 Vía Santo Domingo- Quevedo

3.1.2. Ubicación Geográfica

El Trabajo experimental, se realizó en el km 24 de la vía Santo Domingo- Quevedo, hacienda Zoila Luz, parroquia Luz de América, El área se ubica en las siguientes coordenadas UTM:

Este: 688 149

Norte: 9 954 652



Fuente: (Palacios, 2015)

Figura 1. Referencia Cartográfica de ubicación del área de Investigación



Fuente: (Google, 2015)

Figura 2. Croquis del área de Investigación

3.1.3. Ubicación Ecológica

Zona de Vida Bosque Húmedo Tropical (Bht) (Holdridge L, 1987)

Formación Ecológica: Bosque Siempre verde Piemontano(Sierra,1999)

3.1.3.1. Características Climáticas

Temperatura Media Anual : 23,6 °C

Precipitación Media Anual : 2980 mm / año

Heliofanía Media Anual : 660horas / luz / año

Humedad Relativa : 91 %

Altitud : 270 msnm

Fuente : Estación meteorológica Puerto Ila – Inamhi, promedio 2006 – 2012.

3.2 MATERIALES

Objeto de Investigación

Ocho reproductores de raza Brahman (*Bos indicus*)

Ocho reproductores de raza Holstein Fressian (*Bos taurus*)

Para la Recolección de semen

- Electro eyaculador: (Marca Electrojac 5; Electrodo con láminas de aluminio; Mango - colector ; Tubos de cristal graduados de 10 ml, con bordes de seguridad; Cubierta de protección térmica); Vasos de plástico desechables, graduados de 100 ml; Guantes de plástico desechables, Conos de látex

Para la Dilución / Análisis Micro y Macroscópica

- Diluyente para semen bovino: (Andromet; Agua destilada); Baño María marca Fisher Científica B14: (Metal; Modelo No. IC 2100; Capacidad 7 litros); Termómetro de cristal de más 50 °C; Vasos de cristal, de precipitados graduados; Pipetas automáticas ; Embudos de plástico para semen diluido; Equipo Casa marca: Mini Tube ; Microscopio: Serie OM79309 Lente 5-10-20-40 micras; PC: Serie 108NDUN24366; Autoclave: marca TUTTNAVER Serie 1501511; Esterilizador de Conos Tipo GVD12. Peachímetro portátil modelo PT – 370; Microscopios – contraste de fase modelo MBL 200 Serie: 112002-1615 ; Lentes de: 10x – 20 - 40 – 100 micras ; Fotómetro SDM1 BOVINO, Cámaras lejas, Microcubetas

Otros equipos

- Deshumificador marca EXCELL modelo: MDFE65AN1; UPS Estabiliza y mantiene energía modelo PS5490

Higiene y Limpieza

- Estufa de esterilización; Toallitas desinfectantes ; Frasco lavador; Cepillos ; Escurridor; Papel de filtro; Jabón neutro; Detergente fenólico; Alcohol etílico de 70°

3.3 MÉTODOS

3.3.1 Diseño Experimental

3.3.1.1. Factores de Prueba

Cuadro1. Factores de Prueba del Experimento

Factores	Niveles
Raza (Fr)	<i>Bos taurus</i> (Bt)
	<i>Bos indicus</i> (Bi)
Nutrición (Fn)	Pasto + Agua + Sal Mineral (sm)
	Pasto + Agua + Balanceado (ba)

3.3.1.2 Tratamientos comparativos

Los tratamientos comparados provienen de la multiplicación entre los factores raza *Bos taurus* y *Bos indicus* con los niveles de nutrición aplicados a los toros del experimento

Cuadro2. Tratamientos comparados en el experimento de calidad espermática entre dos razas bovinas: *Bos taurus* x *Bos indicus* bajo el efecto de dos niveles nutricionales

Tratamiento	Código	Descripción
1	Btsm	<i>Bos taurus</i> con Pasto + Agua + Sal Mineral
2	Btba	<i>Bos taurus</i> con Pasto + Agua + Balanceado
3	Bism	<i>Bos indicus</i> con Pasto + Agua + Sal Mineral
4	Biba	<i>Bos indicus</i> con Pasto + Agua + Balanceado

3.3.1.3. Tipo de Diseño

Se utilizó un esquema bifactorial, A X B (A = 2; B = 2) conducido en un Diseño completamente al azar

3.3.1.4. Repeticiones o Bloque

Se realizó cinco repeticiones por tratamiento.

3.3.1.5. Características de la Unidad Experimental

Se utilizó 16 reproductores (ocho Brahman y ocho Holstein) entre 20 y 24 meses de edad, alimentados bajo dos niveles nutricionales según el diseño experimental, los cuales se convirtieron en donantes de semen. La extracción del material seminal se la realizó mediante el método del electro eyaculador.

Se analizaron 96 muestras de semen fresco, provenientes de los 16 sementales, luego de 8 meses de adaptación, más 60 días de dieta alimenticia que consistió 1 kg de balanceado con 14 % de proteína en el grupo elegido al azar de animales para ambas razas , de igual manera con 100 gr de Sal mineral en los animales restantes , semanalmente se extrajo muestras seminales durante 5 semanas, todas las muestras de semen se analizaron con ayuda de microscopio y el sistema computarizado de Análisis Seminal (CASA)

3.3.2 Análisis Estadístico

3.3.2.1. Esquema de Análisis de Varianza

Cuadro 3. Análisis de Varianza del Experimento

Fuente Variación	Grados Libertad
Raza	1
Nutrición	1
Raza x Nutrición	1
Error	12
Total	15

3.3.2.2. Coeficiente de Variación

El coeficiente de variación se obtuvo de acuerdo a la siguiente fórmula

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{\bar{x}} \times 100$$

CV = Coeficiente de variación

CME = Cuadrado Medio del Error

\bar{x} = Media general del Experimento

3.3.2.3. Análisis Funcional

Las medias de los tratamientos se compararon mediante la prueba de diferencia mínima significativa (DMS) $P \leq 0,05$.

3.3.4 Variables a Medir

Características macroscópicas

Volumen, temperatura, pH, color

Características microscópicas

Concentración espermática, motilidad masal, motilidad progresiva, velocidad curvilínea, velocidad media, velocidad rectilínea, vitalidad, morfología

3.3.5 Métodos Específicos en el Manejo del Experimento

3.3.5.1 Metodología Específica para Extracción de Semen

Durante el experimento, los animales fueron trasladados desde sus respectivos potreros hacia las instalaciones en donde se realizó la extracción seminal

Fijación del Semental

Se usó una manga de encierro para restringir el movimiento lateral o hacia adelante y atrás del reproductor. Con esto se redujo el espacio para moverse disminuyendo las probabilidades de desplomarse y hacer la recolección más difícil.

Pre-estimulación del Reproductor

Se Pre-estimuló al toro manualmente durante 10 a 15 segundos antes de insertar la sonda, esto hizo relajar al animal y redujo el tiempo de recolección. A su vez mientras el animal fue acariciado, se lavó con abundante agua y por consiguiente se secó con papel, sus genitales, para lograr tener una muestra seminal libre de contaminación

Extracción Seminal

Una vez que el animal, se encontró relajado, limpio y asegurado en la manga, se procedió a extraer el semen, siguiendo los siguientes pasos:

- a) Preparación de Electroeyaculador : el equipo fue instalado según las especificaciones técnicas del manual , para ello se conectó cables de distribución de energía y piezas en sus respectivos lugares
- b) Preparación de Tubo Colector: esto se realizó, introduciendo el cono de goma en el tubo colector, a su vez en el extremo inferior del cono se ingresó el tubo milimetrado falcom, el cual fue revestido de una protección de policarbonato para evitar la rotura del cristal a más de proteger la muestra de rayos solares y o cualquier contaminante externo o agente espermicida.
- c) Extracción del Semen: para lograrlo, se introdujo vía rectal el electrodo del equipo que lleva en su parte inferior una platina metálica que conduce de energía, se aplicó Gel como lubricante para evitar la ceración de la mucosa del toro. El dispositivo se coloca en línea recta en dirección a la columna vertebral, de manera tal que facilite el ingreso, forme un ángulo de 45°; el electrodo hace contacto con los glóbulos seminales (glándulas bulbo uretrales o de cowper, vesículas seminales, próstata) generando el impulso eléctrico sobre los nervios de esa zona haciendo que se produzca la eyaculación. Para lograr un buen eyaculado, se programó de manera automática el electroeyaculador en conjunto de un operador quien reguló el voltaje de acuerdo a la sensibilidad de cada semental.

Transporte de la Muestra

Una vez obtenida la muestra, fue inmediatamente llevada hacia el laboratorio ubicado a 400 metros de la estación de extracción. , siendo protegida de rayos solares y actores mecánicos que afecten a la calidad de la muestra.

3.3.5.2 Metodología para Análisis de Laboratorio de Semen Fresco

Preparación de Laboratorio

El laboratorio así como todas las herramientas e instrumentos para el experimento se prepararon con un día de anticipación, en donde se hizo lo siguiente:

- Preparación de Diluyente: Se vertió agua destilada en el baño María hasta la señal designada y se programó el equipo a 35 °C (Esto se realizó al momento de ingresar al laboratorio); se colocó un Erlenmeyer conteniendo 16 ml de agua ultra pura y en una probeta se vertió 4 ml de diluyente Andromed; por consiguiente se colocaron ambos envases dentro del baño María hasta que alcanzaron una temperatura uniforme por un lapso de 10 minutos. Al transcurrir dicho tiempo se agregó el diluyente al agua ultra pura (relación 4:1) y se dejó en baño María durante cinco minutos, luego se retiró y homogenizo la solución diluyente, una vez homogenizada se dejó en temperatura ambiente durante 10 minutos, para luego colocar la dilución en refrigeración un día antes de su uso.

- Limpieza y Desinfección de Laboratorio: Para esto, se aseó con una toalla humedecida con (Hipoclorito, Alcohol 70 %) las superficies de cerámica y madera respectivamente. Retirando el polvo y contaminantes por todo el laboratorio. Se aspiró el piso completamente, para luego colocar solución desinfectante desodorizada líquida, luego fue trapeado para su total desinfección.

- Preparación KIT de extracción: Este KIT incluye 10 conos de goma, 10 Tubos colectores milimetrados ,10 cintas de parafina, tijera, 10 tapones de caucho, toalla de tela, recipiente plástico. Lo requerido en el experimento fue 8 para cada extracción, pero en vista de situaciones de campo, siempre se preparó más de lo requerido. Estos materiales fueron revisados y preparados un día antes para disminuir situaciones imprevistas a las actividades realizadas.

Análisis de la Muestra de Semen Fresco

Mientras se hicieron los preparativos para la extracción seminal en campo, en el laboratorio, al ingresar se vertió agua destilada en el baño María y se programó el equipo a 29 °C (temperatura a la cual fueron recibidas las muestras seminales), Una vez preparado el baño María y llegada la muestra al laboratorio se hicieron los siguientes análisis.

- Características Macroscópicas:
 - Temperatura y pH: .- Las muestras se analizaron mediante el pHmetro portátil PT 370, se introdujo el extremo metálico del equipo (previamente lavado con agua destilada y secado con toalla, esto para cada muestra), dentro del tubo milimetrado con muestra seminal, evitando el roce con la superficie de cristal, para ello se programó el pHmetro en (Calc²), esta programación es específica del equipo para muestras seminales bovinas.
 - Volumen: el volumen seminal se midió directamente en el tubo de recolección y expresado en ml
 - Color: se evaluó por observación directa inmediatamente después de analizar pH y temperatura, considerando el rango de color lechoso, cremoso, cremoso amarillo.
- Características Microscópicas :
 - Concentración Espermiática: Con una pipeta se tomó 10 µl del eyaculado, se llenó la microcubeta del fotómetro y se procedió a la

lectura de la concentración espermática expresada en 10^6 millones de espermatozoides.

- Motilidad Masal, Motilidad Progresiva, Velocidad Curvilínea, Velocidad Media, Velocidad Rectilínea: Con una micro pipeta se extrajo 12 μ l de semen y se colocó en el portaobjetos previamente calentado a 37°C, se ubicó el cubre objetos y se observó en el microscopio con el fin de hacer una evaluación subjetiva. Analizada subjetivamente la muestra esta mostró una buena motilidad masal y actividad espermática, luego se realizó la dilución del semen. Esta dilución fue de las siguientes relaciones (1 : 10) y (1 : 100), una de ellas fue elegida para ser observada en el sistema CASA, con la ayuda de la evaluación subjetiva y la concentración espermática , se eligió trabajar con diluciones 1:10 (Diluyente(ml) : Semen (μ l)) para muestras con buena concentración y actividad espermática , y 1:100 para muestras con baja concentración y actividad espermática. De tal manera que hecha la elección de la dilución a trabajar, se tomó una muestra de 10 μ l de semen diluido misma que fue introducida en una celda de la cámara leja (que estuvo previamente temperada en la platina térmica) y se analizó con el equipo CASA, en este análisis computarizado se tomaron en cuenta aspectos como, el volumen de la muestra , el pH , la dilución , además del rango del haz de luz que estuvo en 92, lente 20x (esto corresponde al manejo del equipo). Por consiguiente arroja los resultados de las variables esperadas.
- Vitalidad: Para ello se extrajo 12 μ l de semen y se colocó en una placa porta objetos calentada a 37°C, se adicionó 10 μ l de eosina y 12 μ l de nigrosina, se mezcló y se realizó el frotis para luego ser observado en el microscopio (en aumento de 100x y utilizando aceite de inmersión) después de 15 minutos de hecho el frotis, contando 100 espermatozoides y clasificándolos en Vivos o Muertos, y plasmando el porcentaje relativo a cada categoría en la hoja de laboratorio. La proporción de espermatozoides coloreados sobre el total de células observadas constituyo el porcentaje de espermatozoides muertos en la muestra.

- **Morfología** : Se utilizó las mismas placas de vitalidad , a la vez que era evaluada la vitalidad , se analizó las diferentes anormalidades espermáticas que presentaban las muestras , clasificándolas según sus categorías (anormalidades de cabeza, pieza media , flagelo) detalladas anteriormente , y plasmándolas en la hoja de laboratorio .

Mediciones cuantitativas que realizó el sistema CASA

Velocidad curvilínea (VCL, velocidad media del espermatozoide medida sobre la trayectoria verdadera punto a punto seguida por la célula en $\mu\text{m}/\text{segundo}$).

Velocidad media (VAP, que es la velocidad sobre una trayectoria recta calculada y medida en $\mu\text{m}/\text{segundo}$, es una estimación de la trayectoria real).

Velocidad rectilínea (VSL, que es la distancia en línea recta entre el inicio y el final de la trayectoria del espermatozoide, medida en $\mu\text{m}/\text{segundo}$).

Considerando el aseo del laboratorio según la metodología detallada en preparación de laboratorio, una vez que la práctica fue terminada se limpió e higienizó tanto el área de laboratorio como los materiales empleados, esterilizando los conos (previamente lavados con jabón neutro, enjuagados y secados al ambiente) en la esterilizadora para conos y vaginas de goma, programada a 120 minutos, antes de ello se llenó con agua destilada. Al igual que los tubos milimetrados y vasos de precipitación, introduciéndolos en el autoclave, durante 20 minutos.

3.3.5.3 Metodología de Análisis de Datos

Una vez que los datos fueron obtenidos, se plasmaron en la hoja de campo, se recopilaron en Excel, y se realizaron las tabulaciones y pruebas estadísticas, procesando dichos datos y representándolos gráficamente, en Excel e Infostat.

Se ejecutaron transformaciones de datos para las variables estudiadas , En estadística, la transformación de datos se efectúa para asegurarse así de que tienen una distribución normal (un remedio para los valores atípicos, fallas de la normalidad, la linealidad, y homocedasticidad), lo que normalmente se hace para preparar los datos para el análisis de regresión, ya que este análisis asume los datos son lineales, normales y homoscedásticos. Esto también se conoce como la transformación de la linealidad. Un buen indicador de los datos con una distribución normal es el sesgo en el rango de -0,8 a 0,8 y curtosis en el rango de -3,0 a 3,0.

Pequeñas muestras de una de población con valores atípicos son un problema, porque los intervalos de confianza que producen a menudo están fuera de centro y son muy estrechos. El intervalo de confianza será mayor que la tasa de captura de estos intervalos. Si el tamaño de la muestra es demasiado pequeña o los datos están sesgados se puede intentar una de estas transformaciones: logarítmica, raíz cuadrada o inversa. (Ronald, S. 2002)

IV. RESULTADOS y DISCUSION

4.1 Caracterización de Toros Experimentales:

Cuadro 4. Caracterización de toros Experimentales

Código -Toro	Raza	Condición Corporal	Circunferencia Escrotal (cm)	Observación
B 156	Brahman	3,5	37	Buenos aplomos, buen ángulo de pezuña, presencia de garrapatas
B 161	Brahman	3,5	35,2	Buenos aplomos, buen ángulo de pezuña, presencia de garrapatas
B 164	Brahman	3,5	35	Buenos aplomos, buen ángulo de pezuña, presencia de garrapatas
B 167	Brahman	3	38	Lesión tren posterior derecho, buenos aplomos, identificador naranja oreja derecha
B 169	Brahman	3,5	38,5	Buenos aplomos, buen ángulo de pezuña, presencia de garrapatas
B 170	Brahman	3,5	35	Buenos aplomos, buen ángulo de pezuña, presencia de garrapatas
B 174	Brahman	3,5	40,5	Buenos aplomos, buen ángulo de pezuña, sin lesiones
B 216	Brahman	3,5	38,6	Buenos aplomos, buen ángulo de pezuña, presencia de garrapatas
H 310	Holstein	3	40,3	Sin lesión, Buenos aplomos, buen ángulo de pezuña, Presencia de verrugas a nivel de ojos, morro, prepucio (no obstruye la salida del glande), base testicular.
H 320	Holstein	3,5	38	Buenos aplomos, buen ángulo de pezuña, presencia de garrapatas
H 330	Holstein	3,5	43,7	Buenos aplomos, Sin lesiones, Verrugas a nivel base testicular
H 340	Holstein	3,2	37,2	Buenos aplomos, buen ángulo de pezuña, presencia de garrapatas
H 350	Holstein	3	37,2	Buenos aplomos, verrugas a nivel de paleta, presencia de garrapatas
H 360	Holstein	3	40	Buenos aplomos, Sin lesiones
H 370	Holstein	3,2	46,2	Buenos aplomos, garrapatas a nivel testicular, verrugas en base testicular
H 380	Holstein	3,5	39,4	Buenos aplomos, buen ángulo de pezuña, presencia de garrapatas

Cuadro 5. Selección Aleatoria de Toros para Tratamientos

Raza	Tratamientos	
	Pasto + Agua+ Sal Mineral	Pasto +Agua+ Balanceado
<i>Bos indicus</i>	B 170	B 174
	B 167	B 161
	B 169	B 156
	B 164	B 216
<i>Bos taurus</i>	H 350	H 360
	H 330	H 340
	H 370	H 320
	H 380	H 310

4.2 Análisis de la Influencia Nutricional en las Características Seminales macro y microscópicas en Toros de Raza *Bos taurus* y *Bos indicus*

Para el análisis de la influencia nutricional en las características seminales, como primera instancia se realizó el cálculo del promedio de los resultados de las diferentes extracciones, diferenciándolas del grupo de sujetos experimentales expuestos a dos niveles nutricionales (Sal Mineral y Balanceado), como lo indica el Cuadro 6., para luego categorizar dicha información y reclasificarla considerando los tratamientos expuestos en el Diseño experimental como lo indica el cuadro 7. Por consiguiente se realizó el cálculo de los promedios de las variables macroscópicas y microscópicas de cada una de las extracciones respectivas como se indica en los cuadros.

RESULTADOS DE EXTRACCIONES

Cuadro 6. Promedios de Extracciones de variables de la calidad espermática en el experimento.

Dieta	Extracción	Macroscópicas				Microscópicas							
		Ph	Temperatura	Color	Volumen (ml)	Concentración x10 ⁶ /ml	Análisis Computarizado CASA					Vitalidad Vivos %	Morfología Normalidad %
							MM (%)	MP (%)	VCL	VAP	VSL		
PASTO + AGUA + SAL MINERAL	L.B	7,1	28,1	Lechoso	8,7	362,5	56,9	45,2	94,7	64,5	57,1	63,8	78,25
	1	7,0	32,1	Lechoso	6,6	505,1	65,5	52,3	102,1	55,8	43,6	60,6	70,38
	2	7,1	31,3	Lechoso	6,9	867,3	67,8	54,7	141,5	81,7	68,5	54,4	69,63
	3	7,2	30,3	Cre moso	7,0	938,1	79,5	73,1	140,1	79,7	66,7	58,75	72,63
	4	7,15	32,23	Lechoso	6,50	409,75	75,00	68,00	129,83	75,71	64,89	76,00	86,63
	5	7,34	32,60	Cre moso	6,75	1169,88	78,40	70,66	133,58	72,41	55,34	67,25	80,75
PASTO + AGUA + BALANCEADO	L.B	6,9	26,6	Lechoso	7,5	491,5	62,2	53,5	95,4	60,3	51,9	72,3	72,25
	1	7,2	31,4	Lechoso	7,4	613,3	74,2	66,5	124,4	67,8	53,6	67,1	74,75
	2	7,3	26,8	Cre moso	7,4	294,3	60,1	50,1	100,4	58,2	47,5	67,4	73,50
	3	7,1	32,0	Cre moso	6,8	677,3	76,4	68,6	122,7	73,1	62,9	58,5	73,50
	4	7,15	32,29	Cre moso	7,85	660,88	73,59	65,93	125,60	75,75	65,14	84,50	78,50
	5	7,18	32,55	Cre moso	5,43	1077,25	66,94	57,72	121,59	69,90	55,17	64,25	77,75

Cuadro de resultados correspondientes a las extracciones realizadas durante el experimento, considerando L.B (línea base) el punto de partida, donde los sujetos experimentales no estuvieron expuestos a ningún tratamiento; información que luego fue comparada con los resultados del experimento, según las figuras ,37 – 46.

Cuadro 7. Promedios de Tratamientos, de variables de la calidad espermática en el experimento.

Descripción			Macroscópicas			Microscópicas							
						Concentración x10 ⁶ /ml	Análisis Computarizado CASA					Morfología Normalidad	
Raza	Nutrición	Tratamiento	Ph	T°C	Vol.(ml)		MM (%)	MP (%)	VCL	VAP	VSL		Vivos%
Brahman	Sal mineral	Bism	7,2	31,3	5,7	819,0	75,8	68,6	131,4	75,8	62,9	69,5	79,8
Brahman	Balanceado	Biba	7,2	26,1	6,4	795,7	68,9	61,2	115,5	68,0	56,9	72,5	74,0
Holstein	Sal mineral	Btsm	7,1	31,9	7,6	738,8	70,7	58,9	127,4	70,3	56,7	57,4	72,2
Holstein	Balanceado	Btba	7,2	31,9	7,5	533,5	72,3	63,2	122,5	69,6	56,4	64,3	77,3

Cuadro de resultados de promedios de tratamientos en el experimento, este cuadro analizó los promedios obtenidos de todas las repeticiones y extracciones realizadas, categorizándolas por los tratamientos propuestos en el diseño experimental

RESULTADOS DE VARIABLES DE EXTRACCIONES

A continuación se presenta los cuadros de resultados de las variables analizadas para la evaluación de la calidad espermática, de cada una de las extracciones realizadas en el experimento, de manera que se agrupan y promedian resultados según las fuentes de variación (raza, nutrición, raza x nutrición) que fueron propuestas para el análisis de varianza.

Cuadro 8. Promedios de resultados de las variables analizadas, en comparación de los tratamientos correspondientes a la primera extracción.

Factor	Macroscópicas			Microscópicas						Vitalidad Vivos %	Morfología Normalidad
	pH	Temperatura	Volumen (ml)	Concex106/ml	Análisis Computarizado Casa			VSL			
					MM (%)	MP(%)	VCL		VAP		
Brahman	7,105	31,435	6,0625	569,25	64,899	55,10125	105,58375	57,46875	45,94	65,625	74,5
Holstein	7,08375	31,65	7,325	553,5	74,8175	63,635	120,91125	66,06375	51,21125	62,125	70,625
Sal Mineral	7,01625	31,6625	6	509,5	65,52275	52,26375	102,0875	55,7625	43,56875	60,625	70,375
Balanceado	7,1725	31,4225	7,3875	613,25	74,19375	66,4725	124,4075	67,77	53,5825	67,125	74,75
Brah*Salmi	7,1	32,175	5,125	376	68,1005	56,9175	96,6275	53,605	43,375	62,75	69
Brah*Balan	7,11	30,695	7	762,5	61,6975	53,285	114,54	61,3325	48,505	68,5	80
Hols*Salmi	6,9325	31,15	6,875	643	62,945	47,61	107,5475	57,92	43,7625	58,5	71,75
Hols*Balan	7,235	32,15	7,775	464	86,69	79,66	134,275	74,2075	58,66	65,75	69,5

Cuadro 9. Promedios de resultados de las variables analizadas, en comparación de los tratamientos correspondientes a la segunda extracción.

Factor	Microscópicas										
	Macroscópicas			Concex106/ml	Análisis Computarizado Casa					Vitalidad	Morfología
	pH	Temperatura	Volumen (ml)		MM (%)	MP(%)	VCL	VAP	VSL		
	7,2					60,2062	134,65	76,2687	66,137		
Brahman	2	26,6	6,375	669,125	70,47	5	5	5	5	70,25	71,75
	7,1										
Holstein	1	31,50	7,98	492,38	57,41	44,57	107,23	63,61	49,93	51,50	71,38
Sal Mineral	7,1	31,3	6,9	867,3	67,8	54,7	141,5	81,7	68,5	54,4	69,6
Balanceado	7,3	26,8	7,4	294,3	60,1	50,1	100,4	58,2	47,5	67,4	73,5
	7,1										
Brah*Salmi	8	31,25	5,48	923,50	77,60	68,66	167,45	93,02	82,14	68,00	76,00
	7,2										
Brah*Balan	6	101,95	7,28	414,75	63,34	51,76	101,86	59,52	50,14	72,50	67,50
Hols*Salmi	6,9										
	6	31,36	8,40	811,00	57,94	40,75	115,47	70,41	54,96	40,75	63,25
Hols*Balan	7,2										
	6	31,65	7,55	173,75	56,88	48,40	98,98	56,81	44,89	62,25	79,50

Cuadro 10. Promedios de resultados de las variables analizadas, en comparación de los tratamientos correspondientes a la tercera extracción.

Factor	Microscópicas										
	Macroscópicas			Concex106/ml	Análisis Computarizado Casa					Vitalidad	Morfología
	pH	Temperatura	Volumen (ml)		MM (%)	MP(%)	VCL	VAP	VSL		
Brahman	7,16125	30,6	6,2	925	82,995	78,1175	128,3875	78,3175	66,68625	61,75	75,5
Holstein	7,125	31,62375	7,5375	690,375	72,874375	63,55875	134,44125	74,500625	62,9325	55,5	70,625
Sal Mineral	7,18	30,26125	6,9875	938,125	79,513125	73,05625	140,0975	79,704375	66,70875	58,75	72,625
Balanceado	7,10625	31,9625	6,75	677,25	76,35625	68,62	122,73125	73,11375	62,91	58,5	73,5
Brah*Salmi	7,1675	28,75	6,675	1106,25	86,115	81,345	137,525	81,4925	67,5	62	80,75
Brah*Balan	7,155	32,45	5,725	743,75	79,875	74,89	119,25	75,1425	65,8725	61,5	70,25
Hols*Salmi	7,1925	31,7725	7,3	770	72,91125	64,7675	142,67	77,91625	65,9175	55,5	64,5
Hols*Balan	7,0575	31,475	7,775	610,75	72,8375	62,35	126,2125	71,085	59,9475	55,5	76,75

Cuadro 11. Promedios de resultados de las variables analizadas, en comparación de los tratamientos correspondientes a la cuarta extracción.

Factor	Macroscópicas			Microscópicas						Vitalidad	Morfología Normalidad
	pH	Temperatura	Volumen (ml)	Concex106/m	Análisis Computarizado Casa			VSL			
					MM (%)	MP(%)	VCL		VAP		
Brahman	7,07	32,4	6,25	685,875	72,01375	66,78875	5	75,45375	65,38375	87,25	83,5
Holstein	7,2275	32,1125	8,1	384,75	5	5	135,3025	5	5	73,25	81,625
Sal Mineral	7,1512						120,1212				
Balanceado	5	32,225	6,5	409,75	75	67,99625	5	75,70625	64,8925	76	86,625
Brah*Salmi	7,1462				73,59062	65,932187		75,745312	65,138437		
Brah*Balan	5	32,2875	7,85	660,875	5	5	125,595	5	5	84,5	78,5
Brah*Salmi	7,045	32,25	5,375	580,75	73,64	68,4975	121,865	77,0675	66,4225	84	89,5
Brah*Balan	7,095	32,55	7,125	791	70,3875	65,08	118,3775	73,84	64,345	90,5	77,5
Hols*Salmi	7,2575	32,2	7,625	238,75	76,36	67,495	137,7925	74,345	63,3625	68	83,75
Hols*Balan	7,1975	32,025	8,575	530,75	76,79375	66,784375	132,8125	77,650625	65,931875	78,5	79,5

Cuadro 12. Promedios de resultados de las variables analizadas, en comparación de los tratamientos correspondientes a la quinta extracción.

Factor	Macroscópicas			Microscópicas						Vitalidad	Morfología Normalidad
	pH	Temperatura	Volumen (ml)	Concex106/ml	Análisis Computarizado Casa			VSL			
					MM (%)	MP(%)	VCL		VAP		
Brahman	7,275	32,5125	5,3125	1187,375	71,46125	64,335	128,35875	71,98375	55,24	69,875	79,125
Holstein	7,23875	32,6375	6,8625	1059,75	73,87875	64,045	126,81875	70,3225	55,27125	61,625	79,375
Sal Mineral	7,3375	32,6	6,75	1169,875	78,39875	70,65625	133,58375	72,4075	55,34	67,25	80,75
Balanceado	7,17625	32,55	5,425	1077,25	66,94125	57,72375	121,59375	69,89875	55,17125	64,25	77,75
Brah*Salmi	7,28	31,95	5,75	1108,5	73,4775	67,55	133,45	73,82	55,0075	70,5	83,75
Brah*Balan	7,27	33,075	4,875	1266,25	69,445	61,12	123,2675	70,1475	55,4725	69,25	74,5
Hols*Salmi	7,395	33,25	7,75	1231,25	83,32	73,7625	133,7175	70,995	55,6725	64	77,75
Hols*Balan	7,0825	32,025	5,975	888,25	64,4375	54,3275	119,92	69,65	54,87	59,25	81

Cuadro 13. Promedios de resultados de las variables analizadas, en comparación de los tratamientos correspondientes a todas las extracciones.

	Macroscópicas			Microscópicas							
	pH	Temperatura	Volumen (ml)	Concex106/ml	Análisis Computarizado Casa			Vitalidad	Morfología		
					MM (%)	MP(%)	VCL			VAP	VSL
Brahman	7,17	31,69	6,04	807,33	72,37	64,91	123,42	71,90	59,88	70,95	76,88
Holstein	7,16	31,90	7,56	636,15	71,11	60,59	124,94	70,10	56,80	60,80	74,73
Sal Mineral	7,15	31,61	6,64	778,90	73,24	63,73	129,41	73,06	59,81	63,40	76,00
Balanceado	7,17	31,98	6,97	664,58	70,24	61,77	118,95	68,94	56,86	68,35	75,60
Brah*Salmi	7,15	31,28	5,68	819,00	75,79	68,59	131,38	75,80	62,89	69,45	79,80
Brah*Balan	7,18	32,10	6,40	795,65	68,95	61,23	115,46	68,00	56,87	72,45	73,95
Hols*Salmi	7,15	31,95	7,59	738,80	70,69	58,88	127,44	70,32	56,73	57,35	72,20
Hols*Balan	7,17	31,86	7,53	533,50	71,53	62,30	122,44	69,88	56,86	64,25	77,25

4.2.1 Análisis de Varianza para los Resultados Obtenidos

A continuación se presenta los cuadros de resumen del análisis de varianza considerando los cuadrados medios de las extracciones realizadas, para cada una de las variables analizadas en la determinación de la calidad espermática a los sujetos experimentales bajo distinta raza y nutrición, así como también la interacción de ambas. Los datos antes mencionados son valores ajustados.

Las figuras correspondientes a cada uno de los cuadros, están realizadas en base a los datos promedios de la comparación de tratamientos que arrojó los resultados de campo, en vista que el análisis de varianza nos da una cantidad de cuadrados medios con valores transformados, por cuestiones de normalización de la muestras.

VARIABLES MACROSCOPICAS

Cuadro 14. Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable pH.

Fuente de Variación	Grados Libertad	Cuadrados Medios de Extracciones				
		1	2	3	4	5
Raza	1	0,000071 ^{ns}	0,0018 ^{ns}	0,00019 ^{ns}	0,0035 ^{**}	0,00019 ^{ns}
Nutrición	1	0,000034 ^{**}	0,01 ^{**}	0,00076 [*]	0,0031 ^{ns}	0,0036 ^{**}
Raza x Nutrición	1	0,003 [*]	0,0018 ^{ns}	0,00053 [*]	0,00042 ^{ns}	0,0032 [*]
Error	12	0,00037	0,0004	0,000094	0,00014	0,00038
C.V		0,72	0,74	0,36	0,45	0,72
Total	15					

*Significativo**

*Altamente significativo ***

No significativo^{ns}

No todas las extracciones presentaron una diferencia significativa para la variable de pH

Para la fuente de variación “raza”, solo hubo diferencia significativa en la cuarta extracción tal cual lo indica la figura 3. Siendo el promedio de la raza para la variable “pH” 7,2 como indica el cuadro 7 y 13

Para la fuente de variación “nutrición”, no hubo diferencia significativa en la cuarta extracción, presentando diferencias en el resto de extracciones como lo indica la figura 4.

Para la interacción de las fuentes de variación “raza por nutrición”, se encontró diferencia significativa en las extracciones 1, 3, 5 como lo indica la figura 5.

El factor “nutrición” presentó mayor número de extracciones con diferencia significativa que el factor nutrición y la interacción de ambos.

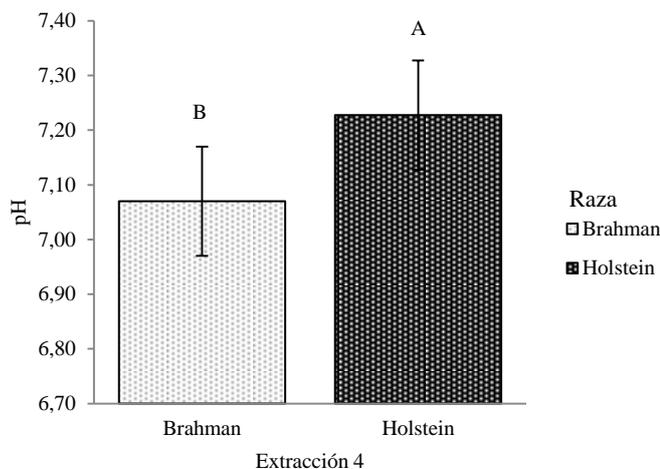


Figura 3. Diagrama de barras de la variable “pH” para el factor “raza”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

El grupo de animales con raza Holstein, presentaron un pH más básico (7,23) que el grupo de animales brahmán (7,07), como lo indica el cuadro 11. , valor que fluctúa entre 6.8 y 7,2 mismos resultados que muestra (Corpoica, 2010) en donde se hace una evaluación reproductiva del macho bovino en climas tropicales. Los sujetos experimentales en este caso los toros, que comprendieron al factor de raza, brahmán y holstein , considerando que la dieta y la extracción fueron factores que no prescribieron significancia ; presentaron una gran variabilidad de resultado del pH entre individuos y entre razas durante las extracciones esto puede verse en el anexo 6 , y también se puede corroborar con (Williams, G. 1980) quien estima que las variables de calidad espermática como pH puede variar entre las especies, los individuos de la misma especie y en un mismo individuo además de que puede variar por enfermedades, frecuencia de eyaculación, nutrición, época del año, edad, estímulos sexuales, manipulación antes y después de la colecta, agentes farmacológicos y las variaciones fisiológicas normales.

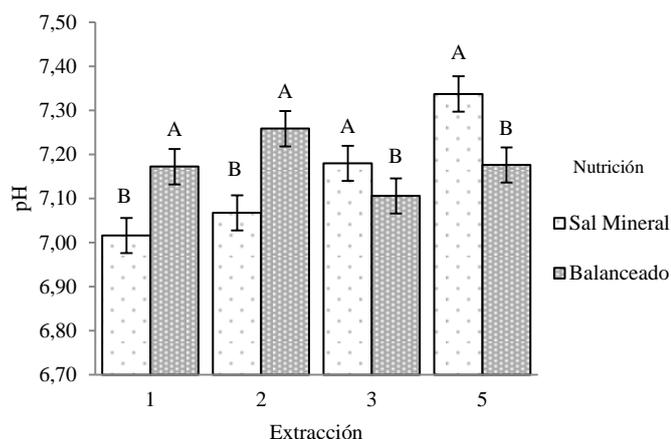


Figura 4. Diagrama de barras de la variable “pH” para el factor nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

El grupo de animales que tuvo como dieta, balanceado, presentó un pH más básico que los que fueron sometidos a dieta con sal mineral, a excepción de la extracción 5 en donde Sal mineral supera a la dieta con balanceado obteniendo el resultado más alto de todas las extracciones (7,34). Sin embargo es notorio el aumento del pH para el grupo de animales sometidos a sal mineral durante las extracciones.

Se considera al pH, como una variable que mide acidez o alcalinidad, para el caso del experimento las muestras colectadas a lo largo del mismo no sobrepasaron a un pH de 7,7 ni estuvieron por debajo de 6,5, siendo esto un indicativo como fue mencionado anteriormente de un pH que se mantuvo en el rango de buena calidad y siendo en promedio general 7. De manera contraria si los valores hubiesen sido mayores o menores, el caso sería distinto según menciona (Padrón, *et al.*, 1998) donde se ha sugerido que un pH elevado (> 8) puede considerarse un signo de infección seminal si se asocia a otros síntomas, mientras que un pH disminuido ($< 7,2$) se observa cuando existe un déficit de la función de las vesículas seminales.

No existe parámetro que especifique el rango de pH que debe llevar una raza en especial, siendo esta una variable macroscópica, como indicador clínico del estado sanitario del semen.

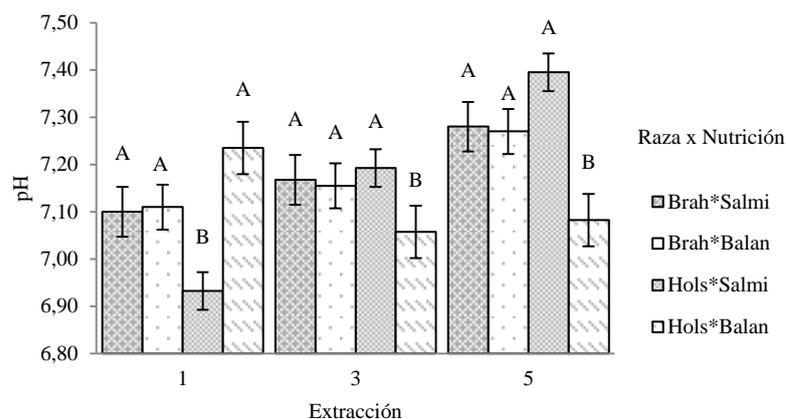


Figura 5. Diagrama de barras de la variable “pH” para la interacción de factores “raza por nutrición”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

El tratamiento de sal mineral para el grupo de animales de raza Holstein presento un aumento de 6,93 a 7,40 como se evidencia en la figura 1, 2,3 véase también cuadro 8, 10,12. Siendo este tratamiento el que representó la mayor diferenciación con el resto de extracciones y en el tiempo.

El tratamiento de balanceado con el grupo de animales de raza Holstein , presentó los resultados más bajos en cuanto a incremento de pH , no estando así en un rango de pH negativo , ni que de indicativos de presentar infección . Como se mencionó anteriormente hablando de los intervalos de pH según (Padrón, *et al.*, 1998).

Cuadro 15. Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable “temperatura”

Fuente de Variación	Grados Libertad	Cuadrados Medios de Extracciones				
		1	2	3	4	5
Raza	1	0,0015 ^{ns}	0,000000014 ^{ns}	0,04 ^{**}	0,0025 ^{ns}	0,00049 ^{ns}
Nutrición	1	0,0019 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,09 ^{**}	0,000098 ^{ns}	0,00074 ^{ns}
Raza x Nutrición	1	0,05 ^{**}	0,00034 ^{ns}	0,13 ^{**}	0,0017 ^{ns}	0,04 [*]
Error	12	0,0041	0,003	0,0035	0,01	0,01
C.V		1,13	0,97	1,06	1,45	1,25
Total	15					

No todas las extracciones presentaron una diferencia significativa para la variable de temperatura

Para la fuente de variación “raza”, solo hubo diferencia significativa en la tercera extracción tal cual lo indica la figura 6. Siendo el promedio de la raza para la variable temperatura 31,11°C como indica el cuadro 7 y 13

Para la fuente de variación “nutrición”, hubo diferencia significativa en la tercera extracción, no presentando diferencias en el resto de extracciones como lo indica la figura 7.

Para la interacción de las fuentes de variación “raza por nutrición”, se encontró diferencia significativa en las extracciones 1, 3, 5 como lo indica la figura 8.

La interacción de factores “raza por nutrición” presento mayor número de extracciones con diferencia significativa que el factor “nutrición” y “raza”.

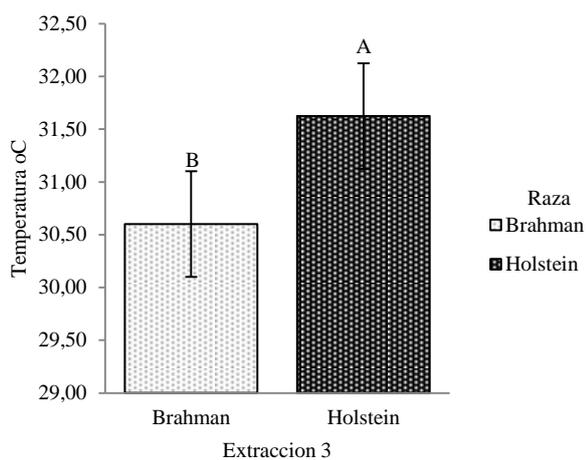


Figura 6. Diagrama de barras de la variable “temperatura” para el factor “raza”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

La raza holstein presentó una diferencia significativa ($31,62^{\circ}\text{C}$) según el análisis de varianza en comparación con Brahman ($30,60^{\circ}\text{C}$) resultados correspondientes a la tercera extracción, y única, que presentó resultado con diferencia dentro de todo el experimento, esto puede corroborarse en el cuadro 10.

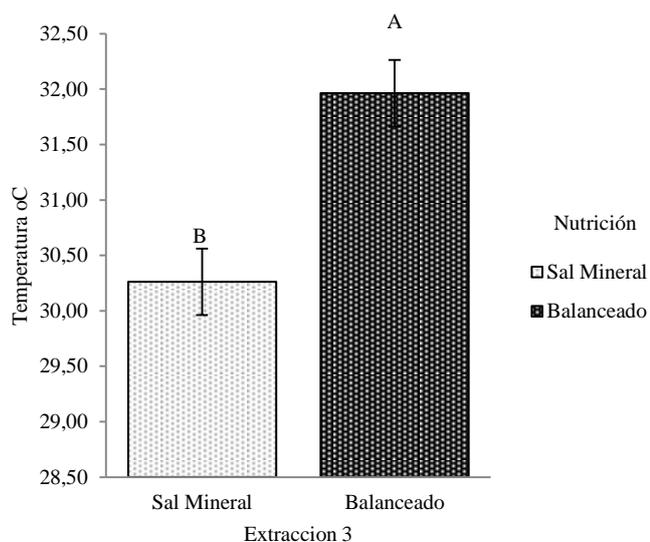


Figura 7 Diagrama de barras de la variable “temperatura” para el factor “nutrición”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

La dieta con balanceado presentó una diferencia significativa ($31,96^{\circ}\text{C}$), según el análisis de varianza en comparación con Sal Mineral ($30,26^{\circ}\text{C}$), resultados correspondientes a la tercera extracción, y única, que arrojó resultado con diferencia dentro de todo el experimento, según el cuadro 10.

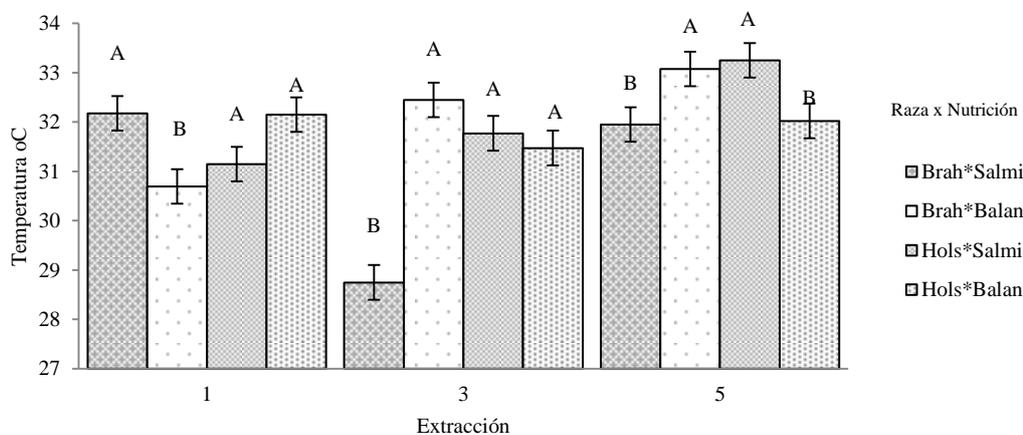


Figura 8. Diagrama de barras de la variable “temperatura” para la interacción de factores “raza por nutrición”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

El tratamiento Brahman con Sal mineral presentó la mayor temperatura en la primera extracción ($32,17^{\circ}\text{C}$), Siguiendo muy de cerca Holstein con Balanceado con un promedio de ($32,15^{\circ}\text{C}$), El valor más bajo en temperatura registró el tratamiento Brahman con balanceado ($30,69^{\circ}\text{C}$), como se puede ver en el cuadro 7 y 8.

Para la tercera extracción, el tratamiento que presentó mayor temperatura fue Brahman con balanceado ($32,45^{\circ}\text{C}$) y la menor temperatura registrada fue Brahman con sal mineral ($28,75^{\circ}\text{C}$); lo totalmente opuesto a la primera extracción, se puede

observar en el cuadro 10. , sin embargo se registra la mayor temperatura entre las extracciones a la quinta vez que esta se realiza, con un promedio de (33,25 °C) para el tratamiento “Holstein con Sal mineral junto a Brahman con balanceado (33,07 °C), las cuales presentan diferencia significativa entre Brahman con sal mineral (31,95 °C) y Holstein con Balanceado (32,02 °C), registrado en el cuadro 12.

No se verifico estudios, que manifiesten el estado de temperatura idóneo para un raza en específico; pero la temperatura de semen fresco , puede estar influenciada por características ambientales , fisiológicas o patogénicas , a más de variar entre individuos de una misma especie como se observa en los cuadros y gráficos antes mencionados, (Williams, G. 1980) estima que las variables de calidad espermática como temperatura puede variar entre las especies, los individuos de la misma especie y en un mismo individuo además de que puede variar por enfermedades, frecuencia de eyaculación, nutrición, época del año, edad, estímulos sexuales, manipulación antes y después de la colecta, agentes farmacológicos y las variaciones fisiológicas normales.

La temperatura de las muestras seminales tuvieron un promedio de 31,5°C, según el cuadro 13, mismo que está por debajo de 4 a 7 °C, de la temperatura corporal normal de los bovinos la cual oscila entre 37,5 y 39,5 °C, según (Rojas, R. 2012). y que fue corroborado por estudios como el de (Lozano, H. 2009) e (IRAC.2012), en los cuales los mecanismos de termorregulación escrotal mantienen a los testículos en menor temperatura a la corporal , con el fin de no afectar a la espermatogénesis ni calidad de semen .

Cuadro 16. Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la “variable volumen”

Fuente de Variación	Grados Libertad	Cuadrados Medios de Extracciones				
		1	2	3	4	5
Raza	1	0,26 ^{ns}	0,38 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,46 [*]	0,41 [*]
Nutrición	1	0,31 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,28 ^{ns}	0,28 ^{ns}
Raza x Nutrición	1	0,03 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,02 ^{ns}
Error	12	0,1	0,12	0,11	0,07	0,06
C.V		12,13	13,18	12,8	10,04	10,22
Total	15					

No todas las extracciones presentaron diferencia significativa para la variable de “Volumen”.

Para la fuente de variación “Raza”, solo hubo diferencia significativa en la cuarta y quinta extracción tal cual lo indica la figura 9. Siendo el promedio de la raza para la variable “Volumen” 6,8 como indica el cuadro 7 y 13

Para la fuente de variación “Nutrición”, no hubo diferencia significativa en ninguna de las extracciones.

Para la interacción de las fuentes de variación “Raza por Nutrición”, no se encontró diferencia significativa en las extracciones.

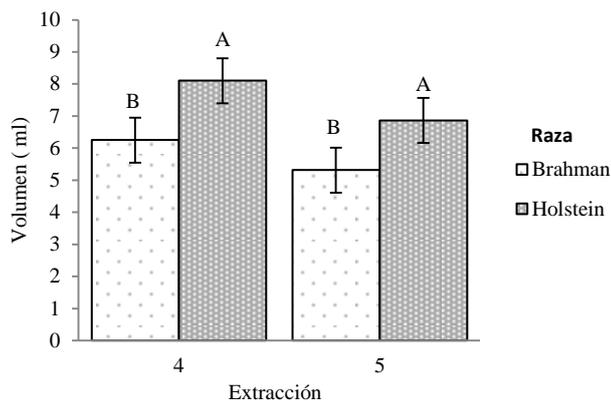


Figura 9. Diagrama de barras de la variable “Volumen” para el factor “Raza”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en la investigación.

La raza Holstein, presentó valores más altos de volumen en relación a la raza Brahman en la cuarta (8,1 ml) y quinta extracción (6,8 ml), teniendo la raza Holstein un valor de (6,25 ml) y (5,31 ml), respectivamente. Esto puede verse en el cuadro 11 y 12. Los resultados de “volumen” presentan una variabilidad significativa y no significativa para los mismos individuos dentro del experimento, siendo normal, porque la variable “volumen”, depende de diversos factores en un mismo individuo o en un grupo, tal cual lo indica (Williams, G. 1980).

La variable “Volumen” tuvo un promedio de 6,8 ml durante el experimento, como se puede observar en el cuadro 7 y 13, considerando las razas y los tratamientos evaluados, llegando a 13ml como el promedio más alto entre el grupo de razas. Siendo Holstein quien mantuvo los valores más altos, como grupo raza, dentro de las extracciones; las extracciones 4 y 5 manifestaron una diferencia significativa, este parámetro de volumen se encuentra dentro de lo normal, según los estudios de (Agüero, G. 2012), quien afirma que la cantidad en ml de los eyaculados normalmente es de aproximadamente 2 ml en animales jóvenes y en animales adultos \geq a 4 ml, llegando hasta 12ml. (Lozano, H. 2009) por otro lado indica que un toro *Bos taurus* disminuye su fertilidad comparado con un toro *Bos indicus*, cuando se encuentra en condiciones tropicales (mismas en las que se realizó el experimento ,

como lo es Santo Domingo de los Tsáchilas, siendo bosque húmedo tropical, según (Holdridge, G. , 1987).

Los sementales pueden presentar un alto índice de estrés oxidativo; este ocurre a nivel intratesticular y probablemente dé lugar a una inadecuada calidad del semen una vez que se obtenga un eyaculado tanto por monta directa o por colecta algunos investigadores reportan que los toros *Bos indicus* presentan siempre una menor producción y menor calidad espermáticas, sin importar bajo qué condiciones se encuentran en comparación con los *Bos taurus*. Este no es el caso, sin embargo durante el experimento en comparación de “razas” y “dietas” existió una diferencia en cuanto a volumen al momento de la extracción con la línea base, esto puede observarse cuadro 6, 7 , 13.

A su vez considerando los estudios de (Lozano, H. 2009) , en los que afirma que el volumen en toros Holstein , puede disminuir al estar en climas tropicales y que los toros Brahman presentan menor volumen en eyaculados , compaginan con los resultados obtenidos en el experimento .

VARIABLES MICROSCOPICAS

Cuadro 17. Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable “concentración”.

Fuente de Variación	Grados Libertad	Cuadrados Medios de Extracciones				
		1	2	3	4	5
Raza	1	2,01 ^{ns}	78,58 ^{ns}	76,81 [*]	196,94 ^{**}	16,1 ^{ns}
Nutrición	1	15,35 ^{ns}	637,79 ^{**}	3,66 [*]	137,19 [*]	6,08 ^{ns}
Raza x Nutrición	1	147,11 [*]	24,2 ^{ns}	7,65 ^{ns}	10,66 ^{ns}	58,7 ^{ns}
Error	12	29,08	20,12	13,27	0,6	20,02
C.V		23,44	19,68	12,98	18,86	13,47
Total	15					

No todas las extracciones presentaron diferencia significativa, para la variable de “Concentración”.

Para la fuente de variación “raza”, solo hubo diferencia significativa en la tercera y cuarta extracción como se observa en la figura 10; siendo el promedio de la raza para la variable “concentración” 721×10^6 espermatozoides/ml como indica el cuadro 7 y 13.

Para la fuente de variación “nutrición”, hubo diferencia significativa en la segunda, tercera y cuarta extracción, como indica la figura 11

Para la interacción de las fuentes de variación “raza por nutrición”, se encontró diferencia significativa en extracción 1, como indica la figura 12.

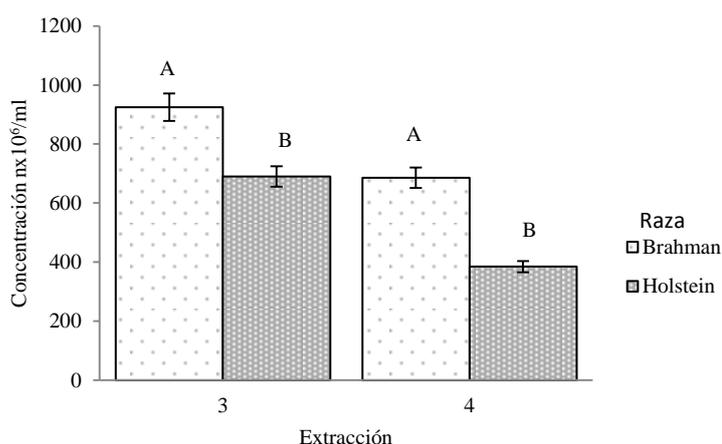


Figura 10. Diagrama de barras de la variable “concentración” para el factor “raza”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

Como se puede observar en la figura 10 , en la tercera y cuarta extracción la raza de toros Brahman presentó mejores resultados en cuanto a concentración , teniendo en la tercera extracción 925×10^6 espermatozoides / ml y en la cuarta 685×10^6 espermatozoides / ml, que la raza Holstein, la cual registró 690×10^6 y 384×10^6 espermatozoides / ml respectivamente para las extracciones . Esto puede observarse en el cuadro 7,10 y 11.

Estos resultados variaron para cada uno de los individuos, durante las extracciones, como se pueden observar en los cuadros 8, 9,12. Mismo que se corrobora con (Williams, G. 1980). Como se detalló anteriormente , que las características pueden variar en un individuo o en un grupo de individuos , por factores ambientales, tipo de extracción , y factores externos que inciden en la concentración espermática por cada eyaculado , algo común en toros jóvenes, es la masturbación previa a la extracción , situación que afecta directamente en el contenido espermático de una muestra seminal, los valores obtenidos se pueden comprobar según las investigaciones realizadas por (Krause, L., y Dittmar, A.1962.) Quienes determinan que un eyaculado con concentraciones mayores a 800×10^6 espermatozoides por mililitro (espermatozoides/ml) es considerado como bueno y mayores a 500×10^6 (espermatozoides/ml) es considerado un eyaculado de calidad regular. A su vez los resultados obtenidos difieren de la investigación que realizaron (Chenoweth, P.1981), (Randel, R.1993) y (Berdugo, J.1994) que mencionan la superioridad de la concentración espermática en sementales *Bos taurus* sobre la de *Bos indicus*, probablemente sea un fenómeno de adaptación y el estrés oxidativo que limitan la calidad espermática considerando la variable “concentración” en este caso de los toros Holstein; los Brahman presentaron mayores concentraciones , coincidiendo con (Lozano, H. 2009), este hecho puede deberse a que la raza Brahman tiene adaptación a las condiciones ambientales en Santo Domingo de los Tsáchilas.

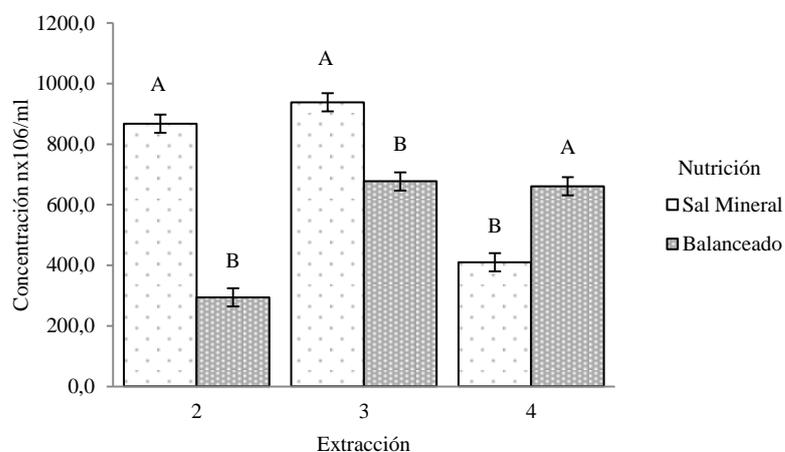


Figura 11. Diagrama de barras de la variable concentración para el factor Nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

El grupo de animales expuestos a una dieta con sal mineral tuvo mejores concentraciones espermáticas, significativamente diferentes ($p > 0,01$) según cuadro 17; como se puede observar en las extracciones 2 y 3 , excepto en la extracción 4 donde el alimento balanceado obtuvo mejores resultados en cuanto a concentración , siendo el promedio general para la dieta con Sal mineral (778×10^6 espermatozoides / ml) y Balanceado (664×10^6 espermatozoides / ml), cuadro 7 .

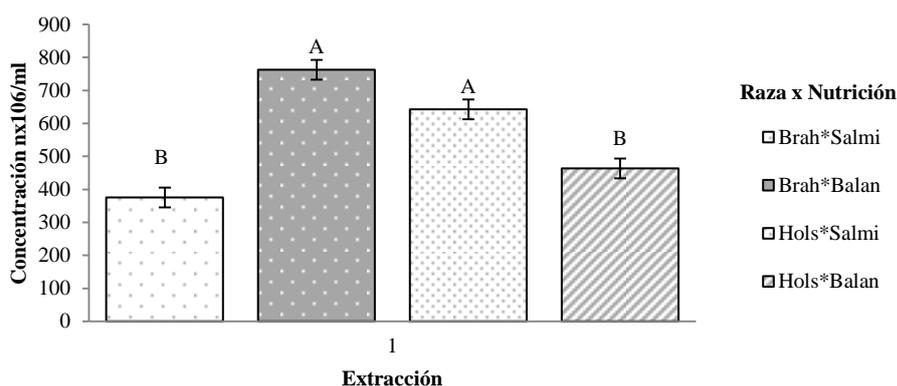


Figura 12. Diagrama de barras de la variable “concentración” para la interacción de factores “raza por nutrición”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

En la figura se puede observar que los sementales Brahman con dieta de balanceado presentaron una mayor concentración (762×10^6 espermatozoides/ ml) junto con los Holstein con Sal mineral (643×10^6 espermatozoides / ml) quienes manifestaron tener diferencia significativa en comparación del resto de los tratamientos.

Cuando los reproductores son alimentados con dietas bajas en energía, por periodos prolongados, la libido y producción de testosterona son afectadas mucho antes que la calidad del semen. Los efectos de la desnutrición pueden corregirse en animales adultos, pero es más difícil en animales jóvenes, por el daño causado al epitelio germinal, de los testículos (Hafez, E.1993); en la investigación los animales estuvieron en una edad adulta considerada entre 18-22 meses de edad , pero se considera la energía una base importante en la producción espermática, por tanto los animales sobre alimentados tuvieron una mayor ración energética propia del alimento balanceado, misma que se considera influyó sobre la producción de andrógenos y aptitud sexual, sin embargo en la presente investigación algunos sementales alimentados con sal mineral presentaron mejores resultados en algunas extracciones en comparación con balanceado, en esto influye la raza y la adaptabilidad de ésta a las condiciones climáticas. Los toros holstein tuvieron una fase de adaptación al lugar del experimento de 8 meses. Los reproductores taurus no expresan en su totalidad su potencial de crecimiento en condiciones de trópico bajo, dada su limitada capacidad de adaptación a dichas condiciones (Carvajal, L. 1990).

La adición de sal mineralizada en la dieta de los toros cruce sahiwal en la época lluviosa y seca no influyó significativamente en los niveles de concentración espermática y porcentaje de espermatozoides vivos (Chacón, J.*et al.*, 2002), por el contrario en la investigación realizada; haciendo relación a la figura 11, La dieta con sal mineral, presento valores con diferencia significativa en comparación a la dieta con balanceado.

En la figura 12, se observa diferencia significativa ($P < 0.05$) en ejemplares *Bos indicus* con respecto, a los *Bos taurus*; este resultado difiere de lo obtenido por varios investigadores que destacan la superioridad de la concentración espermática en sementales *Bos taurus* sobre la de *Bos indicus* (Chenoweth, P.1981), (Randel, R.1993) y (Berdugo, J.1994).

VARIABLES MICROSCOPICAS PROPORCIONADAS POR EQUIPO CASA

Cuadro 18. Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable “Motilidad Masal”.

Fuente de Variación	Grados Libertad	Cuadrados Medios de Extracciones				
		1	2	3	4	5
Raza	1	1,29 ^{ns}	2,89 ^{ns}	1,42 ^{ns}	0,39 ^{ns}	0,06 ^{ns}
Nutrición	1	1,01 ^{ns}	0,9 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,01 ^{ns}	1,82 [*]
Raza x Nutrición	1	3,33 [*]	0,62 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,77 ^{ns}
Error	12	0,43	0,72	0,32	0,2	0,36
C.V		7,87	10,71	6,47	5,23	7,09
Total	15					

No todas las extracciones presentaron una diferencia significativa para la variable de “Motilidad Masal”.

Para la fuente de variación “raza”, no hubo diferencia significativa en ninguna de las extracciones.

Para la fuente de variación “nutrición”, hubo diferencia significativa en la quinta extracción, como indica la figura 13

Para la interacción de las fuentes de variación “raza por nutrición”, se encontró diferencia significativa en extracción 1, como indica la figura 14.

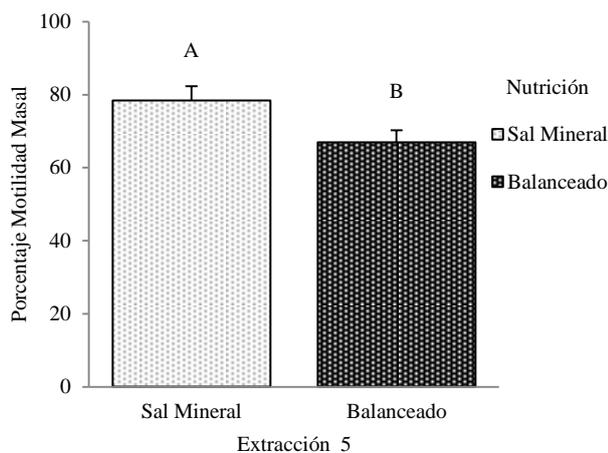


Figura 13. Diagrama de barras de la variable “motilidad masal” para el factor nutrición, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

Como se puede observar en la figura (13) la dieta con sal mineral presentó resultados estadísticamente diferentes ($p < 0,05$) que la dieta con alimento balanceado, siendo este el caso de 78,39% y 66,94 % respectivamente; en la quinta extracción presentó diferencias en el experimento, como se puede ver en los cuadros, 5,6,7 y 18. En los mencionados cuadros el promedio y los rangos de “motilidad masal” están entre 65 - 79 %. (Olivares, R., y Urdaneta, R.1985); (Acuña, C. *et al.*, 2001); (Mellizo, E. y Gallegos, A. 2006) y (Ruiz, S. *et al.*, 2007) señalan que una MM (motilidad masal) arriba del 60% se considera como buena.

El 90% de los sementales presentaron MM por arriba del 60%, considerando los promedios, esto puede observarse en el cuadro 6, 7, 12, los valores son similares a los publicados por (Ruiz, S. *et al.*, 2007)

Por otro lado (Jiménez, J. *et al.*, 1996) y (Vejarano, O. *et al.*, 2005) coinciden con estos resultados al reportar que no encontraron diferencias significativas para MM entre tipos raciales, así como lo indica el cuadro 18 en el presente experimento.

La MM es un estimado subjetivo de la motilidad basándose en el vigor de las ondas y, su actividad se cuantifica en grados de 0 a 5 o en porcentaje (Mellizo, E. y Gallegos, A. 2006) y (Ruiz, S. *et al.*, 2007) .A su vez sistemas tecnológicos como el Equipo CASA, nos permiten dar resultados estandarizados retirando la apreciación subjetiva y permitiendo evaluar con mayor exactitud variables microscópicas como el caso de motilidad masal, (Verstegen, J. y Onclin, K. 2002). Afirman que, el sistema CASA permite la evaluación objetiva de características como: movimiento, velocidad y morfología; sin embargo, el principal problema se relaciona con la estandarización y optimización de los equipos y procedimientos

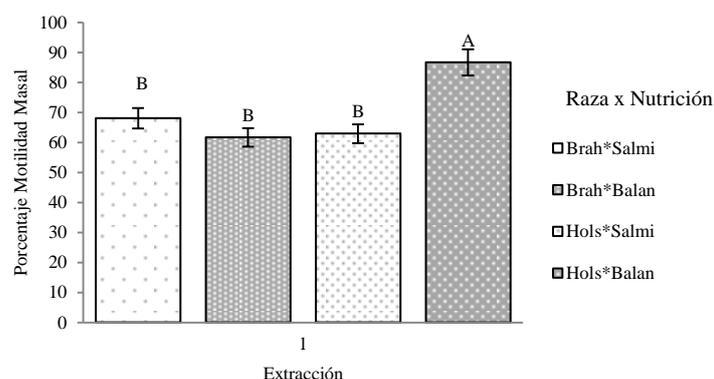


Figura 14. Diagrama de barras de la variable “motilidad masal” para la interacción de factores “raza por nutrición”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

El tratamiento para la raza holstein con dieta de alimento balanceado presentó en la primera extracción el mayor resultado 86,69 % en la variable de “motilidad masal”, en comparación del resto de tratamientos que estuvieron en un rango entre 60 % y 68 %. Como se puede ver en la cuadro 5,6 y 7.

(Galina, C., y Valencia, J. 2006), manifiestan que el semen puede tener una motilidad espermática por arriba del 50% luego de ser descongelado, pero si los espermatozoides presentan lesiones en la membrana plasmática, en el acrosoma, en

el núcleo o en otro compartimento celular, puede no ser completamente expresado inmediatamente después de la descongelación.

Cuadro 19. Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable motilidad progresiva

Fuente de Variación	Grados Libertad	Cuadrados Medios de Extracciones				
		1	2	3	4	5
Raza	1	0,89 ^{ns}	5,19 [*]	3,43 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,01 ^{ns}
Nutrición	1	3,4 [*]	0,34 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,03 ^{ns}	2,73 ^{ns}
Raza x Nutrición	1	5,56 ^{**}	2,76 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,7 ^{ns}
Error	12	0,61	1	0,74	0,39	0,61
C.V		10,19	13,95	10,3	7,65	9,84
Total	15					

No todas las extracciones presentaron una diferencia significativa para la variable de “Motilidad progresiva”

Para la fuente de variación “raza”, hubo diferencia significativa en la segunda extracción, como lo indica la figura 15

Para la fuente de variación “nutrición”, hubo diferencia significativa en la primera extracción, como indica la figura 16

Para la interacción de las fuentes de variación “raza por nutrición”, se encontró diferencia significativa en la primera extracción, como indica la figura 17.

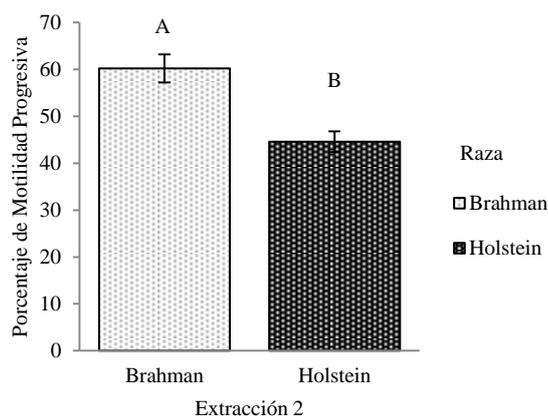


Figura 15. Diagrama de barras de la variable “motilidad progresiva” para el factor “raza”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

La evaluación de la motilidad progresiva (MP) en semen fresco es uno de los parámetros más importantes para la identificación de eyaculados con capacidad fecundante en donde se establece que valores $< 50\%$ de MP no son buenos por lo que no debería ser utilizado en programas de IA, ni ser destinados a ser crío preservados (Salisbury, J. *et al.*, 1978) Como se evidencia en la figura (15) la raza Brahman (60,20 %) presentó un mayor porcentaje de motilidad en relación a Holstein (44,57 %), esto puede verse en el cuadro 7, 9 . Sin embargo la media del experimento estuvo en 71 % considerando a todos los sujetos experimentales. Como se indica anteriormente, el equipo CASA permite arrojar resultados cuantificables y estandarizados en la medida de calificación de las variables de calidad espermática; la motilidad progresiva es de vital importancia en programas de crío preservación, no se aceptan valores inferiores a 50 %, lo cual concuerda con los resultados del experimento. A más de eso se consideran los diluyentes como principal acción para ello, según (Salisbury, J. *et al.*, 1978) la valoración exacta del porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva después de la congelación es de gran importancia ya que es un indicador de la acción crío protectora del diluyente.

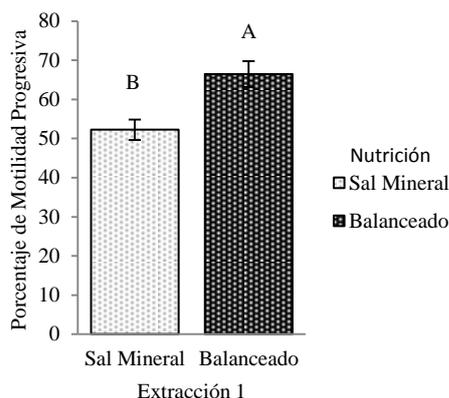


Figura 16. Diagrama de barras de la variable “motilidad progresiva” para el factor “nutrición”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

Como se evidencia en la figura (16) la dieta con alimento balanceado (66,47 %) presentó mejores resultados en cuanto a motilidad progresiva en comparación de Sal Mineral (52,26 %), en la primera extracción , siendo estos resultados estadísticamente diferentes; no se repitieron en el resto de extracciones , que a su vez concuerdan en ser de buena calidad porque coinciden en ser superior a 50 % como lo indica (Salisbury, J. *et al.*, 1978), la dieta con alimento balanceado a más del forraje , presuntamente podrían tener mejores resultados en ganancia de peso y desarrollo de circunferencia escrotal a más de otras características fisiológicas en las cuales las sales minerales no actuarían directamente. (Nolan, C. *et al.*, 1990) indica que en toros Brahman alimentados para ganar peso lentamente (32 kg durante 112 días), se observó que la motilidad progresiva se hizo más lenta en el esperma eyaculado; retrasó el desarrollo testicular , redujo el tamaño de las células de Leydig, túbulos seminíferos pequeños y reducción en la concentración de testosterona en el suero de sangre periférica y en el tejido testicular. Los testículos de animales afectados tuvieron pérdida de peso, disminuyeron su producción de espermatozoides por unidad de masa parenquimal (Dunn, T., y Mos, E. 1992)

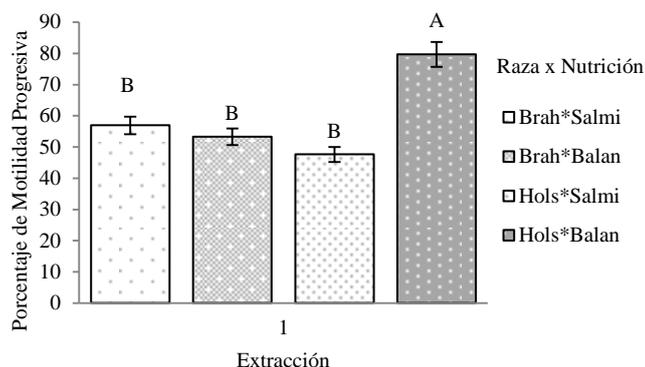


Figura 17. Diagrama de barras de la variable “motilidad progresiva” para la interacción de factores “raza por nutrición”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

El tratamiento de Holstein con dieta de alimento balanceado, presentó los mayores resultados en cuanto a motilidad progresiva con un 79,66 %, mientras que para la raza Brahman con ambos niveles nutricionales, balanceado y sal mineral, presentaron resultados superiores a 50 %, catalogándolos de buena calidad como se analizó en la figura 17. En el ensayo los toros Holstein con dieta de sal mineral, se obtuvo resultados de mala calidad e inferior de 47,61 %. La obesidad y la subalimentación reducen la libido y la actividad sexual en borregos, cerdos y toros particularmente en la temporada de verano (Hafez, 1993); esto sucedió en el experimento. Como se puede observar en el cuadro 4, aquí se caracterizan a los animales y, no registran obesidad en cuanto a condición corporal. La ausencia de energía y proteína probablemente ocasionó una baja en la motilidad progresiva en animales holstein, expuestos a dieta con sal mineral, dato que coincide con (Hafez, E. 1993) quien afirma que la deficiencia de proteína afecta tanto a los machos jóvenes como adultos. Lozano, H. 2009, manifiesta que la deficiencia reproductiva que pueden adquirir los animales *Bos taurus* en condiciones climáticas tropicales, es por cuestiones de adaptabilidad.

Toros jóvenes con dieta deficiente en proteína, presentaron baja libido y características del semen. Dietas altas en proteína no son óptimas para una

producción de esperma en el borrego, a pesar de la habilidad natural del macho para mantener la producción de esperma y secreción de testosterona dentro de los niveles bajos de nutrición, los machos jóvenes presentan retraso en el desarrollo sexual y retraso en la aparición de la pubertad (Hafez, E. 1993)

La “movilidad progresiva” es la prueba de calidad individual del semen más importante debido a que la fertilidad está altamente correlacionada con el número de espermatozoide móviles y en primer lugar con espermias con movimiento progresivo , movimiento hacia delante (Bearden, H., y Fuguay, J 1982),(Veznik, H., y Svecová, J. 1986). El porcentaje de la motilidad de un eyaculado puede variar de 0 a 80%, se espera que aproximadamente del 60% al 70% de los espermatozoides tengan movimiento progresivo (Gamcik, P. y Kozumplik, J. 1984), (Lasso, M. y Quintero, J. 1992).

Cuadro 20. Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable “velocidad curvilínea”

Fuente de Variación	Grados Libertad	Cuadrados Medios de Extracciones				
		1	2	3	4	5
Raza	1	2,06 *	5,66 *	0,17 ^{ns}	1,86 ^{ns}	0,03 ^{ns}
Nutrición	1	4,41 **	13,24 **	2,38 ^{ns}	0,07 ^{ns}	1,05 ^{ns}
Raza x Nutrición	1	0,11 ^{ns}	4,4 *	0,01 ^{ns}	0,0002 ^{ns}	0,02 ^{ns}
Error	12	0,27	0,71	0,99	0,61	0,59
C.V		4,87	7,7	8,71	6,92	6,83
Total	15					

No todas las extracciones presentaron diferencia significativa para la variable de “Velocidad curvilínea”

Para la fuente de variación “raza”, hubo diferencia significativa en la primera y segunda extracción, figura 18

Para la fuente de variación “nutrición”, hubo diferencia significativa en la primera y segunda extracción, figura 19

Para la interacción de las fuentes de variación “raza por nutrición”, se encontró diferencia significativa en la segunda extracción, figura 20.

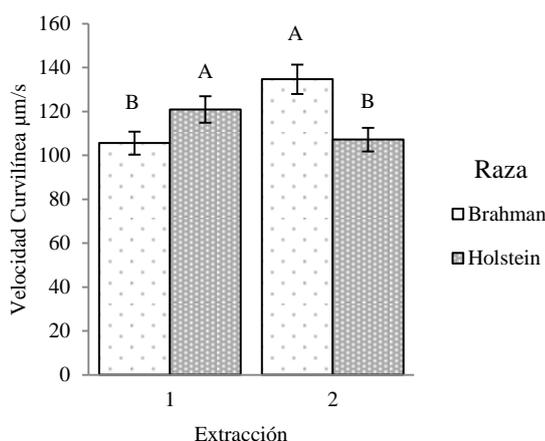


Figura 18. Diagrama de barras de la variable “velocidad curvilínea” para el factor “raza”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

Las velocidades del movimiento de las células espermáticas (VSL, VAP y VCL) son parámetros de motilidad que nos sirven como indicativos de la fertilidad del macho; (Catena, M. y Cabodevila, J. 1999) , La figura (18) evidencia para el caso de la primera extracción, la mayor velocidad curvilínea para la raza Holstein con (120,91 µm/s) y Brahman (105,58 µm/s) no se repite en la segunda extracción en la cual la raza Brahman presento mejor velocidad 134,65 µm/s y Holstein 107,22 µm/s.

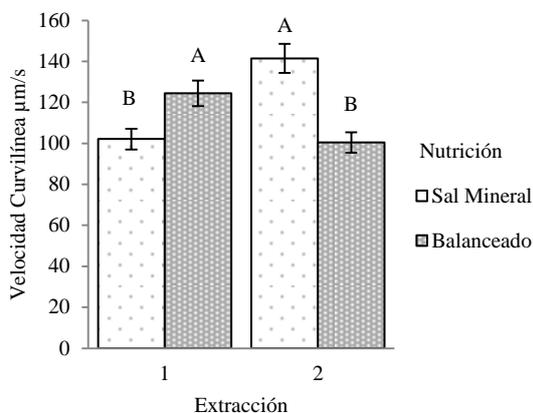


Figura 19. Diagrama de barras de la variable “velocidad curvilínea” para el factor “nutrición”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

Para la figura (19) evidencia la primera extracción, mayor velocidad curvilínea para la dieta con alimento balanceado (124,40 µm/s) y Brahman (102,08 µm/s) no se repite en la segunda extracción, en la cual, la dieta con sal mineral presentó mejor velocidad (141,46 µm/s) y Holstein (10,42 µm/s) lo que concuerda con las investigaciones de (Quintero, M.y Moreno, J. 2003) quienes detallan que las sub poblaciones de espermatozoides existentes con diferente velocidad.

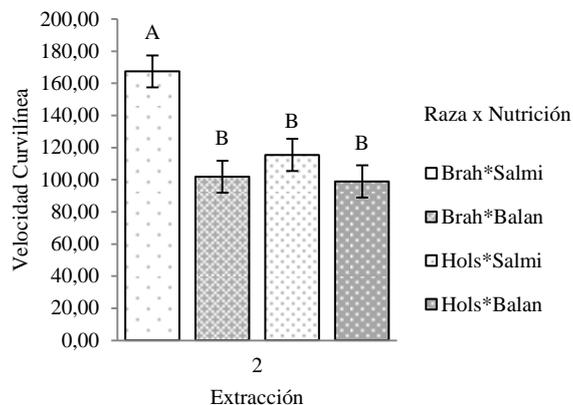


Figura 20. Diagrama de barras de la variable “velocidad curvilínea” para la interacción de factores “raza por nutrición”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

Los sementales Brahman con Sal mineral, tuvieron los mayores resultados en cuanto a velocidad curvilínea $167,45 \mu\text{m/s}$, superando al resto de tratamientos mismos que estuvieron en un rango de $100 - 120 \mu\text{m/s}$, según lo mencionado por (Vázquez, L. *et al.*, 1999), los espermatozoides con una elevada VSL tienen más posibilidades de contactar con el ovocito, mientras que los que presentan más VCL que VSL se asocian con unos bajos niveles de fertilización; en la investigación los valores de VCL son mayores que los de VSL.

Cuadro 21. Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable “velocidad promedio”.

Fuente de Variación	Grados Libertad	Cuadrados Medios de Extracciones				
		1	2	3	4	5
Raza	1	1,15 *	2,16 *	0,26 ^{ns}	0,00042 ^{ns}	0,05 ^{ns}
Nutrición	1	2,33 **	7,66 **	0,58 ^{ns}	0,0009 ^{ns}	0,07 ^{ns}
Raza x nutrición	1	0,24 ^{ns}	1,23 ^{ns}	0,0018 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,03 ^{ns}
Error	12	0,18	0,36	0,5	0,34	0,28
C.V		5,49	7,22	8,1	6,74	6,27
Total	15					

No todas las extracciones presentaron diferencia significativa para la variable de “velocidad promedio”

Para la fuente de variación “raza”, hubo diferencia significativa en la primera y segunda extracción, figura 21

Para la fuente de “variación nutrición”, hubo diferencia significativa en la primera y segunda extracción, figura 22

Para la interacción de fuentes de variación “raza por nutrición”, no hubo diferencia significativa

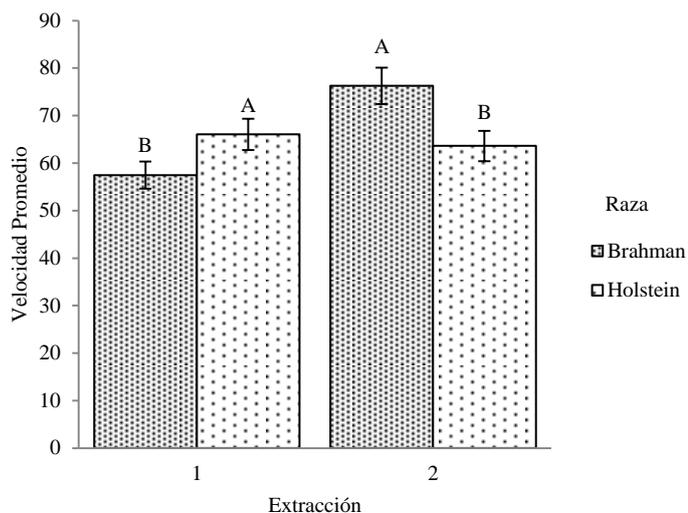


Figura 21. Diagrama de barras de la variable “velocidad promedio” para el factor “raza”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

Las velocidades del movimiento de las células espermáticas (VSL, VAP y VCL) son parámetros de motilidad que nos sirven como indicativos de la fertilidad del macho; (Catena, M. y Cabodevila, J. 1999), La figura evidencia para el caso de la primera extracción, la mayor velocidad promedio para la raza Holstein con (66,06 $\mu\text{m/s}$) y Brahman (57,47 $\mu\text{m/s}$) no se repitió en la segunda extracción en la cual la raza Brahman presentó mayor velocidad (76,26,65 $\mu\text{m/s}$) y Holstein (63,60 $\mu\text{m/s}$)

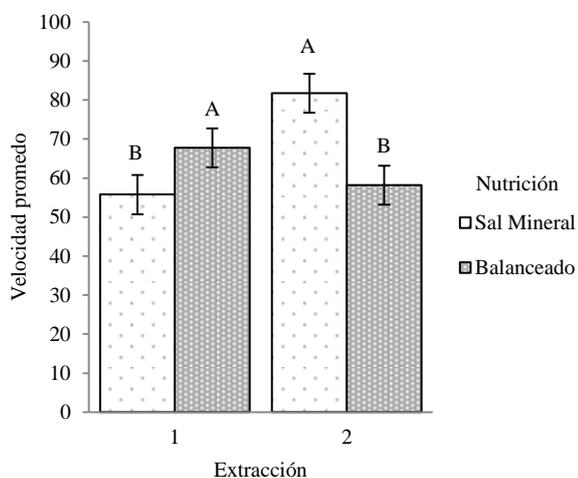


Figura 22. Diagrama de barras de la variable “velocidad promedio” para el factor “nutrición”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

La dieta con Sal mineral obtuvo los mayores resultados en cuanto a velocidad promedio siendo de 81,71 $\mu\text{m/s}$, superando al resto de tratamientos mismos que estuvieron en un rango de 50– 70 $\mu\text{m/s}$ para ambas extracciones.

Cuadro 22. Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable “velocidad rectilínea”.

Fuente de Variación	Grados Libertad	Cuadrados Medios de Extracciones				
		1	2	3	4	5
Raza	1	0,5 ^{ns}	4,25 ^{**}	0,3 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,0014 ^{ns}
Nutrición	1	2,04 [*]	7,21 ^{**}	0,22 ^{ns}	0,0031 ^{ns}	0,000014 ^{ns}
Raza x Nutrición	1	0,44 ^{ns}	1,65 [*]	0,08 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,0035 ^{ns}
Error	12	0,26	0,28	0,55	0,37	0,24
C.V		7,3	7,05	9,23	7,55	6,6
Total	15					

No todas las extracciones presentaron una diferencia significativa para la variable de “velocidad rectilínea”.

Para la fuente de variación “raza”, hubo diferencia significativa en la segunda extracción, como lo indica la figura 23.

Para la fuente de variación “nutrición”, hubo diferencia significativa en la primera y segunda extracción, como lo indica la figura 24.

Para la interacción de fuentes de variación “raza x nutrición”, hubo diferencia significativa en la segunda extracción tal cual lo indica la figura 25.

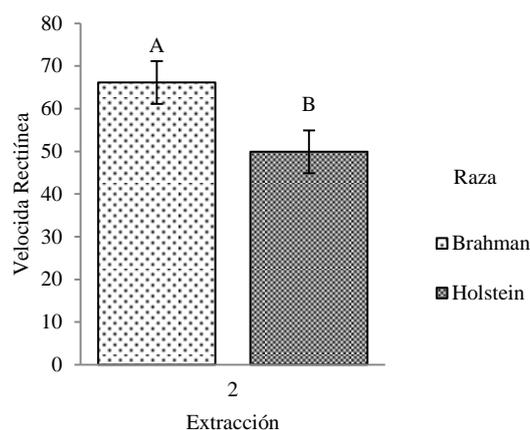


Figura 23. Diagrama de barras de la variable “velocidad rectilínea” para el factor “raza”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

La raza Brahman presentó un mayor resultado (66,13 $\mu\text{m/s}$), en cuanto a velocidad rectilínea, en comparación con Holstein 43,93 $\mu\text{m/s}$, cuadro 9. Esto solo fue en la segunda extracción, mientras que el resto de extracción no manifestó diferencia estadísticamente significativa para la variable en análisis.

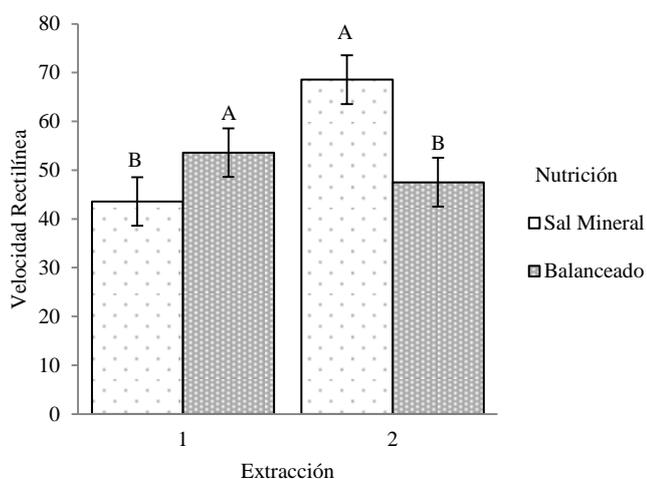


Figura 24. Diagrama de barras de la variable “velocidad rectilínea” para el factor “nutrición”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

La figura 24 evidencia para el caso de la primera extracción, la mayor velocidad rectilínea para la dieta con alimento balanceado de los holstein (53,58 $\mu\text{m/s}$) y Brahman (43,57 $\mu\text{m/s}$) no se repite en la segunda extracción en la cual la dieta con sal mineral presentó mejor velocidad en los brahman (68,64 $\mu\text{m/s}$) y Holstein (47,51 $\mu\text{m/s}$), habiendo concordancia con las investigaciones de (Quintero, M.y Moreno, J. 2003) en la cual detalla las sub poblaciones de espermatozoides existentes con diferente velocidad. El mejor resultado lo presento la dieta con sal mineral en la segunda extracción, cuadro 6,7, 9.

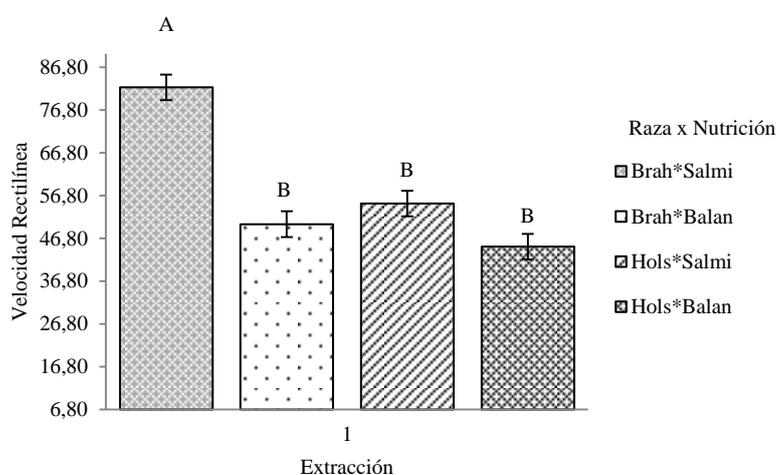


Figura 25. Diagrama de barras de la variable “velocidad rectilínea” para la interacción de factores “raza por nutrición”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

La figura 25 muestra el tratamiento de raza Brahman con dieta de sal mineral; presentó la velocidad rectilínea más alta (82,14 $\mu\text{m/s}$) en la primera extracción;

mientras que el resto de tratamientos se encontraron en el rango de (44 a 55 $\mu\text{m/s}$); Según lo mencionado por (Vázquez, L. *et al.*, 1999) los espermatozoides con una elevada VSL tienen más posibilidades de contactar con el ovocito, mientras que los que presentan más VCL que VSL se asocian con unos bajos niveles de fertilización, en la investigación los valores de VCL son mayores que los de VSL.

VARIABLES MICROSCOPICAS OBSERVADAS

Cuadro 23. Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la “variable vitalidad”.

Fuente de Variación	Grados Libertad	Cuadrados Medios de Extracciones				
		1	2	3	4	5
Raza	1	0,2 ^{ns}	6,45 ^{**}	0,73 ^{ns}	2,54 ^{**}	1,07 ^{**}
Nutrición	1	0,71 ^{ns}	3,32 [*]	0,0016 ^{ns}	0,96 [*]	0,15 ^{ns}
Raza x Nutrición	1	0,02 ^{ns}	1,64 ^{ns}	0,00034 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,05 ^{ns}
Error	12	0,22	0,39	0,27	0,19	0,11
C.V		5,91	8,05	6,84	4,84	4,17
Total	15					

No todas las extracciones presentaron una diferencia significativa para la variable de “vitalidad”.

Para la fuente de variación “raza”, hubo diferencia significativa en la segunda, tercera y quinta extracción, figura 26.

Para la fuente de variación “nutrición”, hubo diferencia significativa en la primera y cuarta extracción, figura 27.

Para la interacción de fuentes de variación “raza x nutrición”, no hubo diferencia significativa.

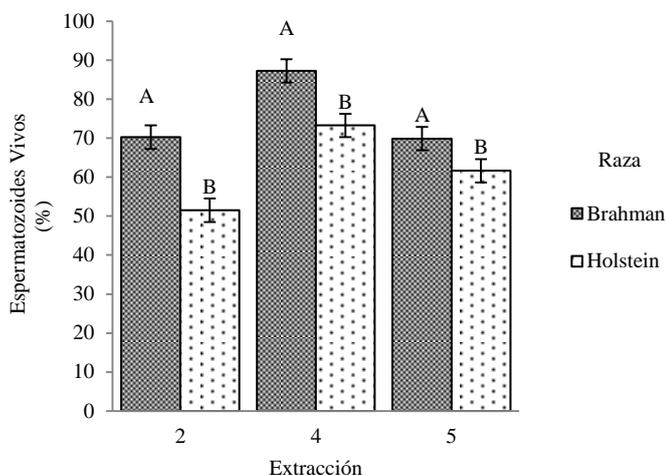


Figura 26. Diagrama de barras de la variable “vitalidad” para el factor “raza”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

La raza Brahman predominó con mayor vitalidad durante las tres primeras extracciones que presentaron diferencia significativa siendo su promedio de 70 %, en a la cuarta extracción hubo mayor vitalidad siendo esta de 87,25 %. La toros Holstein se mantuvieron en un intervalo de vitalidad entre el 50 – 73 %, como se observan los cuadros 6, 7, 9, 11, 12, habiendo relación con los investigadores Holy, L. 1975; Bearden, H. y Fuguay, J. 1982 ; Lasso, M., y Quintero, J. 1992 mismos que indican que la proporción de células vivas del eyaculado se aprecia de modo diferente según los investigadores, pero en general se considera viable el semen que posea el 70% o más de formas vivas .

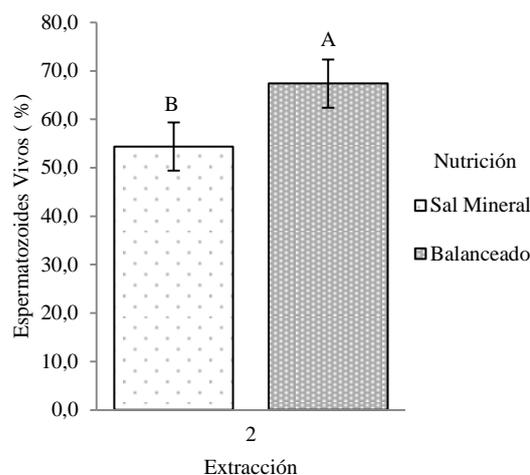


Figura 27. Diagrama de barras de la variable “vitalidad” para el factor “nutrición”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

La dieta que estuvo influenciada por “alimento balanceado” presentó los valores más altos durante la segunda extracción, misma que fue de 67,4 % en comparación con Sal mineral que presentó un porcentaje de espermatozoides vivos igual a 54,4 %. Valores de rango aceptable según (Lasso, M., y Quintero, J. 1992).

Cuadro 24. Cuadrados medios de extracciones para las fuentes de variación del experimento obtenidas del Análisis de Varianza considerando la variable “Morfología-Normalidad”.

Fuente de Variación	Grados Libertad	Cuadrados Medios de Extracciones				
		1	2	3	4	5
Raza	1	0,19 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,0016 ^{ns}
Nutrición	1	0,26 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,82 [*]	0,12 ^{ns}
Raza x Nutrición	1	0,6 [*]	2,17 ^{**}	1,8 ^{**}	0,19 ^{ns}	0,51 ^{ns}
Error	12	0,08	0,23	0,12	0,12	0,12
C.V		3,25	5,73	4,09	3,84	394
Total	15					

No todas las extracciones presentaron una diferencia significativa para la variable de “Morfología – Normalidad”.

Para la fuente de variación “raza”, no hubo diferencia significativa.

Para la fuente de variación “nutrición”, hubo diferencia significativa en la cuarta extracción, figura 28.

Para la interacción de fuentes de variación “raza x nutrición”, hubo diferencia significativa en la primera, segunda y tercera extracción, figura 29.

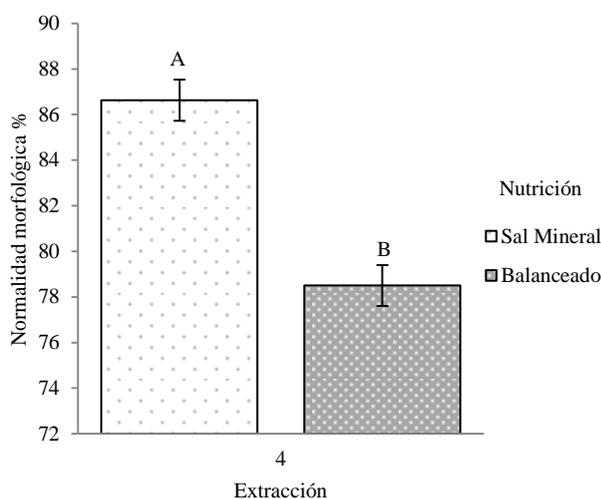


Figura 28. Diagrama de barras de la variable “morfología normal” para el factor “nutrición”, de las extracciones con diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

Los eyaculados de los sementales contienen algunos espermatozoides anormales que no pueden relacionarse con índices de baja fertilidad hasta que el porcentaje de espermatozoides anormales sobrepase el 25%; y un porcentaje de gota protoplasmática superior al 3% (Holy, L. 1975); (Bearden, H. y Fuguay, J. 1982);(Lasso, M., y Quintero, J. 1992) esto no sucedió en el experimento en donde el grupo de sujetos experimentales sometidos a la dieta con sal mineral, manifestaron un mayor porcentaje de normalidad morfológica durante la cuarta extracción, misma

que fue de 86,62 %, al contrario de la dieta con alimento balanceado que presento 78,5 % . Como se puede observar en la figura 6,7 ,11.

En el bovino, el mínimo porcentaje aceptado de espermatozoides normales es 70% (Saacke, R. *et al.*, 1994), o lo que es igual, no mayor de 30% de atipias totales en semen que debe ser sometido a crio preservación, debido a que gran número de espermatozoides, luego del proceso de congelación presentan daño celular. Misma situación ocurrió en el experimento en donde en promedio las muestras seminales presentaron anomalías en un 30 % o menos en algunos casos. Por ende cuando las muestras seminales presentan mayor anomalía, como el caso de Holstein con sal mineral en la cuarta extracción, misma que se puede observar en el cuadro 11. Cuando la anomalía de 38 % ya puede generar problemas si la muestra, se considerada para crio preservación; resultados similares encontró (Stornelli, A., y de la Sota, R. 2005) cuando los espermatozoides son congelados y descongelados se ven sometidos a varios ciclos de deshidratación e hidratación lo que resulta en cambios significativos en la morfología. Además de la formación de cristales a nivel intracelular que pueden producir alteración del citoplasma, ocasionando muerte celular (Countri, A. *et al.*, 2009).

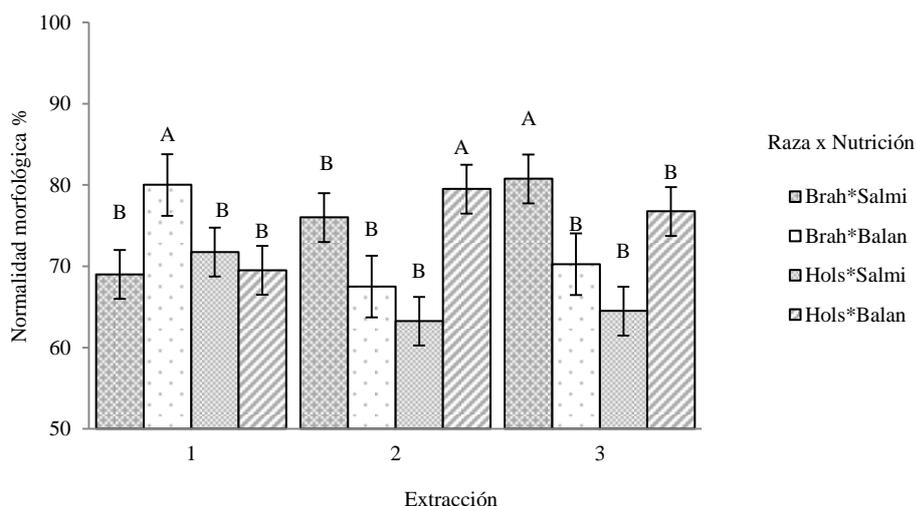


Figura 29. Diagrama de barras de la variable “morfología normal” para la interacción de factores raza por nutrición, de las extracciones con

diferencia significativa de los cuadrados medios del análisis de varianza realizado en el experimento.

La raza Brahman presentó la mayor normalidad espermática durante las extracciones 1,2 y 3 siendo los tratamientos Brahman con balanceado 80 %, Holstein con balanceado 79,5 % Brahman con Sal mineral 80,75 % respectivamente los cuales manifestaron los valores más altos , cuyo promedio de normalidad morfológica de 75,82 % . Por tanto deja un rango de anormalidad menor igual al 30 %, coincidiendo con (Holy, L. 1975), las que indican que morfológicamente las muestras seminales de los sujetos experimentales presentan resultados de buena calidad. Esto puede verse en las figuras 6, 7, 8, 9 ,10.En el semen se han identificado dos grupos de anormalidades: las primarias y las secundarias (Filho, A. 1978), mismas que estuvieron presentes en los análisis de morfología del experimento tal cual indica el anexo 2. . Las anormalidades primarias son alteraciones que sufren los espermias durante el proceso de espermatogénesis; las anormalidades primarias incluyen: cabezas dobles, microcefalia, cabezas asimétricas, cabezas ovoides, cabezas piriformes, cabezas estrechas, cabezas degeneradas, , granulaciones difusas, , posición abacial del cuello, rotura del cuello y punto de unión corto, gota protoplasmática, cola en espiral, cola enrollada, cola en forma de cono, rotura de la cola en la parte principal y colas torcidas, mismas que se observaron en los análisis morfológicos de las muestras seminales , esto puede verse en el anexo 2 , siendo los porcentajes para cada anormalidad bajos , y estando en el rango permitido de anormalidades espermáticas para considerar una buena calidad de semen .Las anormalidades secundarias son alteraciones que sufren los espermatozoides después de formados y ocurren a través de los tubo seminíferos y testículos (Sorensen, A. 1979). Por otra parte (Olivares, R. y Urdaneta, R. 1985) mencionan que las anormalidades no deben ser mayores al 14%. Situación que no ocurre en el experimento puesto que las anormalidades están en un rango menor o igual al 30 %, esto puede observarse en los adjuntos del anexo 2, pero que a su vez concuerda con (Ruiz, S. *et al.*, 2007) quien afirma que el semen contiene cierta proporción de espermatozoides morfológicamente anormales, sin embargo, cuando se pasa del 15% de espermatozoides anormales, esto influye en forma negativa sobre la fertilidad.

ANALISIS DE VARIANZA DE TODAS LAS EXTRACCIONES EN EL EXPERIMENTO

Cuadro 25. Cuadrados medios de variables para las fuentes de variación del experimento obtenidas del análisis de varianza de los resultados de todas extracciones.

Fuente Variación	Grados Libertad	Cuadrados Medios de Variables de todas las extracciones										
		pH	T°C	Volumen(ml)	Concentx106/ml	MM(%)	MP(%)	VCL	VAP	VSL	Vivos%	Normalidad
Raza	1	0,000037	1,08*	0,34*	36,61*	0,01	0,23	0,02	0,06	0,22	1,66**	0,07
Nutrición	1	0,000027	1,31*	0,02	15,94	0,07	0,02	0,8	0,21	0,16	0,38	0,0026
Raza x Nutrición	1	0,000011	1,34*	0,02	10,25	0,31	0,68	0,3	0,21	0,15	0,07	0,39*
Error	12											
C.V		0,26	8,04	7,75	8,83	5,46	7,73	5,3	5,19	5,64	4,16	2,9
Total	15											

El cuadro 25 resume los cuadrados medios del Análisis de varianza, de variables consideradas en el experimento, en donde se notó la diferencia significativa en variables como “temperatura” como se puede ver en la figura 30, 31, 32; “volumen” figura 33, “concentración” figura 34, “vitalidad” figura 35 y “normalidad” figura 37, todos los valores pueden corroborarse en el cuadro 13. , entre ellas la variable altamente significativa corresponde a “vitalidad” siendo “Raza” la fuente de variación que presentó dicha diferencia , se pudo observar que al analizar las cinco extracciones realizadas entre sí , la “raza” es la fuente de variación que presenta mayor cantidad de diferencias significativas en sus diferentes variables en el experimento , no es el caso de “Nutrición” quien también presento diferencia significativa en la variable “Temperatura”, ni “Raza por Nutrición” que presento diferencia significativa en la variable “temperatura” y “Normalidad”, el coeficiente de variación más alto lo presentó la variable “concentración” . Las variables más importantes para determinar la calidad espermática en una especie animal son “volume, concentración, motilidad masal , vitalidad , morfología”, mismas que nos permiten estimar un grado óptimo de calidad seminal y evaluar cualitativamente y cuantitativamente el estado funcional de las células espermáticas a su vez su

funcionalidad en el sistema reproductivo del toro , tal como mencionan en sus investigaciones Randel, D. 1993, Berdugo, J. 1994, Jiménez, J. *et al.* , 1996, y Vejarano, O. *et al.*, 2005 sin restar importancia al resto de variables , pero siendo estas , las que nos permiten dar una apreciación del estado sanitario o condiciones externas a las que pudo haber estado afectado al reproductor que influyeron sobre dichas variables , específicamente sobre las variables macroscópicas.

Durante la investigación, la variable “color”, perteneciente al grupo de variables macroscópicas, presenta un promedio cualitativo “lechoso”, lo cual nos indica el buen estado del semen durante la mayoría de las extracciones y sujetos experimentales, esto se observa en los cuadros 6 y anexo 3, a su vez corroborar con (Ruiz, D. *et al.*, 2007) quien reporta que el 96% de los toros evaluados en una investigación presentó este aspecto, a más de ello el aspecto del eyaculado depende de la concentración de espermatozoides y se mide por el mayor o menor grado de opacidad que presenta la muestra de semen (Olivares, R., y Urdaneta, R. 1985). Al respecto, (Gómez, M., y Migliorisi, A. 2007) mencionan que la densidad del semen varía desde un semen acuoso, lechoso, lechoso-cremoso, hasta un cremoso, como se puede evidenciar en el cuadro 6, estando directamente relacionada con la concentración. (Gómez, M., y Migliorisi, A. 2007) mencionan que los colores normales son los que van del blanco al amarillento, siendo patológicos el color rosado, amarronado y verdoso, esto ocurrió con un sujeto experimental que presentó semen de color amarillo amarronado, mismo que estuvo en tratamiento sanitario y con el cual se repitió extracción seminal.

Tomando el criterio al momento de analizar una muestra espermática para su calidad, y siendo consideradas las variables más importantes como “volumen, concentración, motilidad masal , vitalidad , morfología” , según (Berdugo, J. 1994), al comparar todas las extracciones que se realizaron en el experimento se encontró que no existe diferencia significativa en la mayoría de las variables que nos proporcionan criterio para afirmar que una muestra seminal es de mejor calidad que otra , con excepción de la variable “Normalidad” , como lo indica la figuras 36, en la que si hay diferencia significativa a la respuesta de una dieta nutricional en una raza específica, por tanto el experimento demostró que no existe una respuesta en calidad espermática

estadísticamente diferente entre los diferentes tratamientos propuestos en el diseño experimental para toros de raza *Bos taurus* y *Bos indicus*, expuestos a factores nutricionales con alimento balanceado y sal mineral, aparte de su consumo normal de forraje y agua. Estos resultados coinciden por (Cardozo, J. 2000), quien no encontró diferencias estadísticas de la concentración espermática entre toros *Bos taurus* y *Bos indicus*, así como también por (Randel, D. 1993), (Berdugo, J. 1994), (Jiménez, J. *et al.*, 1996), y (Vejarano, O. *et al.*, 2005) quienes tampoco encontraron diferencias en estas variables, al examinar toros de diferentes razas *taurus* e *indicus*.

Los tratamientos generados de la interacción de fuentes de variación “Raza” y “Nutrición” , fueron quienes permitieron realizar en análisis de la influencia nutricional en las características seminales macro y microscópicas en toros de raza *Bos taurus* y *Bos indicus* , al presentar dichos tratamientos , características significativamente diferentes , se aceptaría la hipótesis en definir si una dieta influye positivamente sobre una raza bovina; este no es el caso en el experimento; rechazando la hipótesis , y encontrando que no existe diferencia significativa en calidad espermática en toros de raza *Bos taurus* y *Bos indicus* , expuestos a dietas de alimento balanceado y sal mineral . Obteniendo resultados similares en cuanto a las características seminales macro y microscópicas, considerando animales de similares características genéticas y fisiológicas, a más de estar adaptados por un tiempo mayor a 8 meses, a las mismas condiciones ambientales. A su vez, sí existió diferencia al no haber expuesto a dicho grupo de sujetos experimentales a ninguno de los tratamientos mencionados; probablemente la dieta con alimento balanceado al 14 % proteico, y el aporte de sales minerales, se comporte con el mismo nivel de influencia positiva a mejorar las características seminales del mismo grupo de sujetos experimentales, sin haber estado expuestos a ninguno de las fuentes de variación antes mencionadas. Tal cual se puede observar en las figuras 37 – 46.

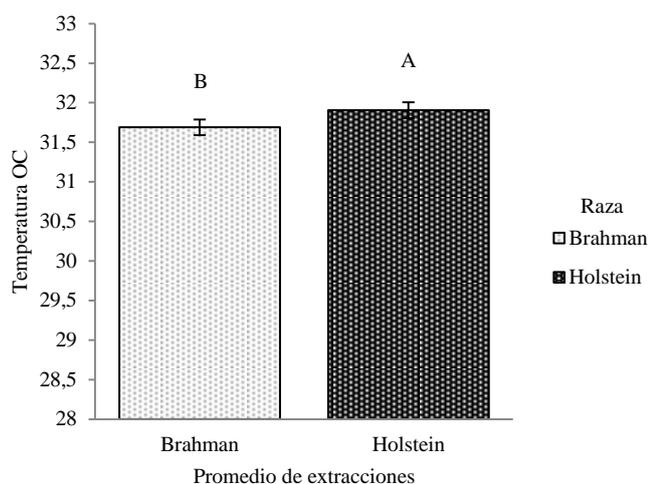


Figura 30. Diagrama de barras de la variable “temperatura” para el factor “raza”, del análisis de varianza de todas las extracciones realizadas en el experimento.

La raza Holstein registró tener mayor temperatura seminal durante el experimento siendo este valor de 31,9 °C, lo cual difiere con Brahman que mantuvo temperaturas de 31,6 °C. Mismas que son estadísticamente diferentes para ($p < 0,05$).

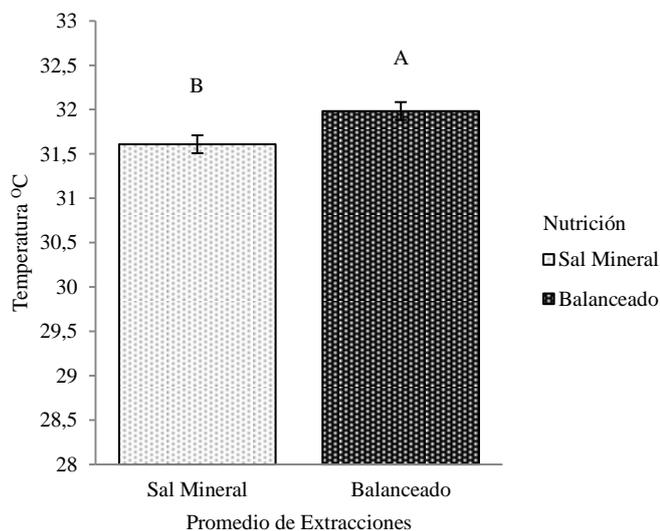


Figura 31. Diagrama de barras de la variable “temperatura” para el factor “nutrición”, del análisis de varianza de todas las extracciones realizadas en el experimento.

En la dieta nutricional con alimento balanceado se evidenció una mayor temperatura en las muestras seminales, teniendo como resultado para balanceado (31,9 °C) y Sal mineral (31,61 °C) cuadro 13.

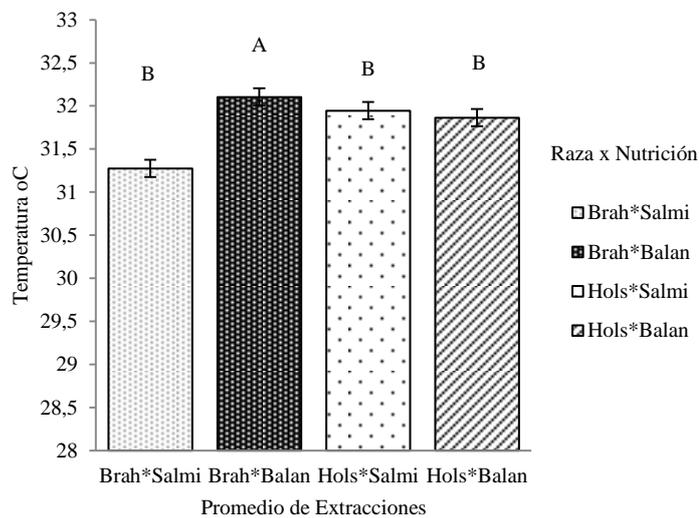


Figura 32. Diagrama de barras de la variable “temperatura” para la interacción de factores “raza por nutrición”, del análisis de varianza de todas las extracciones realizadas en el experimento.

EL Tratamiento Brahman con balanceado evidenció la mayor temperatura en relación al resto de tratamientos de 32 °C , siendo la raza Brahman con sal mineral la que registro menor temperatura de la muestra seminal (31,27 °C).

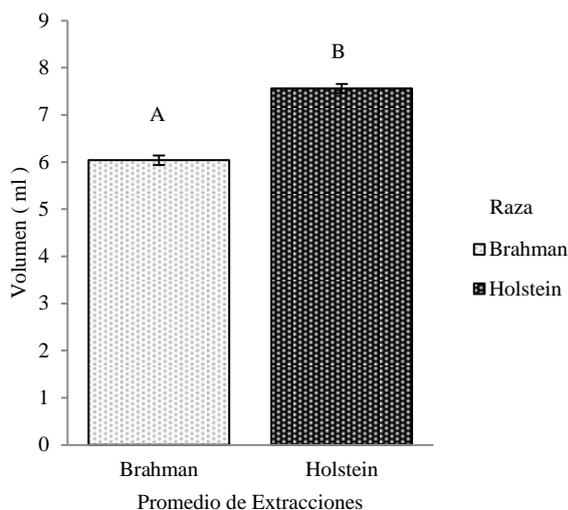


Figura 33. Diagrama de barras de la variable “volumen” para el factor “raza”, del análisis de varianza de todas las extracciones realizadas en el experimento.

La raza holstein presentó el mayor volumen en las muestras seminales analizadas en el experimento, teniendo una diferencia significativa 7,56 ml; al contrario de Brahman que manifiesta un volumen seminal de 6,04 ml , valores que coinciden con las investigaciones de Lozano, H. 2009 en las que especifica que la raza holstein presenta mayor volumen seminal , si no está expuesta a factores medioambientales que generen estrés oxidativo y por ende afecten a la calidad de la muestra , a más de especificar que las razas *Bos taurus* tienen mayores características en cuanto a calidad espermática que toros de raza *Bos indicus* sin estar expuestos a ningún tratamiento que influya positivamente en dichas variables espermáticas.

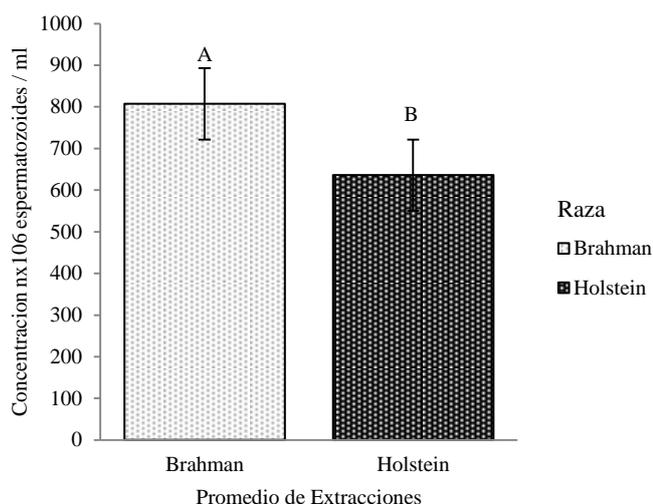


Figura 34. Diagrama de barras de la variable “concentración” para el factor “raza”, del análisis de varianza de todas las extracciones realizadas en el experimento.

La raza Brahman presentó mayor concentración espermática $807,32 \times 10^6$ espermatozoides/ml, que la raza Holstein $636,3 \times 10^6$ espermatozoides/ml, como se puede evidenciar en el cuadro 13, encontrándose dentro del rango de buena concentración espermática (Krause, L., y Dittmar, A. 1962.) , siendo contradictorio (Chenoweth, P. 1981), (Randel, D. 1993), (Berdugo, J. 1994), (Jiménez, J. *et al.*, 1996), y (Vejarano, O. *et al.*, 2005) que mencionan la superioridad de la concentración espermática en sementales *B. taurus* sobre la de *B. indicus* .

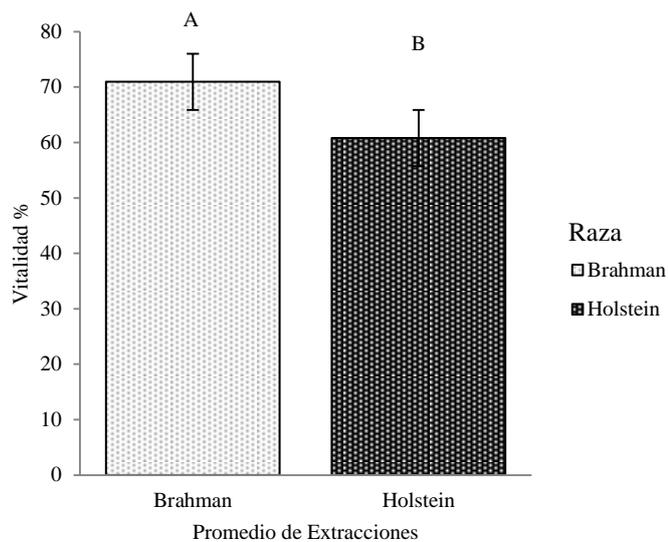


Figura 35. Diagrama de barras de la variable “vitalidad” para el factor “raza”, del análisis de varianza de todas las extracciones realizadas en el experimento

La Raza Brahman presentó mayor porcentaje de células espermáticas vivas que la raza holstein , teniendo los porcentajes correspondientes a 70,95 % y 60,8 respectivamente, encontrándose dentro del rango óptimo según investigaciones de (Holy, L. 1975),(Bearden, H., y Fuguay, J. 1982); (Lasso, M. y Quintero, J. 1992)

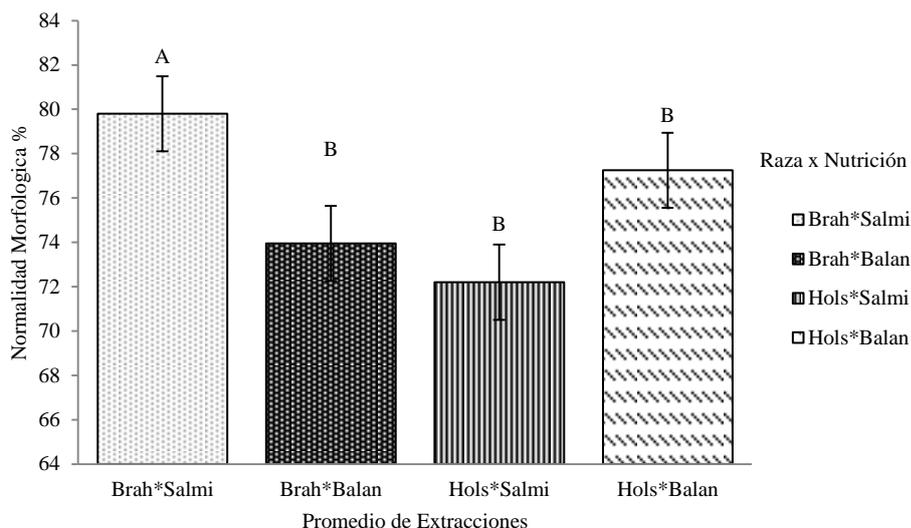


Figura 36. Diagrama de barras de la variable “normalidad morfológica” para la interacción de factores “raza por nutrición”, del análisis de varianza de todas las extracciones realizadas en el experimento.

Los tratamientos con mayor porcentaje de normalidad espermática corresponden a los toros Brahman con sal mineral (79,8 %) y Holstein con Balanceado (77,25 %) , mientras que el resto de tratamientos mantuvo un porcentaje de normalidad morfológica entre 72 y 74 % , siendo esto un rango de buena calidad para muestras según estudios de Holy, L. 1975.

**GRAFICOS COMPARATIVOS EN VARIABLES DE CALIDAD
ESPERMATICA ANTES Y DESPUES DE APLICAR LOS TRATAMIENTOS
DURANTE EL EXPERIMENTO**

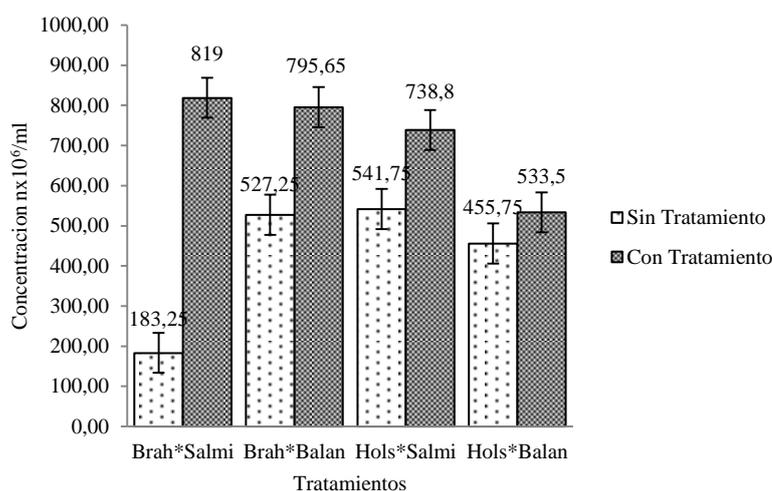


Figura 37. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable “concentración”.

Como se evidencia en la figura 37, cada uno de los sujetos experimentales fue sometido a diferentes tratamientos, los mismos animales fueron analizados antes de que se haya aplicado dichos tratamientos experimentales, con la finalidad de hacer una comparación, entre la respuesta del animal antes de ser sometido a una fuente de variación y luego de haber sido sometido a dicha fuente, obteniendo resultados de gran diferencia entre haber aplicado los diferentes tratamientos, como se puede observar en la figura 37, Brahman con sal mineral supera al resto de tratamientos al ser adicionado dicho factor nutricional, dato contrario al inicio del experimento cuando obtuvo los valores más bajos, en comparación del resto de animales. Es evidente la evolución en cuanto a concentración espermática que obtuvieron los animales antes y después de haber sido aplicados los tratamientos correspondientes tal como se puede evidenciar en la figura 51.

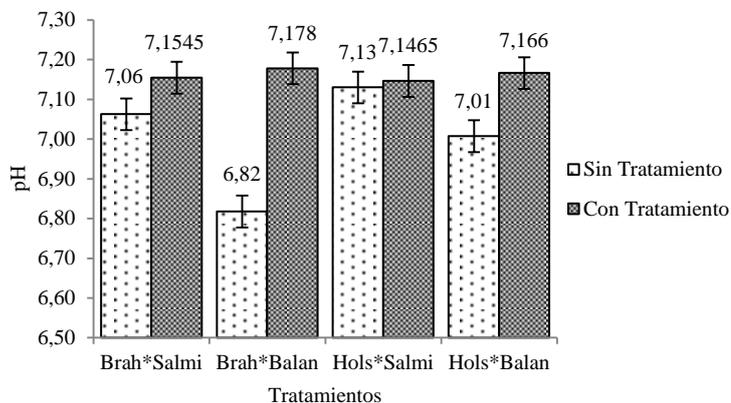


Figura 38. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable “pH”.

El cuadro muestra los rangos de pH presentes en el experimento para los diferentes tratamientos antes y después de haber sido aplicados al grupo de sujetos experimentales correspondientes al diseño experimental. Se puede observar que se mantienen los rangos entre 6,8 y 7,2 considerando valores neutros según los autores antes descritos y concuerda en el tiempo con el resto de extracciones, como se puede evidenciar en la figura 48.

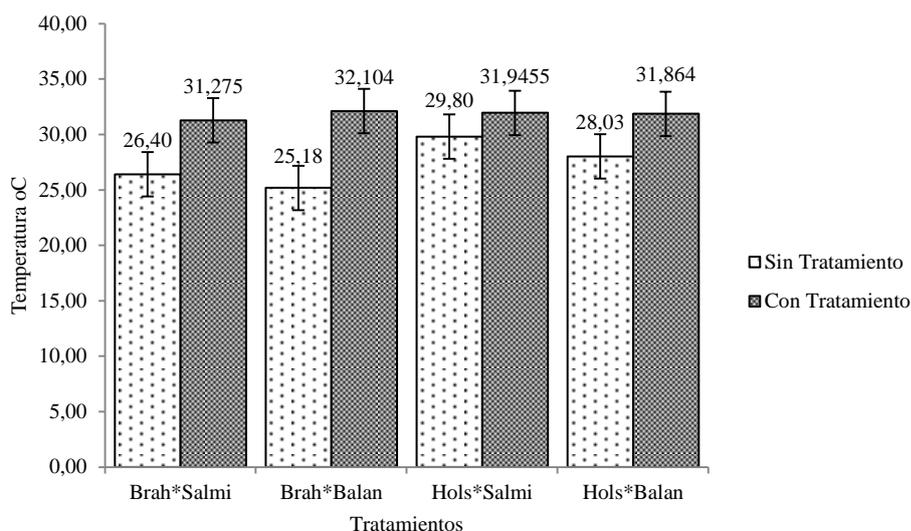


Figura 39. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable “temperatura”.

Se evidencia menores temperaturas en los sujetos experimentales antes de ser expuestos a tratamientos, probablemente el estrés y las circunstancias ambientales como externas generen un aumento en el metabolismo de los animales lo cual genere una mayor temperatura corporal, que está dentro del rango, según los autores antes descritos. Puede verse en la figura 49.

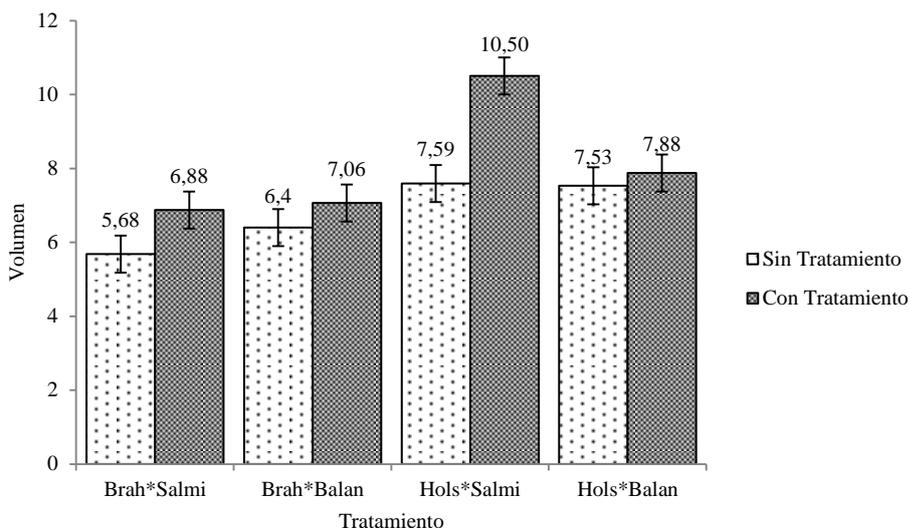


Figura 40. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable “volumen”.

Como puede verse en la figura 40, existe una diferencia al momento de aplicar un tratamiento al grupo de sementales, considerando la variable volumen, siendo holstein con sal mineral la que sobresale antes y después de haber sido aplicado el tratamiento; Brahman con sal mineral presentó los menores resultados antes y después de haber sido aplicado el tratamiento; esto corrobora con la variable “concentración” de Brahman con sal mineral en la que predomina sobre el resto de tratamientos.

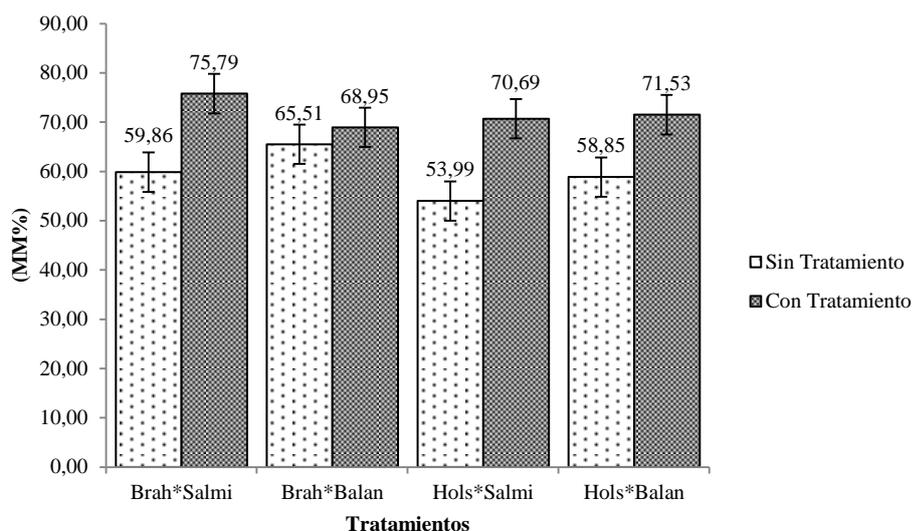


Figura 41. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable “motilidad masal” (mm).

Como se puede observar, la motilidad masal si hubo diferencio antes y después de haber sido aplicado los tratamientos a diferente grupo de animales siendo Brahman con sal mineral quien presentó los mayores promedios, después de haber sido aplicado el tratamiento y Brahman con balanceado quien presentó los mayores resultados antes de haber sido aplicado el tratamiento respectivo, figura 52.

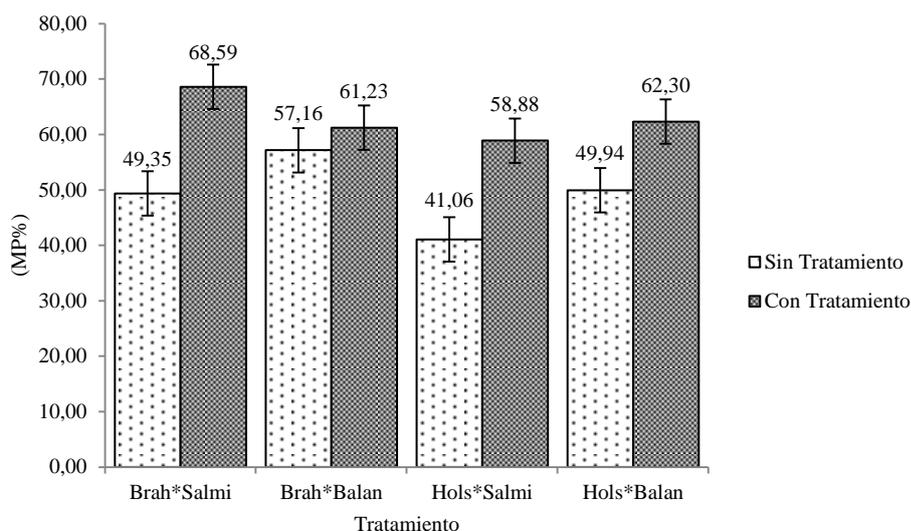


Figura 42. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable “motilidad progresiva” (mp).

Se evidencia la diferencia en la variable de “motilidad progresiva” antes y después de haber sido aplicados los tratamientos para el grupo de sujetos experimentales, esto puede verse en la figura 52, a su vez es notoria la evolución de esta variable en el tiempo. El tratamiento con mayor resultado es Brahman con sal mineral, por el contrario, el menor incremento lo registra el tratamiento Brahman con balanceado.

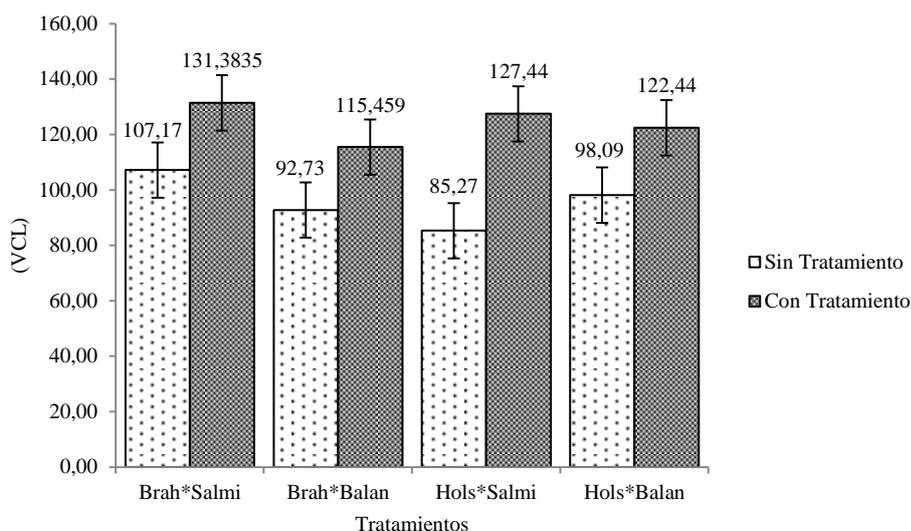


Figura 43. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable “velocidad curvilínea” (VCL).

Se evidencia la diferencia en la variable de velocidad curvilínea antes y después de haber sido aplicados los tratamientos para el grupo de sujetos experimentales, esto puede verse en la figura 53, a su vez es notoria la evolución de esta variable en el tiempo. El tratamiento con mayor resultado es Brahman con sal mineral, por el contrario el menor incremento lo registra el tratamiento Brahman con balanceado.

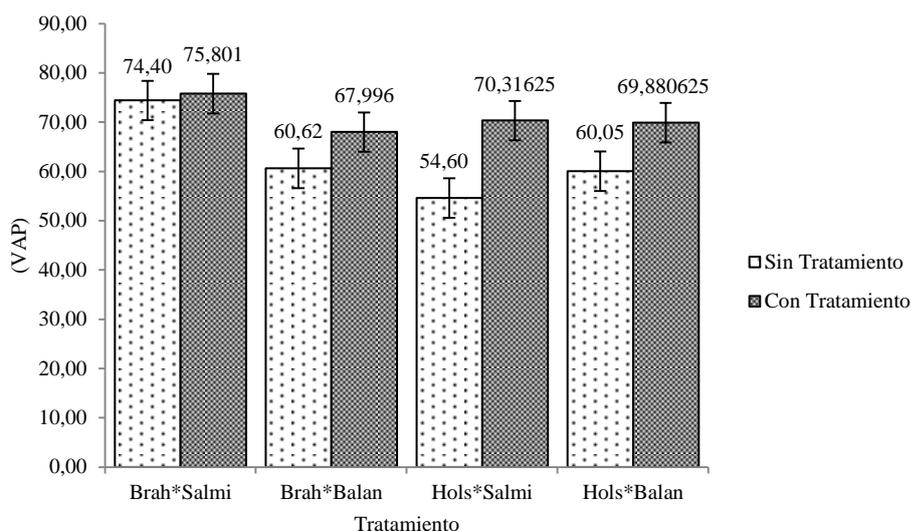


Figura 44. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable “velocidad promedio” (VAP).

Se evidencia la diferencia en la variable de “velocidad promedio” antes y después de haber sido aplicados los tratamientos para el grupo de sujetos experimentales, figura 54, a su vez es notoria la evolución de esta variable en el tiempo. El tratamiento con mayor resultado es Brahman con sal mineral; por el contrario el menor incremento lo registra el mismo tratamiento Brahman con sal mineral, el tratamiento que registra mayor crecimiento es Holstein con Sal mineral.

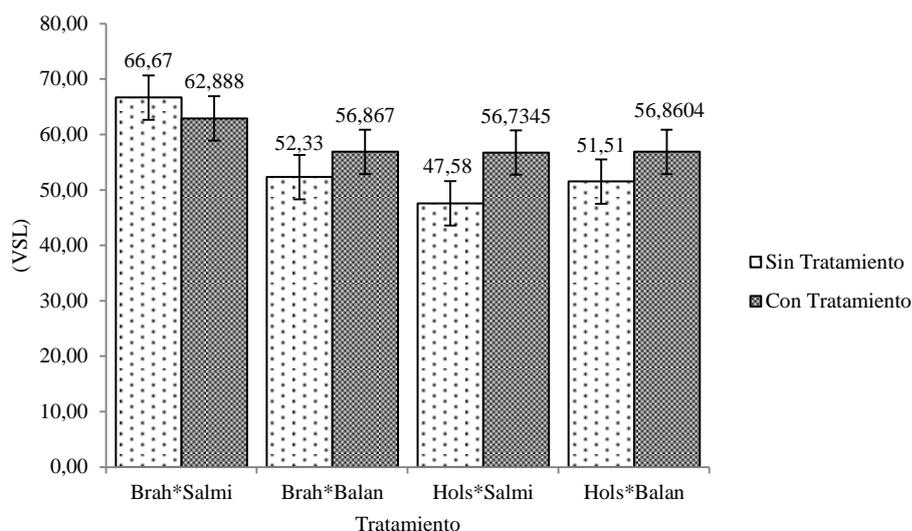


Figura 45. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable “velocidad rectilínea” (VSL).

Se evidencia la diferencia en la variable de “velocidad rectilínea” antes y después de haber sido aplicados los tratamientos para el grupo de sujetos experimentales, esto puede verse en la figura 56, a su vez es notoria la evolución de esta variable en el tiempo. El tratamiento con mayor resultado es Brahman con sal mineral, por el contrario el menor incremento lo registra el mismo tratamiento Brahman con sal mineral, el tratamiento que registra mayor crecimiento es Holstein con Sal mineral.

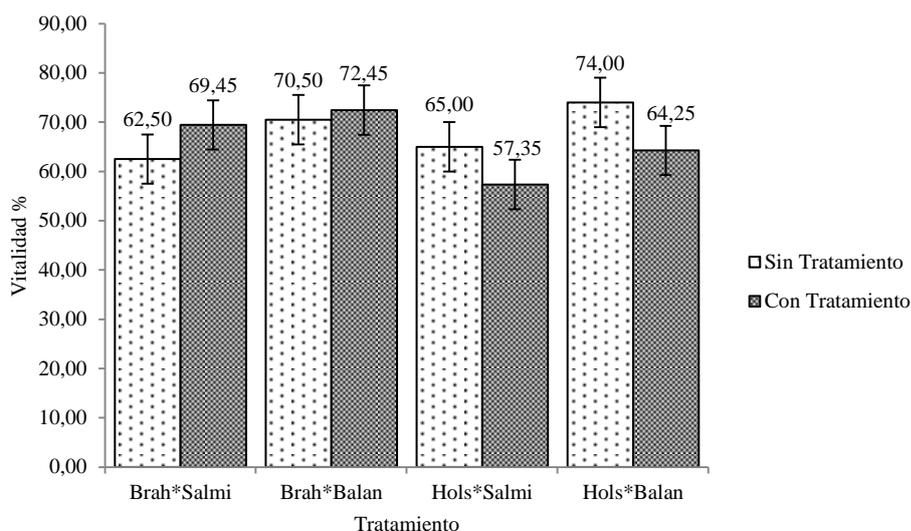


Figura 46. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la “variable vitalidad”.

Se evidencia la diferencia en la “variable vitalidad” antes y después de haber sido aplicados los tratamientos para el grupo de sujetos experimentales, esto puede verse en la figura 56, a su vez es notoria la evolución de esta variable en el tiempo. El tratamiento con mayor resultado es Brahman con balanceado, por el contrario una decrecimiento para dicha variable lo registra holstein con sal mineral y holstein con balanceado.

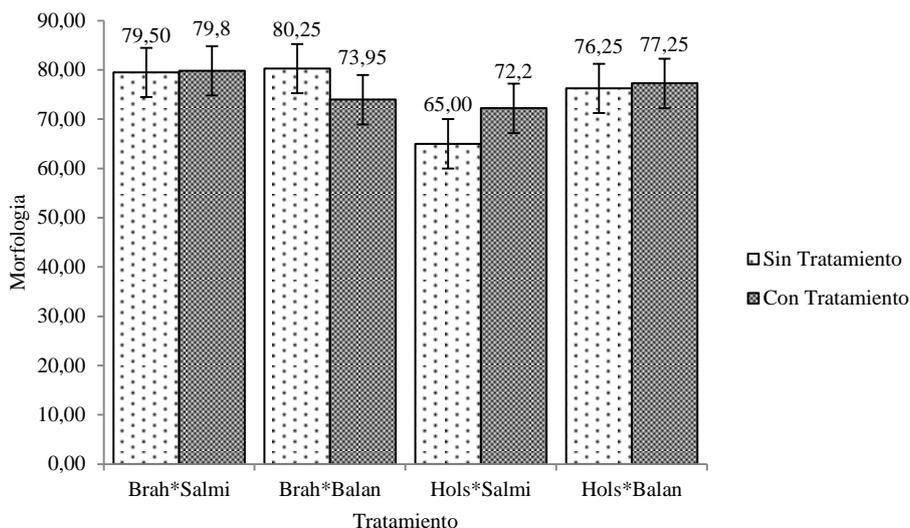


Figura 47. Diagrama de barras de la comparación entre resultados del grupo de sujetos experimentales sometidos a los diferentes tratamientos, antes y después de su aplicación, para la variable “morfología”.

Los valores de morfología se han mantenido antes y después de aplicar los tratamientos respectivos al grupo de sujetos experimentales, pero es evidente en el caso de Holstein con Sal mineral, que su porcentaje de normalidad aumentó, a diferencia de Brahman con balaceado que tuvo un decrecimiento para dicha variable. Esto puede verse en la figura 58.

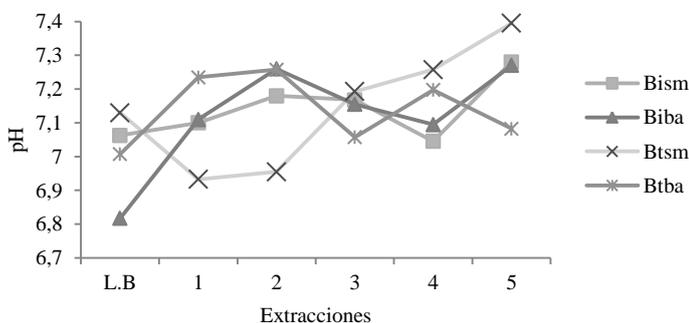


Figura 48. Diagrama de líneas correspondiente al comportamiento de la variable “pH” durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales

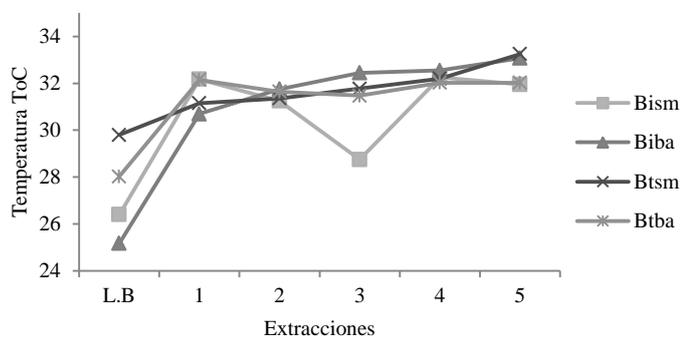


Figura 49. Diagrama de líneas correspondiente al comportamiento de la variable “temperatura” durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales.

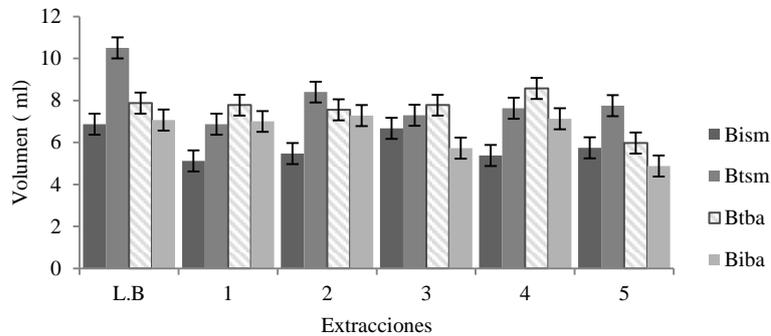


Figura 50. Diagrama de barras correspondiente al comportamiento de la variable “volumen” durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales.

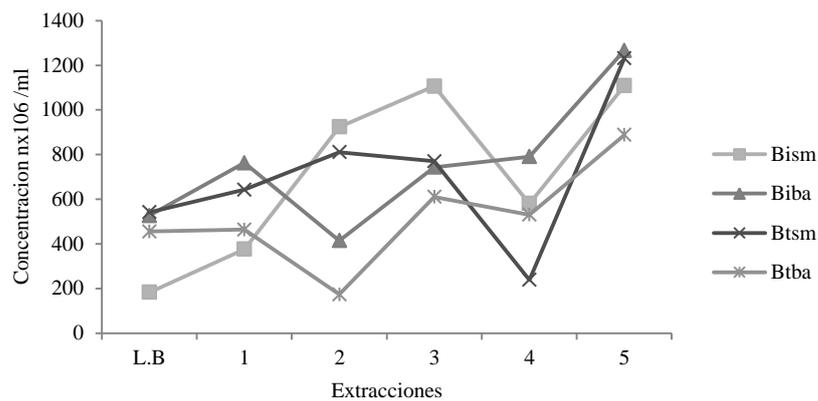


Figura 51. Diagrama de líneas correspondiente al comportamiento de la variable “concentración”, durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales.

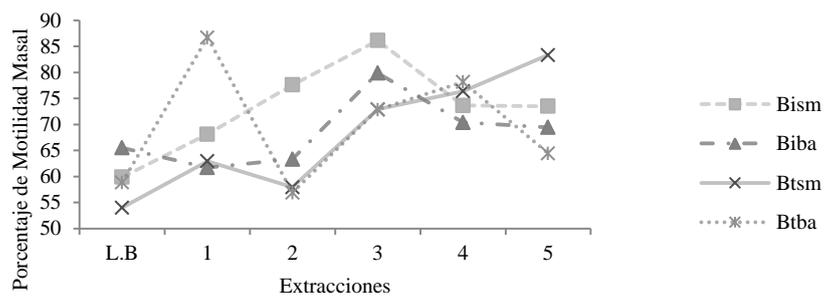


Figura 52. Diagrama de líneas correspondiente al comportamiento de la variable “motilidad masal”, durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales.

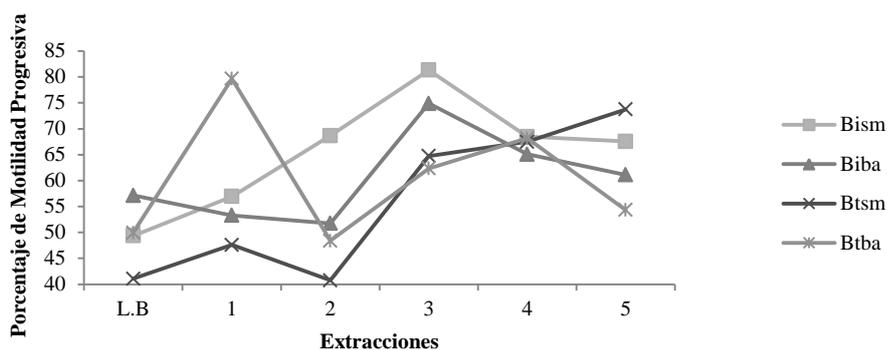


Figura 53. Diagrama de líneas correspondiente al comportamiento de la variable “motilidad progresiva”, durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales.

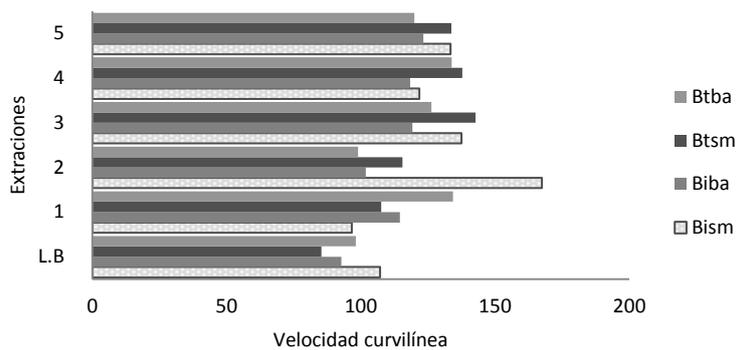


Figura 54. Diagrama de barras correspondiente al comportamiento de la variable “velocidad curvilínea”, durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales.

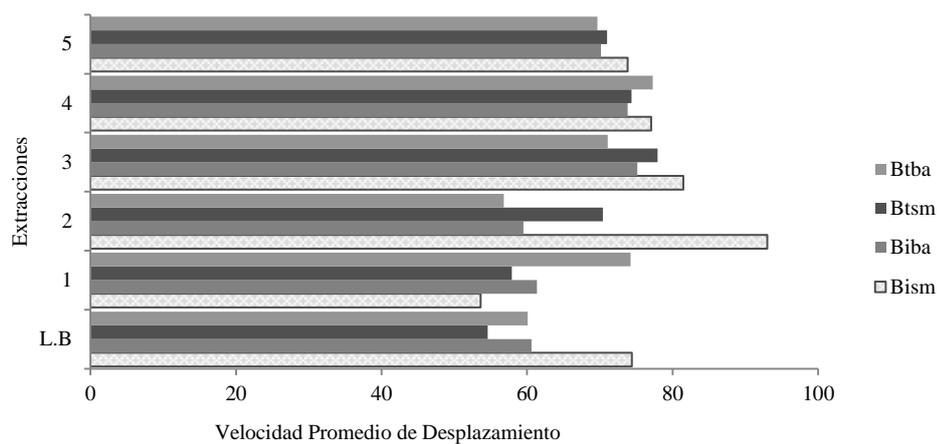


Figura 55. Diagrama de barras correspondiente al comportamiento de la variable “velocidad promedio”, durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales.

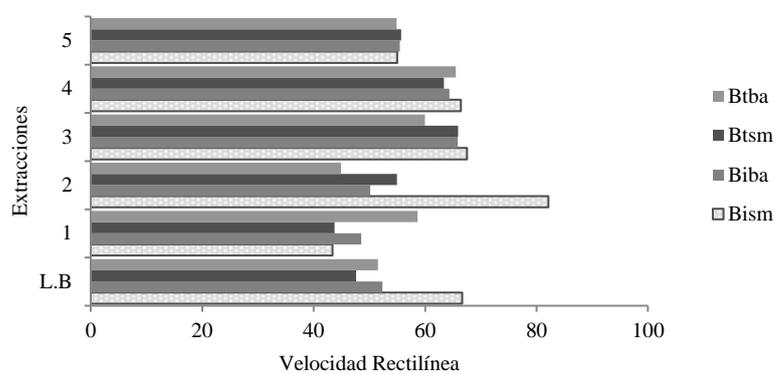


Figura 56. Diagrama de barras correspondiente al comportamiento de la variable “velocidad rectilínea”, durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales.

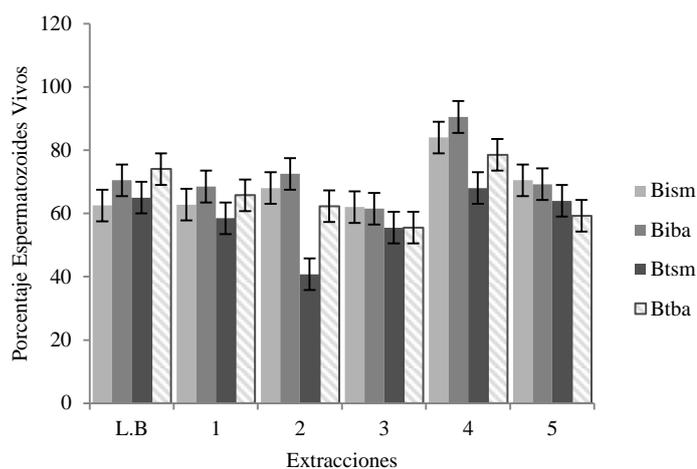


Figura 57. Diagrama de barras correspondiente al comportamiento de la variable “vitalidad”, durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales.

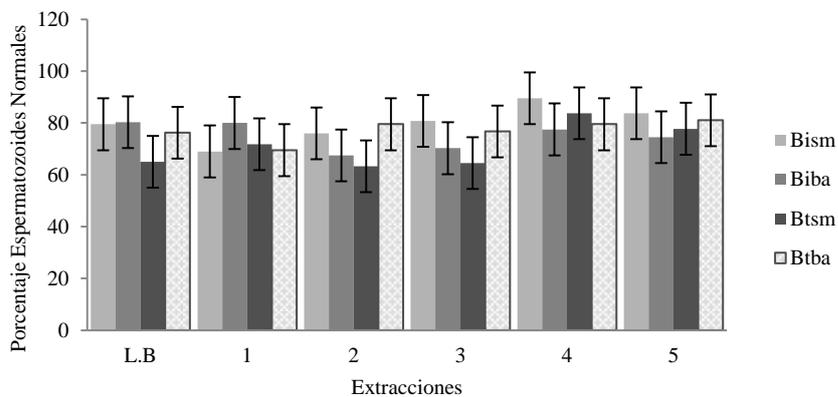


Figura 58. Diagrama de barras correspondiente al comportamiento de la variable “normalidad morfológica”, durante las extracciones realizadas al grupo de sujetos experimentales.

V. CONCLUSIONES

- Las características macroscópicas y microscópicas del semen en toros de raza *Bos taurus* y *Bos indicus* , no presentaron diferencias significativas o suficientes para definir la influencia nutricional sobre la calidad espermática del semen bovino en las razas expuestas, se rechaza la hipótesis existe diferencia en la calidad espermática y se acepta la hipótesis nula porque no existe diferencia en la calidad espermática (macro y microscópica) bajo el factor nutricional “sal mineral” y “alimento balanceado” entre toros de raza Brahman y Holstein en semen fresco, en el trópico húmedo.
- Solo presentaron diferencia significativa las variables “concentración” y “vitalidad” en el grupo de microscópicas, para la fuente de variación “raza”, los tratamientos propuestos no presentaron diferencia significativa en las variables de calidad espermática. .
- Existe una alta diferencia al efectuar los tratamientos, sobre los sujetos experimentales, al analizar sus estados de calidad espermática antes de ser sometidos a dichos tratamientos, incrementando el valor de las variables que definen un óptimo contenido seminal que califica al mismo.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar este tipo de experimentos con animales de mejor genotipo y fenotipo para poder verificar si el efecto es igual o aumenta en cuanto se refiere a calidad espermática.
- Efectuar varias extracciones previas a la toma de datos para determinar en qué estado se encuentran los animales y permitir que se vayan adaptando a los diferentes procesos de extracción.
- Tanto las extracciones en campo como la recepción de la muestra en el laboratorio son procesos muy delicados y que requieren rapidez, sutileza y eficacia.
- En el futuro se deben realizar estudios bajo régimen alimenticio similar para crio preservar y observar que efecto tiene este proceso en los espermias y su calidad.

VII. BIBLIOGRAFIA

- ABS. 1986. Manual de Inseminación Artificial. American Breeders Service una división de N. R. Grace and CO. de Forest WI. USA.
- Acuña, C., Dominicis, H., Narbaitz, M. Apellániz, J., Cabodevila, J., Callejas, S. y Cisale, H. 2001. Argentina. Evaluación de toros en rodeos de cría: ¿Es necesario el examen de semen?. En: Producción bovina de carne. Buenos Aires, Argentina. p. 1-4.
- Aghaei, A. y Col, A. 2010. Correlación significativa entre las concentraciones de zinc y cobre del plasma seminal y el porcentaje de motilidad espermática
- Agüero, G. 2012. Evaluación de las Características Seminales de Sementales Bovinos mediante el Analizador Seminal Computarizado (CASA)
- Amann, R. y Hammerstedt, R. 1980. Validación de un sistema para mediciones informatizadas de los espermatozoides Velocidad y porcentaje de movilidad espermática. *Biología y Reproducción*. 23: 647- 656.
- Angelino, O. 2009. Manual de Evaluación de Semen en Bovinos. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Universidad de Veracruz.
- Asprón, M. 2004. Manejo reproductivo del ganado bovino. IVISO. Pp. 19 22.
- Ballester, J. Saravia, F. y Haard, M. 2007. Viabilidad del toro después de la descongelación del semen con una baja concentración 68 : 934-943

- Barth, A. Brito, L. Kastelic, J. 2008. El efecto de la nutrición y desarrollo sexual de toros; 70 485–494
- Bearden, H. y Fuguay, J. 1982. Reproducción Animal. México. Editorial El Manual Moderno, S.A.
- Bearden, J. McCallow, G. y Smith, P. 1982. Dilución de esperma para una correcta evaluación seminal. 33: 157-160.
- Berdugo, J. 1994. Producción espermática de toros en el trópico. En: El Cebú. Santa Fe de Bogotá: No. 278 p.34-42.
- Blesbois, y Mauger. 1989. Correlación entre el contenido de zinc del plasma seminal y motilidad de los espermatozoides.
- Boggio, D. s.f. Evaluación de la Aptitud Potencial y Funcional del Toro. Capacidad de Servicio. Instituto de Reproducción Animal. Facultad de ciencias veterinarias. Universidad Austral de Chile.
- Brejev, G. 2014. Catedra Semiología, Facultad de ciencias Veterinarias UBA
- Brogliatti, M. 2008. Inseminación artificial a tiempo fijo: el porqué de los intentos fallidos. Centro de Inseminación Artificial La Argentina Chica. 10: 22-25. (En línea). Disponible en: www.produccion-animal.com.ar. Consultado: 7 de noviembre del 2013.

- Cabrera, V., y Gutiérrez, G. 2010. Inseminación Artificial Como Herramienta de Mejora del Rendimiento Productivo Lechero. Impreso el editorial de Extensión y Proyección Social. Lima – Perú.
- Cardozo, J. 2000. Evaluación Reproductiva y de Fertilidad de Toros, y su Utilización para Aumentar la Eficiencia Reproductiva en Sistemas del Trópico Bajo, Regional 1 C.I. Tibaitatá.
- Carvajal, L. 1990. Factores del trópico que limitan la producción de carne y leche en animales tipo taurus. En Archivo Vertical No. 76. Ciudad de México.
- Catena, M., Cabodevila, J. 1999. Evaluación del semen bovino. Simposio Internacional de reproducción bovina (uncpba). Tandil.taurus. 1(3):18-31
- Chacón, J., Pérez, M. y Rodríguez, H. 2002, Las variaciones estacionales de Consistencia Testicular, circunferencia escrotal y espermiograma, parámetros de crianza Brahman (*Bos indicus*) de toros en el trópico
- Chenoweth, P. 1997. Anatomía reproductiva clínica y la fisiología del toro.. En: Youngquist: La terapia actual en la genealogía del animal. Saunders, 1° Edición, pag. 217.
- Chenoweth, P. y Ball, L. 1980. Evaluación Cría y solides en toros .departamento Teriologia.. D. Morrow. Ist. Edit W. B.Saunders Co Philadelphia, USA. p. 333-3.
- Church, D. y Pond, W. 1996. Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales. 1a ed. Editorial Noriega Limusa, México. D.F.

- Ciria, M., Solano, M. y Soriano, P. 2005 Papel de macrófitos *Typha latifolia* en una tierra húmeda construida para el tratamiento de aguas residuales y la evaluación de su potencial como combustible de biomasa. *Ingeniería de Biosistemas* 92929292 (4), 535544.
- CORPOICA, 2010. Evaluación reproductiva del macho bovino en condiciones tropicales
- Countri, A., Valorz, C. y Faustini, M. 2009. Efecto del semen crio preservado en toros , analizado con el sistema CASA. 74: 424 435. *Veterinarias*, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Pp.: 15-22.
- Deutscher, H. 2010. Aparato reproductor del toro. Universidad de Nebraska (en línea). Consultado 22 de abril de 2014. Disponible en: <http://66.147.240.184/~ganader1/articulos/?seccion=ver&categoria=reproduccion&nda=rep012>
- Dunn, T., Mos, E. 1992. Efecto de las deficiencias nutricionales y excesos en la eficiencia reproductiva
- Filho, A. 1978. Reproducción de animales ye inseminación artificial. 4a. Ed., Porto Alegre. Editorial Saulina 2:461-513.
- Flórez, P. 2004. Suplementación con Minerales. (En línea) Consultado 20 de marzo 2012. Disponible en: <http://www.vetuy.com/articulos/bovinos/050/0038/bov038.htm>
- Gadea, J. 2003. *Revista española de investigación agrícola* 1 (2): pp. 17-27.
- Galina, C., Valencia, J. 2006. Colección del semen bovino. Pag. 217-219. *Reproducción de animales domésticos*.

- Gamzik P ; Kozumplik, J. 1984. Andrología e inseminación, Bratislava
- García, P. 2010. Visión fisiológica de la reproducción bovina. CIGAL
- Gómez, M., y Migliorisi., A. 2007. Protocolo para la evaluación de semen en rumiantes. Cátedra Reproducción Animal Facultad de Cs. Veterinarias – UNLP. Buenos Aires, Argentina.
- González, S. 2002. Nuevas Tecnologías Reproductivas. Manipulación embrionaria. (En línea). Disponible en: <http://www.canal-h.net/webs/sgonzalez002/Manipulacion/INDICE.htm>. Consultado: 05 de noviembre del 2013
- Goovaerts, I. Goovaerts, J. y Van Soom, J. 2006. Evaluación de la calidad del semen del epidídimo usando el analizador de Hamilton-Thorne indicando la variación entre los dos epidídimos del mismo toro. 66: 323-330.
- Graham, J. y Mocé, J. 2005. Evaluación de la fertilidad del semen congelado / descongelado. 64: 492-504.
- Hafez, E. 1993. Reproducción en granjas Animales, Centro de Salud Reproductiva, isla Kiawah. Carolina del Sur, pp 405.
- Hafez, E. y Hafez, B. 2000. Espermatozoides y Plasma Seminal. En: Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 7ª edición. Interamericana McGraw - Hill. México. Pp. 98-100.

- Hidalgo, C. Tamargo, C. y Díez, C. 2005. Análisis del semen bovino. Revista Tecnología Agroalimentaria, ISSN 1135-6030. Boletín Informativo, Época 2, No.2. (En línea). Disponible en: <http://www.serida.org/publicacionesdetalle.php?id=01495>. Consultado: 05 de noviembre del 2013.
- Holdridgde, L. (1987). Ecología Basada en Zonas de Vida. Instituto interamericano de cooperación para la agricultura. Colección de libros y materiales educativos
- Holy, L. 1987. Biología de la Reproducción Bovina. La Habana. Editorial Cient. Tec. 314 pág.
- Inamhi. (2012). Servicio de Meteorología e Hidrología del Ecuador Red Actual 2012
- IRAC. 2012. Fisiología de la Reproducción del Toro y Evaluación de la Capacidad Reproductiva.
- Jiménez, J., Martínez, G., y Murcia, G. 1996. Características seminales y circunferencia escrotal de toros puros y cruzados en el Piedemonte Llanero. Rev ACOVEZ. 3 (21): 4-14
- Kalita, M. y Col, L. 2006. Efecto de suplementación mineral para la supervivencia de los espermatozoides.
- Knobil, J. 2003. Sistema Reproductivo Masculino, Mamíferos no Humanos. Pag. 49-59. Enciclopedia de la Reproducción vol.3. M - Pri. San Diego California
- Konig, H., y Liebich H. 2002. Órganos Genitales Masculinos. Anatomía de los Animales Domésticos 2 ed. Editorial Medina Panamericana. Buenos Aires Argentina.

- Krause, L., Dittmar, A. 1962. La reproducción e inseminación artificial de los bovinos. Zaragoza, esp. Ed. Acribia: pp.419 – 517.
- Kuster, C. 2005. Determinación de la concentración de espermatozoides entre los sistemas hematosimetricos y CASA: ¿Por qué pueden ser diferentes?. 64: 614-617.
- Lasso, M. 1991. Tesis de Doctorado. Influencia del tamaño de los testículos en la calidad del semen y su fertilidad. Las alteraciones andrológicas más frecuentes de los toros en Panamá. Escuela Superior de Medicina Veterinaria. Universidad de Panamá.
- Lasso, M. y Quintero, J. 1992. Influencia del tamaño de los testículos en la edad y producción de semen de los sementales en Panamá. VIII Congreso Científico Nacional.
- Lozano, H. 2009. Factores que afecta la calidad seminal en toros, Clínica de la reproducción, Facultad de medicina veterinario, universidad de Bogotá
- Mamani, J. 2007. Introducción a la zootecnia. Puno-Peru.306p
- Manosalva, B. y Col, L. 1977. Evaluación de Semen en Toros en la Zona Norte del Departamento del Tolima, Universidad del Tolima Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Ibagué.
- Mapletoft, R. Kastelic, J. y Coulter, G. 1998. Manejo y selección de toros de carne, Oeste Ganadero 1(3):10-13

- McDonal, L. 1978. Reproducción y endocrinología veterinaria. Trad. Dra. Georgina
- McDowell, R. y Hernández U. 1975. Sistema Intensivo de Producción de Carne de Res. Trópicos. J. Animal. Science. 41(4):1228-1237.
- Mellizo, E., y Gallegos, A. 2006. Manual de laboratorio de reproducción animal. Practica 05. Lima, Perú.
- Mortimer, S. 2000. CASA –Aspectos prácticos. 21: 515-524
- Munar, C. 2005. Efectos de la alimentación y la condición corporal sobre la fertilidad de toros. Centro Biotecnológico de Reproducción Bovina
- Nolan, C., Neuendorff, R., Godfrey, P., Harms, T., Welsh, J., Macarthur, H., Randel, D. 1990 . Influencia de la dieta energética en toros de raza Brahman para la instancia puberales . Anim , Ciencia . 68:1087.
- NRC (National Research Council), 2001. Requerimientos de Nutrientes Diarias. ed. Washington, D.C.: Academia Nacional Press
- Olivares, R., y Urdaneta, R. 1985. Colección, evolución y procesamiento del semen de toros. Fonaiap Divulga (17): 4-9
- Padrón, R., Fernández, G., Gallardo, M. 1998, Interpretación del análisis seminal, consultado el 25 mayo del 2015 , actualmente disponible en http://bvs.sld.cu/revistas/end/vol9_1_98/end11198.htm
- Pérez, F. y Pérez, F. 1985. Dilución del esperma. Reproducción Animal, Inseminación Artificial y Trasplante de Embriones. Editorial Científico - Médica, Barcelona, España. Capítulo 6: 215-249.

- Quintero, A. 2003. Estudio de la dinámica de poblaciones espermáticas en semen de caballo, cerdo y conejo. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Veterinaria. Pp. 1-151
- Randel, R. 1993. Características Reproductivas de Toros Brahman y con Influencia Brahman. En: El Cebú. Santa Fe de Bogotá. No. 273 p. 66-81.
- Raúl, Rojas. 2012. Informaciones útiles en sanidad Animal , consultado el 25 de mayo del 2015 , actualmente disponible en <http://www.mailxmail.com/curso-informaciones-utiles-sanidad-animal/temperatura-corporal>
- Reyes, M. 2012. Manejo del Semen Congelado para Inseminación Artificial, Unidad de Reproducción, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, .Universidad de Chile
- Rivas, C.; Barceló, F. M. comps., 2011. Manual de Practicas de Biología de la Reproducción. Revisado por: Academia de Biología 2011. Ciudad Juárez, Chihuahua. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez 2011 p. 98
- Ronald , Switf. 2002. Como mejorar las relaciones con los clientes , Pearson p.172
- Ruedas, F. Abadía, B. y Cardozo, J. 2009. Actividad enzimática de la aspartato-aminotransferasa y su relación con la calidad seminal en toros de tres razas bovinas criollas colombianas. Sistema de Producción Bovinos. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. (En línea).Disponible en: <http://www.corpoica.org.co/SitioWeb/Ofertas/articulo.asp?id=1415>.
Consultado: 05 de noviembre del 2013.

- Ruiz, S., Herrera, H., Ruiz, F., Lemus, G., Hernández, C., Gómez, J., Barcena, H., y Rojas, I. 2007. Capacidad reproductiva de sementales activos en un sistema de monta abierta de los GGAVATT en el municipio de Villaflores, Chiapas. II Congreso Internacional de Producción Animal. I Simposio Internacional de Producción de Rumiantes. Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba. PR 50: 1-6.
- Saacke, R. Nadir, R. y Nebel, L. 1994. Relación de la calidad del semen al transporte de los espermatozoides, fertilización y calidad embrionaria en rumiantes. 41: 45-50.
- Sahagún, R. 1998. Importancia de los Minerales Orgánicos en la Nutrición de la Cerda Moderna. De: Biotecnología en la industria de la alimentación animal. Vol. VI. Alltech México pp. 91 – 114.
- Salisbury, W., VanDemark, L., y Lodge, R. 1961, 1978. Fisiología de la Reproducción e Inseminación Artificial de los Bovinos. Editorial ACRIBIA. Zaragoza – España.
- Sánchez, R., 2003. Crianza y Producción de Ganado Vacuno Leche. Ediciones Ripalme E.I.R.L., LIMA PERU.
- Sánchez, R., 2005. Crianza y Producción de Ganado Vacuno Carne. Ediciones Ripalme E.I.R.L., LIMA PERU.
- Setchell, B. 1998. Cabeza y la Tesis. J. Reproducción y Fertilidad 114: 179-194.

- Sierra, R. (1999). Propuesta Preliminar de un Sistema de Clasificación de Vegetación para el Ecuador Continental. Proyecto INEFAN/GEF-BIRF y Eco Ciencia. (R. Sierra, Ed.) Quito, Ecuador
- Sorensen, A. 1979. Reproducción animal principios y practicas . E.M. Editorial Mc. Graw-Hiil. Book Company.
- Stornelli, M. y De la Sota, R. 2005. Fertilidad y supervivencia del semen canino criopreservado. Instituto de Teriogenología. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Pp.15-22.
- Tamayo, M. 2006. Calidad espermática y desarrollo testicular en futuros sementales Holstein. Relación con la producción, calidad y fertilidad del semen ulterior de los toros en inseminación artificial. Tesis de Maestría. Centro de Investigación para el Mejoramiento Genético de la Ganadería Tropical. Ministerio de la Agricultura. La Habana.
- Vallecillos, H., 2011. Caracterización Reproductiva de Toros de La Raza Marismeña Como Base a su Conservación. Tesis Doctoral. Córdoba.
- Vázquez, J., Blanco, O., Roca, J., Lucas, W., Martínez, E. 1999. Relacion entre la fertilización en vivo y la asistencia. Abstr. 3rd conf. Europ. Soc. Dom. Anim. Reprod.,angers. France., 91.
- Vejarano, O., Sanabria, L., y Trujillo, L. 2005. Diagnóstico de la capacidad reproductiva de toros en ganaderías de tres municipios del alto magdalena. Revista MVZ 10: (2): 648-662.
- Verstegen, J. y Onclin, K. 2002. Análisis de semen asistido por computador, andrología veterinaria. 57: 149-179.

Veznik, Z., Svecová, D. 1986. Poblaciones de penetración espermática actividad espermática y reproducción, diagnostico andrológico.

Williams, G. 1980. Manual de Inseminación Artificial, México. Impreso por Unidad de Producción. No. 9.

Wrobel, K., y Dellman, L. 1993. Sistema Reproductor Masculino. En Histología Veterinaria de D. Dellman. 2da ED. Acribia. Zaragoza. 245-257.