

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**



**TESIS DE GRADO**

**EFFECTO DE LA PROTEÍNA Y ENERGÍA SOBRE LA CALIDAD DE  
SEMEN EN TOROS (*Bos taurus*) EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL  
DE CHOQUENAIRA**

**VANIA DANIELA URQUIETA GUARACHI**

**La Paz – Bolivia**

**2019**

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**EFFECTO DE LA PROTEÍNA Y ENERGÍA SOBRE LA CALIDAD DE  
SEMEN EN TOROS (*Bos taurus*) EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL  
DE CHOQUENAIRA**

Tesis de Grado presentado como requisito  
parcial para optar el Título de Ingeniero  
Agrónomo

**VANIA DANIELA URQUIETA GUARACHI**

**ASESORES:**

M.V.Z. M.Sc. René Juan Condori Equice

Ing. M.Sc. Juan José Vicente Rojas

**REVISORES:**

Ing. M.Sc. Patricia Fernández Osinaga

Ing. Juan José Aparicio Porres

Ing. Hernán Eloy Huacani Rivera

**APROBADA**

Presidente Tribunal Examinador

La Paz – Bolivia  
2019

## Dedicatoria

***Este trabajo va dedicado con todo cariño a mis seres queridos. A mis padres Eustaquio Urquieta Ludeña y Jhenny Guarachi Quisbert quienes me apoyaron en todo momento. A mis abuelos y tíos que admiran de la responsabilidad y ejemplo de mi vida académica. Gracias por todo.***

## Agradecimiento

- *Agradecido a mis padres, abuelos, tíos y primos que han sido el motor de mi vida para seguir adelante.*
- *A la Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía, Carrera de Ingeniería Agronómica, a todo el plantel docente por compartir sus conocimientos y experiencias y ser parte de mi formación profesional.*
- *Agradecida a mis asesores, Rene Condori y Juan José Vicente, por la paciencia y el compartir sus conocimientos.*
- *A los señores tribunales, Ing. Patricia Fernández, Ing. Juan José Aparicio, Ing. Hernán Huacani, por la revisión, mejora de mi trabajo.*
- *Un agradecimiento al Técnico Agrónomo Eulogio Kantuta Serrano, por la paciencia, colaboración y enseñanza con todo lo que implica la evaluación seminal en laboratorio.*
- *Especialmente quiero agradecer al Dr. Roberto Miranda e Ing. Rubén Tallacagua, quienes me apoyaron con sus consejos y me brindaron su amistad durante la etapa universitaria.*
- *Finalmente agradecer a mis compañeros que tuve en el transcurso de estos años, por su apoyo y amistad.*

# ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>Dedicatoria</b> .....	<b>ii</b>
<b>Agradecimiento</b> .....	<b>iii</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>xi</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>xii</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Antecedentes .....	1
1.2. Justificación.....	2
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>2</b>
2.1. Objetivo general .....	2
2.2. Objetivos específicos .....	2
<b>3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>3</b>
3.1. Importancia de la reproducción .....	3
3.2. Anatomía y fisiología del aparato reproductor del toro .....	3
3.2.1. Testículos .....	4
3.2.2. Epidídimo.....	5
3.2.3. Conductos deferentes.....	5
3.2.4. Uretra.....	5
3.2.5. Pene .....	6
3.2.6. Prepucio .....	6
3.2.7. Glándulas sexuales accesorias .....	6
3.3. características de un reproductor bovino .....	7
3.4. El semen y sus características .....	9
3.5. Espermatozoide .....	9
3.6. Espermatogénesis.....	10

3.6.1.	Espermatocitogenesis .....	10
3.6.2.	Espermiogénesis .....	11
3.7.	Morfología del espermatozoide .....	12
3.8.	Método de colección del semen .....	13
3.8.1.	Vagina artificial .....	13
3.9.	Evaluación del semen fresco en bovinos .....	14
3.9.1.	Características macroscópicas del semen de bovino .....	14
3.9.2.	Características microscópicas del semen de bovino .....	15
3.10.	Dilución del semen.....	18
3.10.1.	Diluyente comercial para conservación de espermatozoides.....	18
3.11.	Eosina Nigrosina.....	18
3.12.	Requerimiento nutricional del toro .....	19
3.13.	Efectos de la nutrición sobre la calidad del semen .....	20
3.13.1.	Energía.....	20
3.13.2.	Efecto de la energía en la calidad del semen.....	21
3.13.3.	Proteína.....	21
3.13.4.	Efecto de la proteína en la calidad del semen.....	22
<b>4.</b>	<b>LOCALIZACIÓN .....</b>	<b>23</b>
4.1.	Ubicación geográfica.....	23
4.2.	Características ecológicas .....	24
4.2.1.	Clima .....	24
4.2.2.	Fisiografía.....	24
<b>5.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODO.....</b>	<b>25</b>
5.1.	Materiales.....	25
5.1.1.	Material biológico.....	25

5.1.2.	Material para recolección de semen en campo .....	25
5.1.3.	Material de laboratorio .....	25
5.1.4.	Reactivos .....	26
5.1.5.	Insumos .....	26
5.1.6.	Materiales de gabinete .....	26
5.2.	Metodología .....	26
5.2.1.	Procedimiento pre experimental .....	26
5.2.2.	Procedimiento experimental .....	33
5.2.3.	Análisis estadístico .....	41
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>42</b>
6.1.	Resultados del Pardo Suizo (Líder) .....	42
6.1.1.	Características macroscópicas .....	42
6.1.2.	Características microscópicas .....	47
6.2.	resultados del toro Holstein (Ringer) .....	54
6.2.1.	Características Macroscópicas .....	54
6.2.2.	Características microscópicas .....	59
<b>7.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>66</b>
<b>8.</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>69</b>
<b>9.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>70</b>

## INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Categorías de la densidad del semen en rumiantes.....	15
Cuadro 2. Categorías descriptivas de ondas de motilidad en masa en semen de toros .....	15
Cuadro 3. Requerimiento de nutrientes en bovinos reproductores .....	19
Cuadro 4. Cálculo de ración, Pardo Suizo– peso vivo 790 kg.....	27
Cuadro 5. Cálculo de ración, Holstein – peso vivo 370 kg .....	28
Cuadro 6. Calculo de ración, Pardo suizo - Peso vivo 790 kg.....	29
Cuadro 7. Calculo de ración, Holstein - Peso vivo 370 kg.....	31
Cuadro 8. Color del semen (Pardo suizo - I) .....	43
Cuadro 9. Aspecto del semen (Pardo suizo - I).....	44
Cuadro 10. Resultados del volumen del semen .....	45
Cuadro 11. Análisis de la Varianza del Volumen del semen (Pardo suizo).....	45
Cuadro 12. Prueba de comparación de medias para el volumen del semen (Pardo suizo).....	45
Cuadro 13. pH del semen fresco (Pardo suizo).....	46
Cuadro 14. Datos de laboratorio de la vitalidad espermática .....	47
Cuadro 15. Análisis de la Varianza de la vitalidad espermática (Pardo suizo) .....	47
Cuadro 16. Pruebas de comparación de medias para la vitalidad espermática (Pardo suizo).....	47
Cuadro 17. Datos de laboratorio de la motilidad individual de los espermatozoides.	48
Cuadro 18. Análisis de la Varianza de la motilidad individual de los espermatozoides (Pardo suizo) .....	49
Cuadro 19. Prueba de comparación de medias para la motilidad individual (Pardo suizo .....	49
Cuadro 20. Datos de laboratorio de la morfología de los espermatozoides .....	50
Cuadro 21. Análisis de la Varianza de la normalidad espermática (Pardo suizo) .....	50
Cuadro 22. Pruebas de comparación de medias para morfología espermática (Pardo suizo).....	50
Cuadro 23. Datos de laboratorio de la concentración espermática .....	51



Cuadro 24. Análisis de la Varianza) de la concentración espermática (transformación $\sqrt{x}$ ) (Pardo suizo) .....	52
Cuadro 25. Pruebas de comparación de medias para concentración espermática (Pardo suizo) .....	52
Cuadro 26. Datos de laboratorio de la motilidad masal espermática .....	53
Cuadro 27. Análisis de la Varianza de la motilidad masal de los espermatozoides (Pardo suizo) .....	53
Cuadro 28. Pruebas de comparación de medias para la motilidad masal (Pardo suizo) .....	54
Cuadro 29. Color Del Semen Fresco (Holstein- II) .....	55
Cuadro 30. Aspecto del semen fresco (Holstein- II) .....	56
Cuadro 31. Datos de laboratorio del volumen de semen (Holstein) .....	57
Cuadro 32. Análisis de la Varianza del volumen del semen (Holstein) .....	57
Cuadro 33. Prueba de comparación de medias para el volumen del semen .....	57
Cuadro 34. pH del semen fresco en toros (Holstein).....	58
Cuadro 35. Datos de laboratorio de la vitalidad espermática (Holstein).....	59
Cuadro 36. Análisis de la Varianza de la vitalidad espermática (Holstein).....	59
Cuadro 37. Pruebas de comparación de medias para la vitalidad espermática (Holstein).....	60
Cuadro 38. Datos de laboratorio de la motilidad individual (Holstein) .....	60
Cuadro 39. Análisis de la Varianza de la motilidad individual de los espermatozoides (Holstein).....	61
Cuadro 40. Pruebas de comparación de medias para la motilidad individual (Holstein) .....	61
Cuadro 41. Datos de laboratorio de la morfología espermática (Holstein) .....	62
Cuadro 42. Análisis de la Varianza de la normalidad espermática (Holstein) .....	62
Cuadro 43. Pruebas de comparación de medias para morfología espermática (Holstein).....	62
Cuadro 44. Datos de laboratorio de la concentración espermática (Holstein).....	63
Cuadro 45. Análisis de la Varianza de la concentración espermática (transformación $\sqrt{x}$ ) (Holstein).....	64

Cuadro 46. Pruebas de comparación de medias para concentración espermática (Holstein).....	64
Cuadro 47. Datos de laboratorio de la motilidad masal espermática (Holstein) .....	65
Cuadro 48. Análisis de la Varianza de la motilidad masal de los espermatozoides (Holstein).....	65
Cuadro 49. Pruebas de comparación de medias para la motilidad masal (Holstein) 66	

## **INDICE DE FIGURAS**

Figura 1 Partes del aparato reproductor .....	4
Figura 2 Partes del espermatozoides.....	10
Figura 3 Fases del espermatogénesis .....	11
Figura 4 Espermatozoide normal y espermatozoides anormales.....	13
Figura 5 Espermatozoide vivo y muerto .....	19
Figura 6. Distribución de energía en los animales.....	21
Figura 7 Plano de ubicación de la Estación Experimental de Choquenaira .....	23
Figura 8 Sementales Pardo Suizo y Holstein .....	25
Figura 9 Alimento concentrado energético y proteico .....	32
Figura 10 Sales minerales.....	32
Figura 11 Periodo de adaptación del alimento balanceado a los sementales .....	33
Figura 12 Tiempo de alimentación con el tratamiento 1 (alimento energético) .....	34
Figura 13 Tiempo de alimentación con el tratamiento 2 (alimento proteico) .....	34
Figura 14 Vagina artificial.....	35
Figura 15 Colecta de semen .....	36
Figura 16 Medida del pH con el papel peachimetro .....	37
Figura 17 Movimiento progresivo de los espermatozoides .....	38
Figura 18 Conteo de espermatozoides vivos y muertos.....	39

Figura 19 Conteo de espermatozoides en la cámara de Neubauer ..... 40

## **INDICE DE ANEXOS**

Anexo 1 Peso inicial y peso final durante la investigación ..... 76

Anexo 2 Aporte de proteína y energía de los insumos utilizados en la investigación 76

Anexo 3 Datos obtenidos en laboratorio de las características macroscópica y microscópicas..... 77

Anexo 4 Alimentación de los sementales con forrajes y concentrado..... 78

Anexo 5 Preparación del alimento concentrado ..... 78

Anexo 6 Observación de los espermatozoides de los toros en microscopio ..... 79

## RESUMEN

El presente estudio de investigación se llevó a cabo en la Estación Experimental de Choquenaira, perteneciente a la Facultad de Agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés, se utilizaron 2 toros sementales de la raza Pardo Suizo y Holstein. El objetivo del trabajo fue la suplementación de alimento energético con 3200 Kcal de ED con 7% mayor al requerimiento y alimento proteico a 20% de proteína cruda con 11% sobre el requerimiento, para observar el efecto sobre las características macroscópicas y microscópicas del semen de los sementales bovinos (*Bos taurus*). Para ello se evaluó 14 eyaculados de semen (7 eyaculados por toro). El estudio se realizó tomando muestras de eyaculado (T0) y las muestras T1 y T2 con intervalo de 7 días. En el laboratorio de crio preservación de la Estación Experimental de Choquenaira se realizó las respectivas evaluaciones macroscópicas (volumen, pH, color, densidad) y microscópicas (Vitalidad, morfología, motilidad nasal, Motilidad individual, y concentración). Los resultados obtenidos en la variables: volumen el toro Pardo Suizo y Holstein fue significativo ( $0.05 >$ ) con alimento energético con promedio de 7,67 ml. y el toro Holstein con 6,83 ml; en la vitalidad espermática el toro Holstein fue significativo con un promedio de 88,33% con el (T1); en la motilidad individual el Pardo Suizo muestra una alta significancia con 84,67% de promedio con el (T1); en cuanto a la morfología fue significativo en el toro Pardo Suizo con 89% con el (T0); en cuanto a la concentración fue significativo en el toro Holstein con un promedio de  $9,6617 \times 10^8$  con el (T1). En conclusión el alimento energético mostró datos favorables en las características espermáticas.

**Palabras claves:** semen, dieta, reproductores.

## **SUMMARY**

The present study it took place in Choquenaira Experimental Station belonging to the Facultad de Agronomy of the Mayor de San Andres University, its used two bulls stallions of the race Brown Swiss and Holstein whith ages three years and 18 months. The objeticve of work was supplement energy food with 3200 Kcal ED and 20% protein food to observe the efect on the feactures macroscopic and microscopic of the stallions to do this, it was evaluated 14 ejaculados of semen. The study was conducted by taking ejaculate samples (T0) and sample (T1), (T2) with 7-day interval. In the cryopreservation laboratory the respective macroscopic (volume, pH, color, density) and microscopic (vitality, morphology, nasal motility, individual motility, and concentration) evaluations were performed. The results obtained in the variables: volume the bull Brown Swiss and Holstein it was significant ( $0.05>$ ) with energy food with an average of 7.67 ml and the Holstein bull with 6.83 ml; in sperm vitality the Holstein bull was significant with an average of 88.33% with (T1); in individual motility the Swiss Brown shows a high significance with 84.67% on average with (T1); in terms of morphology, it was significant in the Brown Swiss bull with 89% with the (T0); As for the concentration, it was significant in the Holstein bull with an average of  $9.6617 \times 10^8$  with the (T1). In conclusion, the energy food showed favorable data on sperm characteristics.

**Key words:** semen, diet, player.

# 1. INTRODUCCIÓN

Un manejo nutricional adecuado es un punto clave para el mantenimiento de la productividad en un sistema ganadero, pues influencia fuertemente los índices zootécnicos especialmente los parámetros reproductivos. Ya es de conocimiento general de los productores y técnicos la importancia de la nutrición en el desempeño productivo de rumiantes. (Pirez *et al.*, 2011 citado por Granja, 2012).

El toro influye sobre la fertilidad del rodeo más que ningún otro animal. La fertilidad en el macho es mucho más importante que en la hembra si la que falla es la vaca perdemos un ternero, mientras que si falla es el toro se pierde al menos entre 15 y 18 terneros (Mapletoft *et al.*, 1998 citado por Guarié, 2013).

Las características asociadas con la calidad seminal del reproductor son afectadas, tanto por el aporte de la dieta, como por la disponibilidad y movilización de nutrientes en el organismo. Por lo tanto, dietas mal balanceadas pueden tener un efecto determinante sobre la calidad del eyaculado al afectar la espermatogénesis y deteriorar las características microscópicas del semen, dado que el metabolismo proteico y energético se encuentran muy relacionados y la deficiencia primaria de uno, se traduce en la deficiente utilización del otro. Por esa razón, el exceso de proteína suministrada en la dieta puede deteriorar el rendimiento productivo de los sementales, al igual que su restricción en la dieta tiene efectos dañinos sobre la función sexual. Así mismo, dietas híper-energéticas se asocian con deteriorar la calidad seminal en toretes púberes entre 11,5 y 13,5 meses de edad, sin embargo, es de considerar que en esta etapa los toros aún tienen cambios en la calidad seminal debido a la pubertad (Guarié, 2013).

## 1.1. Antecedentes

Guarié (2013), La proteína y energía en la alimentación son imprescindibles para el desarrollo corporal y diversos procesos asociados a la producción, como la fertilidad de la especie. Se debe alcanzar una calidad espermática óptima con respecto a la suplementación de energía y proteína en la alimentación de los semovientes.

Almanza, et al. (2012), en un ensayo con toros Brahman los aportes de dietas con mayor proteína y mayor energía no tiene un buen rendimiento en la calidad espermática. En cambio, con dietas en mayor porcentaje de energía y menor porcentaje de proteína se obtiene mayores rendimientos en la calidad espermática.

## **1.2. Justificación**

La infertilidad de los toros puede ser debido al exceso o falta de energía y proteína en el alimento, para mejorar la condición corporal, tener buena libido y una excelente producción de semen en toros reproductores se busca realizar una dieta formulada con diferencia de cantidades de energía y proteína, para poder cualificar la mejor opción que permita al metabolismo asimilar la cantidad exacta y así cumpla con los nutrientes requeridos. La fertilidad potencial de una muestra de semen probablemente va a depender de que contenga un número suficiente de espermatozoides viables, morfológicamente normales y funcionalmente competentes, capaces de alcanzar el oviducto y de establecer un reservorio, de llevar a cabo la fecundación del ovocito, y de contribuir al desarrollo embrionario.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo general**

Evaluar la calidad del semen de toros (*Bos taurus*) con diferentes niveles de proteína y energía, en la Estación Experimental de Choquenaira.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Determinar las características macroscópicas del semen a diferentes niveles de energía y proteína con relación a la edad de los toros.
- Señalar las características microscópicas del semen a diferentes niveles de energía y proteína con relación a la edad de los toros.
- Indicar la mejor dieta entre energía y proteína.

### **3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1. 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 citado por Quisbert, G. 2014).

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 costeable (García, 2010).

La eficiencia reproductiva en la cría del ganado vacuno está determinada, principalmente, por el número de terneros destetados, que es el resultado de la interacción entre fertilidad del toro y hembra. De manera individual se puede decir que la fertilidad del toro es mucho más importante que la fertilidad de la hembra ya que en condiciones de monta natural la relación del toro hembra es 1/25 – 1/50, mientras que en la inseminación artificial puede llegar a 1/10000 y aún más. Por esto se considera que 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, 2008).

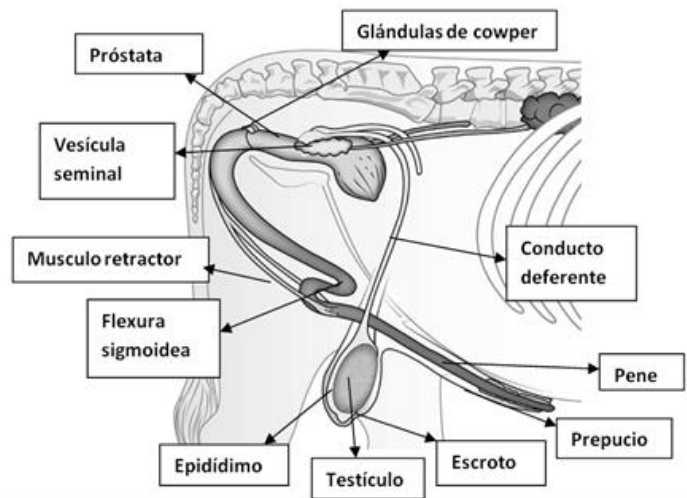
#### **3.2. Anatomía y fisiología del aparato reproductor del toro**

El aparato reproductor del macho está situado en el interior de la cavidad abdominal debajo del recto. En el exterior se encuentran los genitales externos (testículos y pene). Su principal función es la producción de espermatozoides, para posteriormente depositarlo en el aparato reproductor de la hembra y la elaboración de hormonas (andrógenos) que regulan los caracteres sexuales del macho y la propia producción de espermatozoides. Consta de las siguientes estructuras anatómicas: testículos, conductos genitales,



glándulas accesorias (glándulas bulbo uretrales, próstata y vesícula seminal), pene y prepucio (Pérez, et.al 2012).

**Figura 1. Partes del aparato reproductor del toro**



*Fuente: elaboración propia en base a Hidalgo, 2014*

### **3.2.1. Testículos**

En los mamíferos, son órganos pares generalmente asimétricos, de forma ovalada, comprimidos lateralmente y situados en la región inguinal, untuosos al tacto y alojados en un divertículo del abdomen, las bolsas escrotales que exteriormente se encuentran revestidas por una gruesa túnica fibrosa que les sirve de protección y garantiza la adecuada función espermatogénica. En el bovino los testículos son algo más grandes (15 cm de longitud) y el escroto está situado algo más hacia adelante (Pérez, et.al 2012).

Las gónadas en el macho tienen la función exocrina o espermatogénica y la endocrina o producción de andrógenos, siendo ambas controladas por las gonadotropinas hipofisarias FSH y LH. Se encuentra recubierto por el peritoneo y tiene una abundante irrigación e inervación y está dividido en lóbulos, mientras que el parénquima del órgano lo integran un gran número de túbulos seminíferos presentes en cada uno de los lóbulos. De esta forma, el testículo, se compone básicamente de tubos seminíferos y tejido intersticial. Los tubos seminíferos son muy sinuosos, desembocan en la red de

testis y están formados por varias capas de células superpuestas, limitando externamente con una membrana basal que se encuentra directamente en contacto con los capilares sanguíneos que aportan los nutrientes necesarios. Estos túbulos son los encargados de elaborar y segregar los espermatozoides. Para ello constan de dos tipos de células, las espermatogonias que se encuentran en estrecho contacto con la membrana basal y que dan origen al gameto masculino y las células de Sertoli. Por otra parte, en los intersticios de los tubos seminíferos se encuentran las células intersticiales o de Leydig con función endocrina encargadas de la producción de andrógenos. (Pérez, 2014).

### **3.2.2. Epidídimo**

Es la estructura adyacente al testículo, que cumple las funciones de transporte, maduración y almacenamiento de los espermatozoides. Anatómicamente se reconocen tres partes: cabeza, cuerpo y cola. Esta última porción continúa con los conductos deferentes que almacenan y transportan el semen hacia la uretra durante el proceso de la eyaculación. La parte terminal de los conductos deferentes se conoce como ampollas eferentes o ámpulas (Pérez, et.al 2012).

### **3.2.3. Conductos deferentes**

Los conductos deferentes son tubos que van desde la cola del epidídimo hasta la uretra y su función consiste en transportar los espermatozoides desde el epidídimo hasta el exterior (Pérez, et.al 2012).

### **3.2.4. Uretra**

Están a su vez constituidas por dos tipos de glándulas, las intra mucosas que son pequeñas, muy numerosas en la región cavernosa de la uretra y localizadas en la lámina propia y las extras mucosas, de mayores dimensiones con conductos que suelen abrirse en la uretra formando ángulos agudos. Ambos tipos de glándulas segregan una sustancia mucoide que conjuntamente con la secreción de las glándulas de Cowper tienen la función de limpiar y lubricar la uretra antes del paso de los espermatozoides (Pérez, 2014).

### **3.2.5. Pene**

Es el órgano de la copulación, tiene una estructura muscular que fija el pene en su parte posterior a la pelvis. El interior del pene está formado por el tejido cavernoso a lo largo del pene va la uretra hasta la punta o glande. La uretra da salida al semen cuando cubre a la vaca en el momento del eyaculado. Cuando el toro se excita sexualmente, el músculo retractor del pene se relaja y la estructura cavernosa y eréctil se llena de sangre haciendo que el pene se ponga túrgido, erecto y aumente de tamaño. Al cubrir la hembra, introduce el pene erecto en la vagina, y deposita allí el semen mediante un fuerte empujón hacia adelante, llamado corrientemente “golpe de riñón”. La salida del semen o eyaculación es debida a un reflejo de contracción del epidídimo, vasos eferentes, uretra y glándulas accesorias del aparato reproductor del toro (Lozano, 2009).

### **3.2.6. Prepucio**

El prepucio es el saco externo que cubre la porción libre del pene, recubierto internamente por tejido mucoso y externamente cubierto por la piel. En algunas especies tiene que desarrollar bien el prepucio para poder realizar la cubrición a la hembra (Lozano, 2009).

### **3.2.7. Glándulas sexuales accesorias**

La función de estas glándulas es la de producir el líquido seminal donde se conservan los espermatozoides y les sirve a su vez de vehículo para su salida a través de la uretra. Estos líquidos le dan volumen al semen y además le aportan nutrientes y protección (Lozano, 2009).

#### **3.2.7.1. Próstata**

La próstata está situada sobre el cuello de la vejiga y la primera porción de la uretra, vertiendo su secreción mediante varios conductos excretores. La misma se caracteriza por ser un líquido alcalino claro de aspecto lechoso, rico en fosfatasa ácida, prótidos, lípidos, hexosas y espermina, sustancia que le da al eyaculado su olor característico.

Durante la eyaculación la cápsula de la glándula se contrae simultáneamente con las contracciones del conducto deferente y las vesículas seminales, de modo que el líquido excretado se une a la masa de espermatozoides. La reacción alcalina de la secreción prostática es esencial para la adecuada fertilización del oocito ya que neutraliza las secreciones ácidas con las que el espermatozoide entra en contacto al ingresar en el aparato genital de la hembra (Pérez, 2014).

#### **3.2.7.2. Glándulas bulbo uretrales o de cowper**

Son glándulas ovoides y pares, de 2-3 cm de largo. Están envueltas en el músculo bulbo-cavernoso y desembocan por separado en la uretra con la que se encuentran en contacto a la altura del estrecho posterior de la pelvis. Tienen una estructura lobulosa y los lóbulos se encuentran divididos por tabiques ricos en tejido conectivo. Su desarrollo varía de acuerdo con la especie, siendo más voluminosas en el cerdo, mientras que en el caballo y el toro tienen aproximadamente el tamaño de una nuez. Su secreción tiene como función limpiar y lubricar la uretra antes de la copula, con el objetivo de facilitar el tránsito de los espermatozoides por este segmento que constituye una vía común de los sistemas genital y urinario (Pérez et al, 2012).

#### **3.2.7.3. Vesículas seminales**

Son dos y están situadas a ambos lados del cuello de la vejiga, sobre la próstata y dirigidas hacia adelante. Tienen una longitud aproximada de 8 a 10 centímetros, son de forma lobulada y secretan un líquido rico en azúcares como fructuosa y ácido cítrico (Lozano, 2009).

### **3.3. Características de un reproductor bovino**

Un buen reproductor bovino parte de una eficiente evaluación en la finca. Al seleccionar los mejores especímenes se asegurará una línea genética rentable y productiva. La evaluación del estado general de salud del animal incluye un examen de las condiciones físicas del macho. Se debe certificar que el animal esté libre de enfermedades. Este examen inicia en la boca, inspeccionando los dientes, que

deberán estar completos y sanos, ya que un toro con problemas dentarios no podrá comer bien y perderá peso (Valerio, 2014).

### **Exámenes a realizar**

- a) **Condición corporal general.** Debe ser óptima. Machos mal alimentados y con bajo peso corporal pueden tener lesionados los testículos irreversiblemente o su recuperación puede ser muy lenta. También se les debe tomar en cuenta los defectos de la visión, dentadura o alteraciones en la estructura de músculos esqueléticos o aplomos (PRONACA, 2015).
- b) **Aparato locomotor.** Las patologías en toros de campo se agrupan principalmente en el aparato locomotor, pene y prepucio. Se estudiarán en esta región las características que presenten el pie y las articulaciones, así como también se observarán los aplomos. El toro se debe desplazar con normalidad y completar el servicio sin dificultades. Un toro trabajando en servicio a campo recorre unos 20 km diarios y realiza varias montas de prueba en las hembras antes de concretar el servicio. El correcto estado del aparato locomotor y visión le permitirá reconocer y llegar al/los grupos/s sexualmente activo/s, de lo contrario no tendrá un buen rendimiento y no cumplirá adecuadamente con su función de preñar la mayor cantidad de hembras posible en el menor tiempo mientras estén en celo. (Boggio, 2008)
- c) **Evaluación de la libido y Capacidad para la Monta.** Este aspecto de la evaluación de potencial reproductivo es muy importante, ya que un animal que produzca suficientes espermatozoides, pero no sea capaz de depositarlos en el sitio adecuado (vagina), durante el servicio natural, no será capaz de lograr los deseados índices de preñez. Aún, cuando esta evaluación es compleja de realizar deben descartarse las alteraciones de origen endocrino (baja libido) y defectos anatómicos (incapacidad para la monta), que comprometen la eficiencia reproductiva. (PRONACA, 2015).
- d) **Prepucio y pene.** El prepucio debe ser palpado para descartar la presencia de adherencias, heridas o hematomas. Los toros con sangre cebú son más propensos a tener lesiones. Es común el prolapso del prepucio en animales

cebuinos que termina en problemas de acroburstitis (inflamación del prepucio). El pene debe ser examinado para la identificación de heridas, traumas o inflamaciones (Valerio, 2014).

- e) **Testículos y escroto.** Medición de la Circunferencia Escrotal y Tono Testicular ambas medidas objetivas que nos dan un altísimo grado de certeza de la cantidad y calidad de su semen sin necesidad de realizar un análisis del mismo, simplemente utilizando nuestras manos y nuestra mente. Con respecto a los epidídimos, deberíamos tener en cuenta la forma y posición de sus colas, que es donde se almacena el semen, un toro debería tener como mínimo 30 cm de C.E. a los 20 meses de edad, para ser considerado apto para la reproducción y poder otorgarle 40 vacas, siempre y cuando su C.S. lo permita, con 32 cm podría ser utilizado en 60 vacas y con 34 cm sería con 80 vacas de acuerdo a su C.S. Motilidad espermática. Debe ser evaluada sólo si la muestra colectada no ha sido contaminada con orina, sangre, heces, barro, etc. De preferencia se debe trabajar en condiciones de temperatura controlada (Acuña, 2008).

### **3.4. El semen y sus características**

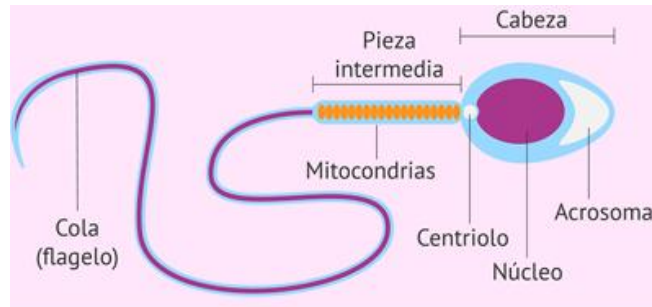
El semen es un líquido viscoso y blanquecino, que es expulsado a través del pene durante la eyaculación. Está compuesto por espermatozoides (testículos) y plasma seminal (glándulas vesicales, próstata, glándulas bulbo uretrales). La composición de semen varía de acuerdo a las diferentes especies. El semen permite el transporte de los espermatozoides hasta llegar al óvulo, y el plasma protege y neutraliza el pH de las células (Hafez, 2012).

### **3.5. Espermatozoide**

Proviene del griego (sperma, que significa semilla), también llamado gameto masculino, de tamaño microscópico, consta de acrosoma, cabeza, pieza intermedia y cola. La producción de estas células reproductoras está regulada por la hormona gonadotrofina que secreta la hipófisis. Los espermatozoides producidos que se almacenan en los testículos no nacen totalmente formados, sino que van madurando

mientras atraviesan diversos conductos hasta llegar al epidídimo, donde se almacenan para la eyaculación (Ptaszynska, 2007).

**Figura 2. Partes del espermatozoide**



*Fuente: (Salvador, 2017)*

### 3.6. Espermatogénesis

Consiste en el conjunto de eventos que se llevan a cabo en el estroma testicular a nivel de los túbulos seminíferos, y que se inicia con la pubertad del toro, dando lugar a la producción de espermatozoides a partir de células primordiales, con base en un control de tipo endocrino, paracrino y autocrino. El control endocrino es el periodo previo a la pubertad, donde comienza la espermatogénesis, se caracteriza por la producción a nivel del hipotálamo la liberación de (GnRH). Y la secreción hipofisiaria FSH de células de Sertoli y LH (hormona estimulante de las células de Leydig) (Lozano, 2009).

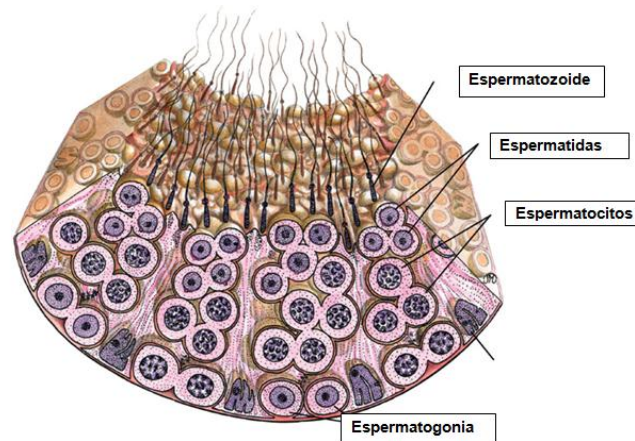
La espermatogénesis se inicia con la división de células fetales germinales para la producción de espermatogonias, las cuales posteriormente van a dar lugar a distintos tipos de células. El lumen de los túbulos seminíferos se establece aproximadamente entre los 5 y 8 meses de edad del ternero. Ocurre una especie de pico de producción de FSH en esta época, lo cual da lugar a una alta proliferación de células de Sertoli, elongación de los túbulos seminíferos (Lozano, 2009).

#### 3.6.1. Espermatocitogenesis

Consiste en una serie de divisiones mitóticas desde espermatogonia A, hasta lograr la transformación en espermatogonia B, pasando por una serie de espermatogonias como son A1, A2, A3, A4, espermatogonia I. Esta serie de eventos se encuentran bajo

una relevante actividad endocrina por medio de la FSH, que a través del sistema sanguíneo actúa desde la hipófisis encontrando receptores en las células de Sertoli, las cuales son células moldeadoras de las células primordiales hasta formarse como espermatozoides; estas células de Sertoli igualmente requieren de un mecanismo de acción paracrina por medio de la testosterona que proviene de las células de Leydig (Hooper, 2015).

**Figura 3. Fases de la espermatogénesis**



*Fuente: (Hooper, 2015)*

### 3.6.2. Espermiogénesis

Hopper, (2015). Señala que la fase final es la transformación de las espermátidas redondeadas en alargadas, flagelados y altamente condensados espermatozoides maduros que son liberados en el lumen del tubo seminífero. Esta diferenciación consiste en 4 fases principales que ocurren en el compartimento adluminal entre células de Sertoli; la fase de Golgi, fase de capuchón, fase acrosómica y la fase de maduración. Durante la fase de golgi, pequeñas vesículas de Golgi dentro del citoplasma de la espermátida se fusionan en una estructura más grande y compleja, la vesícula acrosómica.

El axonema está conectado a la base del núcleo y se extiende a través de la región media y continua para formar la cola del espermátide. Estos cambios metamórficos son todos pasos de desarrollo importantes para asegurar que los espermatozoides



tengan la habilidad de no ser sólo móviles si no también capaces de fertilización y envío de material nucleico cuando entran en contacto con el gameto femenino (Hopper, 2015).

En la fase acrosómica, el acrosoma con forma de gorra tiene la función de depósito y que se encuentra en la mitad superior de la cabeza de los espermatozoides. Este orgánulo contiene enzimas hidrolíticas, principalmente la hialuronidasa, cuya función es, con ayuda de otros espermatozoides, conseguir la separación de las células del cúmulo que rodean el ovocito (Gelambi, s.f.).

En la fase de maduración se tiene al espermatozoide quien ha cambiado su forma radicalmente y ahora es una célula especializada con capacidad de movimiento. En los espermatozoides generados se puede diferenciar la región de cabeza donde se localizan el núcleo celular con la carga genética haploide y el acrosoma. El proceso de espermiogénesis varía dependiendo de la especie, aunque en promedio abarca de una a tres semanas (Gelambi, s.f.).

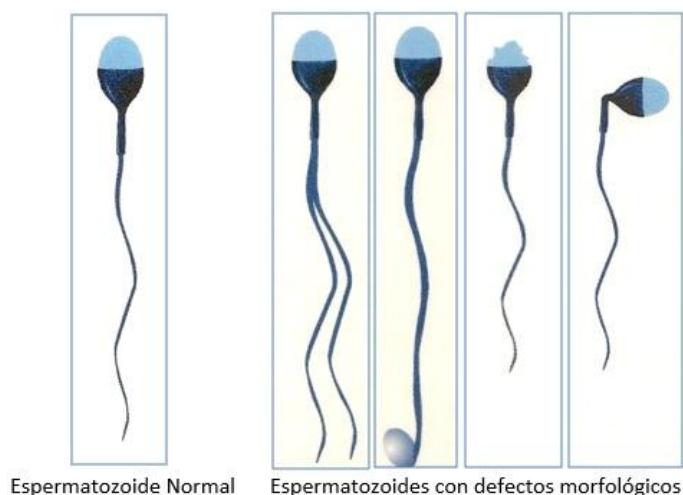
### **3.7. Morfología del espermatozoide**

Se manifiesta que el estudio de la morfología espermática es de mucha utilidad para establecer porcentajes de espermatozoides normales y poder clasificar las anomalías. Existe una relación entre los defectos espermáticos e infertilidad. Se considera tolerable hasta un 30% de anomalías. (Buzón, 2013)

Agüero, (2012) indica que la morfología está estrechamente relacionada con la motilidad espermática en forma más directa, y se mide en porcentaje de espermatozoides con defectos de morfología. Se necesita, al menos, un buen porcentaje de espermatozoides móviles y de ellos se espera que entre 70 a 80% posee morfología normal. Esto quiere decir, que como máximo se acepta 20 a 30% de atipias

Las malformaciones primarias, por definición, 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. Cabe destacar que, por definición, se denota el origen y no la severidad del defecto. (Agüero, 2012).

**Figura 4 Espermatozoide normal y espermatozoides anormales**



**Fuente: (Samper, 2011)**

### **3.8. Método de colección del semen**

#### **3.8.1. Vagina artificial**

El mejor método para la colección de semen es la vagina artificial, por higiene, rapidez y facilidad de operación y porque permite trabajar con más animales por unidad de tiempo además de mantener el aspecto bioquímico del semen. Una muestra extraída por vagina artificial será más representativa y menos influenciada por factores externos que la extraída mediante otros métodos electro eyaculación o masaje de vesículas seminales (Boggio, 2008).

La vagina artificial permite la simulación de la copula natural, obteniendo eyaculados más parecidos fisiológicamente a los naturales con una alta calidad. Los componentes usuales de una (VA) incluyen, un tubo rígido, una camisa interior de caucho o látex de color negro, conectada a una válvula que permite el llenado con agua caliente y la insuflación de aire, permitiendo ajustar la presión de la vagina, varias bandas elásticas de caucho permiten la sujeción del cono colector de látex, un tubo colector de semen y una cubierta protectora con aislamiento de temperatura y de los rayos solares (Villamizar, 2014).

### 3.9. Evaluación del semen fresco en bovinos

Para considerar a un toro como apto reproductivo, asumiendo que es un animal clínicamente sano, debe cumplir con tres requisitos básicos, como son: buena libido, buen estado clínico reproductivo y buena calidad espermática. La evaluación del semen es un punto importante para la certificación de la aptitud reproductiva en un toro. El semen se puede obtener de vagina artificial y es recolectado en un tubo graduado de 15 ml aproximadamente, ya sea plástico o de vidrio, para facilitar la medición del volumen (Gómez, 2007).

#### 3.9.1. Características macroscópicas del semen de bovino

- a) **Volumen:** El volumen eyaculado de los toros pueden variar de acuerdo a los factores, la edad, condición corporal, medio ambiental y destrezas del operario, además cada eyaculado disminuye con frecuencia de recogida a lo largo de cada extracción. El valor de volumen muy buena es de 10 a 12 ml, buena de 6 a 10 ml, regular de 4 a 8 ml y una calidad mala menor a 4 ml de eyaculado (Agüero, 2012).
- b) **Color:** es considerado del normal o anormal (patológicos) de acuerdo al color del eyaculado. Entre los colores de blanco marfil, blanco cremoso y blanco amarillento son considerados normales, y los de color rosado, amarronado y verdoso son considerados anormales. Si se observa que el eyaculado es anormal o tiene algunas partículas como tierra o pelos, se lo debe desechar ya que estos factores pueden afectar en los resultados. (Agüero, 2012).
- c) **Densidad:** la densidad del semen da una indirecta de la concentración espermática (Gómez, 2007).

**Cuadro 1. Categorías de la densidad del semen en rumiantes**

Densidad	Muy buena (Muy denso o densísimo)	Buena (Denso)	Regular (Lechoso)	Mala (acuoso)
Apariencia	Semen granuloso con buena concentración espermática.	Semen opaco lechoso, con buena concentración espermática.	Semen como la leche aguada con poca concentración espermática, con más contenido de plasma.	Semen translucido o acuoso, mala concentración espermática. Alto contenido de plasma.

Fuente: (Gómez, 2007)

d) **PH:** Se considera un pH normal, entre 6.4 y 7. (Gómez, 2007)

### 3.9.2. Características microscópicas del semen de bovino

a) **Motilidad en masa microscópica:** 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 a examinar (gota de semen íntegro) con una pipeta, se coloca la gota sobre un portaobjeto a 37°C y se observa en campo claro (aumento 10X), sin colocar el cubreobjeto. (Agüero, 2012)

**Cuadro 2. Categorías descriptivas de ondas de motilidad en masa en semen de toros**

Motilidad en masa	Actividad cinética muy buena	Actividad cinética buena	Actividad cinética regular	Actividad cinética deficiente	Actividad cinética ausente
Descripción	Remolinos intensos con ondas espermáticas apreciables.	Remolinos apreciables aunque menos intensos que la anterior.	Pocos remolinos con menor frecuencia que la anterior.	El semen no forma remolinos si no eventualmente y sin ninguna intensidad.	Sin nada de movimiento.
Porcentaje	8% a 10%	5% a 8%	5%	3% a 4%	1% a 2%

Fuente: Rosemberger (1981) citado por Agüero (2012)

- b) **M.I. (Motilidad individual):** La motilidad progresiva es un indicativo de que los espermatozoides son viables, su valoración está basada en la observación del movimiento individual de las células con el fin de determinar el porcentaje de células móviles en el eyaculado. (Hernández, 2014).

La evaluación de la motilidad individual se realiza con la ayuda de un microscopio óptico de campo claro, usando aumento 40X. Antes de su observación al microscopio, el semen se diluye, en uno de los tubos de 12 x 75 mm, que debe estar a una temperatura de 37°C. Se toma una gota (10µL) y se coloca sobre un portaobjeto precalentado a 37°C, se cubre la gota con un cubreobjetos, y se observa en microscopio óptico. Este parámetro se expresa en porcentaje (Agüero, 2012).

Se considera una motilidad individual muy buena a un valor de 80% a 100%, buena a 60% y 79%, regular 40% a 59% y malo menor a 40% de células móviles (Gómez, 2007).

- c) **Vitalidad:** esta característica mide el número de espermatozoides vivos y se expresa en porcentaje. Para medir la vitalidad de una muestra de semen, se utilizan colorantes vitales, tales como el colorante eosina-nigrosina, de tal forma que si la membrana celular del espermatozoide está dañada serán teñidos de color rosa, mostrándonos así a las células muertas. Mientras que los de membrana celular intacta quedan sin teñir, demostrando así su vitalidad del espermatozoide. La vitalidad de los espermatozoides que muestra el animal depende a su edad. En animales adultos se pueden observar menor porcentaje de células vivas. Mientras que en los animales jóvenes muestra un alto porcentaje de espermatozoides vivos. (Agüero, 2012).

Según Agüero (2012), califica el porcentaje espermatozoides vivos de muy buena calidad con un valor de 90 a 100%, buena de 70 a 89%, regular de 60 a 69% y mala menor a 50%.

- d) **Morfología:** esta característica mide el número de espermatozoides normales y anormales, se expresa en porcentaje. Para medir la morfología de una muestra de semen, se utiliza colorantes vitales, tales como el colorante eosina-nigrosina, el frotis se debe observar a un campo claro de 40X visualizando 5

campos. Para evaluar este parámetro se toma en cuenta la clasificación de mal formaciones específicas. (Muiño, 2009).

Agüero (2012), clasifica el porcentaje de espermatozoides normales y anormales en: muy buena de 90 a 100%, buena de 70 a 89%, regular de 60 a 69% y mala menor a 50% de espermatozoides normales.

e) **Concentración espermática:** La presencia de un mayor número de espermatozoides, siempre y cuando sus características sean normales, incrementa la posibilidad de fertilización. Este aspecto es crucial en el caso de los toros con baja concentración espermática, o en los casos en que se utiliza semen descongelado, que ha sido diluido y sometido a estrés durante el proceso de congelación-descongelación, provocando un daño irreversible en un porcentaje elevado de espermatozoides. (Hidalgo et al 2014). El conteo se lo realiza con la cama de conteo de glóbulos rojos. El valor normal del toro es de 800.000 a 1.3000.000 de espermatozoides /mm<sup>3</sup>. Esto varía de acuerdo a la edad del semental. (López J., s.f.)

Según Agüero, (2012), para determinar la concentración espermática, se utiliza la cámara de Neubauer; se diluye el semen 1:200, para la especie bovina. Para la dilución se utiliza NaCl- al 3%, realizándose la misma en un tubo de ensayo de 12 x 75 mm, con capacidad de 5 ml. Una vez diluido el semen e inmovilizados los espermatozoides, se toma una gota (10 µL) y se procedió a llenar las celdas de la cámara de Neubauer para realizar el conteo celular. La concentración espermática se calcula mediante el uso de la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración espermática (espermatozoides/mm}^3\text{)} = a \times b \times c \times d$$

Donde:

a= número de espermatozoides contados en 5 cuadrados.

b= 5, estima el total de cuadrantes de la cámara (n= 25 cuadros).

c= 200, ya que la dilución para el semen bovino es 1:200.

d= 10, representa la profundidad de la cámara, la cual es 0,1mm. Posteriormente, el resultado obtenido se multiplicó por 1000 para expresar el

valor de la concentración espermática en número de espermatozoides por milímetro.

### **3.10. Dilución del semen**

Cuando se tiene el semen en laboratorio analizamos su calidad y su concentración espermática, para observar la calidad con los parámetros de morfología, concentración, vitalidad se debe realizar la dilución con el fin de conocer si es apto para congelar (Carpio, 2015).

#### **3.10.1. Diluyente comercial para conservación de espermatozoides.**

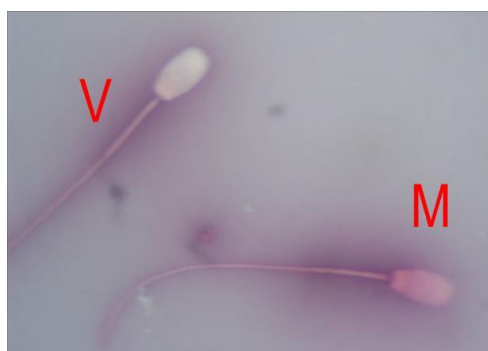
AndroMed (Minitube, Tiefenbach, Germany). Es un diluyente comercial para semen de toros y también utilizado exitosamente con semen de especies no bovinas, su presentación es en frascos de 200 ml. Posee las siguientes características:

- a) Es apropiado para la presentación de semen fresco a + 5°C hasta 10°C.
- b) Tiene ausencia de componentes de origen animal (tales como yema de huevo),
- c) Es medio altamente transparente que entrega imágenes de semen extremadamente claras bajo el microscopio (Minitube, 2003).

### **3.11. Eosina Nigrosina**

El colorante Eosina penetra a través de la membrana de los espermatozoides muertos tiñéndolos de color rosa, en tanto que los vivos permanecen incoloros. La Nigrosina, por otra parte, dibuja en azul oscuro el perfil de los espermatozoides vivos (García, 1993).

**Figura 5. Espermatozoide vivo y muerto teñido con Eosina Nigrosina**



*Fuente: elaboración propia (2018)*

### 3.12. Requerimiento nutricional del toro

Los requerimientos nutricionales del ganado bovino varían de acuerdo al tipo de explotación, tamaño, la edad y el estado fisiológico de los animales. Generalmente lo que comen nuestros animales no les llenan las necesidades diarias para que ellos produzcan eficientemente, ya sea porque hay poca disponibilidad de comida en los potreros, porque el forraje es de baja calidad o por ambas condiciones. Las necesidades nutricionales que más cuesta llenar a los animales en producción son la energía y proteína (Barrantes, s.f.).

**Cuadro 3. Requerimiento de nutrientes en bovinos reproductores**

Edad del toro	Peso del animal (Kg)	Aumento diario de peso (g)	Proteína (g)	Energía digestible (Mcal)
Toros en crecimiento (raza pequeña)	350	750	430	18,8
	400	700	450	20,6
Manutención de toros sementales adultos	700	-	390	26,9
	800	-	430	29,5

*Fuente: NRC, (1968).*



### **3.13. Efectos de la nutrición sobre la calidad del semen**

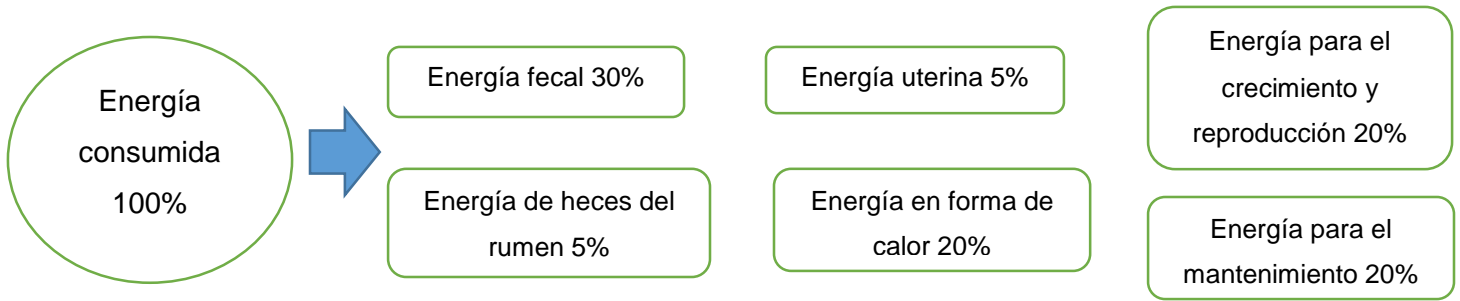
Las características asociadas con la calidad seminal del reproductor son afectadas, tanto por el aporte de la dieta, como por la disponibilidad y movilización de nutrientes en el organismo. El balance del sistema se logra satisfactoriamente, cuando los aportes del forraje resultan estables y de buena calidad. Por tanto, dietas mal balanceadas pueden tener un efecto determinante sobre la calidad del eyaculado al afectar la espermatogénesis y deteriorar las características microscópicas del semen, dado que los metabolismos proteico y energético se encuentran muy relacionados y la deficiencia primaria de uno, se traduce en la deficiente utilización del otro (Rugeles, 2012).

De igual manera en la pérdida de peso del animal, por falta de alimentación y deficiencia de nutrientes, hace que los testículos queden afectados con la disminución de producción de esperma. (Fimbres, 1996)

#### **3.13.1. Energía**

En la mayoría de las células animales ocurren reacciones químicas donde se consume moléculas orgánicas para liberar energía, esto ocurre en las mitocondrias. Cuando no hay glucosa u otros azúcares disponibles para utilizar en la respiración celular, las células pueden usar otras moléculas como combustible. Después de los azúcares (también conocidos como carbohidratos) se pasa a utilizar grasas (conocidos como lípidos). Cuando no quedan ni azúcares ni grasas disponibles, las células pueden utilizar proteínas en la respiración celular para conseguir energía. Pero este último caso es muy raro y solo se utiliza en ocasiones excepcionales ya que las proteínas son moléculas muy importantes para el organismo y, además, los procesos para sacar energía de ellas son mucho menos eficientes que en los casos anteriores (anónimo s.f.).

**Figura 6. Distribucion de energía en los animales**



*Fuente: Elaboración propia (2019)*

### 3.13.2. Efecto de la energía en la calidad del semen

Hafez (1993), indica que "cuando los toros y borregos adultos son alimentados con raciones bajas en energía por períodos prolongados, la lívido y la producción de testosterona son afectadas mucho antes que las características del semen. Los efectos de la desnutrición pueden corregirse en animales maduros, pero es más difícil en animales jóvenes por el daño permanente causado al epitelio germinal de los testículos".

Así, dietas híper-energéticas se asocian con deterioro de la calidad seminal en toretes púberes entre 11,5 y 13,5 meses de edad, sin embargo, es de considerar que, en esta etapa, los toros aún tienen cambios en la calidad seminal debido a la pubertad. Mayor potencial reproductivo en toros alimentados con dietas que aportan niveles moderados de energía (con base en 100% de forraje) que en los reproductores alimentados con dietas que ofrecen elevados niveles de energía (con base en granos 80% y forraje 20%), debido a que el exceso de energía en la dieta afecta la motilidad progresiva y la morfología espermática como producto de la acumulación de grasa a nivel escrotal, que interfiere con los mecanismos de termorregulación en el testículo (Rugeles, 2012).

### 3.13.3. Proteína

Las proteínas son las macromoléculas orgánicas más abundantes en el interior de la célula (50% del peso seco) de los animales. Las proteínas se encuentran entre los nutrientes más importantes junto a los lípidos y los carbohidratos. Estas moléculas contienen carbono, hidrogeno y oxigeno pero, además todas contienen nitrógeno. Las

proteínas se encuentran en todas las células vivas, estando estrechamente relacionado con la actividad que constituye la vida de la célula.

La clasificación de los aminoácidos son:

**Aminoácidos esenciales.** Los aminoácidos esenciales no los puede producir el cuerpo. En consecuencia, deben provenir de los alimentos, los 9 aminoácidos esenciales son: histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina.

**Aminoácidos no esenciales.** No esencial significa que nuestros cuerpos producen un aminoácido, aun cuando no lo obtengamos de los alimentos que consumimos. Los aminoácidos no esenciales incluyen: alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, prolina, serina y tirosina.

**Aminoácidos condicionales.** Los aminoácidos condicionales por lo regular no son esenciales, excepto en momentos de enfermedad y estrés, los aminoácidos condicionales incluyen: arginina, cisteína, glutamina, tirosina, glicina, ornitina, prolina y serina (McDonald, s.f.).

#### **3.13.4. Efecto de la proteína en la calidad del semen**

El exceso de proteína suministrada en la dieta puede deteriorar el rendimiento productivo del semental, al igual que su restricción en la dieta tiene efectos dañinos sobre la función sexual. Los suministros de dietas con elevados niveles de proteína ocasionan en el toro hipofunción gonadal e inhibición del factor liberador de hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH), reducción de la testosterona con alteraciones de la libido, la gametogénesis y la maduración espermática y ofrecidas durante el primer año de vida reducen a 50% o menos la proporción de eyaculados aptos para criopreservación y el número de dosis obtenidas por eyaculado. (Rúgeles, 2012).

La restricción proteica en la ración de los terneros tiene un efecto deletéreo en las funciones sexuales. El peso de las glándulas seminales, epidídimo y testículos fueron marcadamente menores en toros alimentados con niveles proteicos deficientes, y el

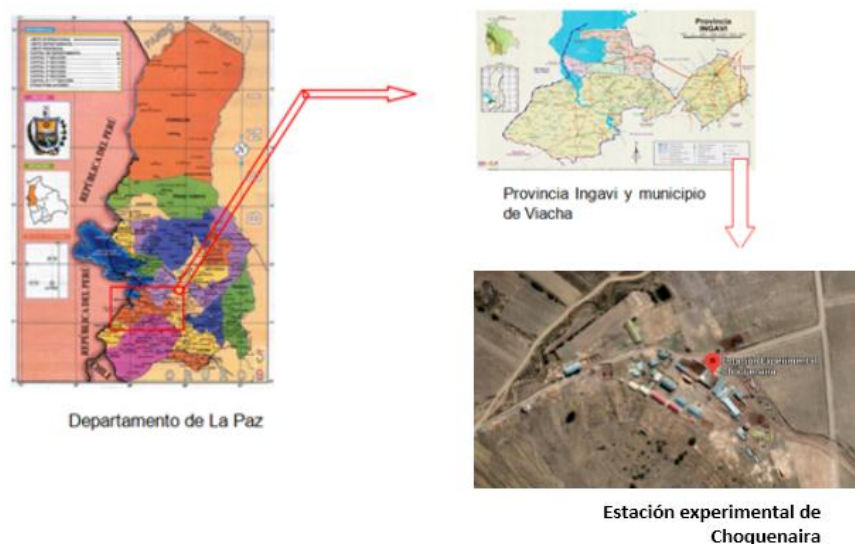
diámetro de los túbulos seminíferos y su epitelio fue menor también. Toros jóvenes con una dieta deficiente en proteína presentaron una baja en la libido y características del semen. Dietas altas en proteína no son esenciales para una producción óptima de esperma en el toro. A pesar de la habilidad natural del macho para mantener la producción de espermias y la secreción de testosterona dentro de los niveles bajos de nutrición, los machos jóvenes presentan retardo en el desarrollo sexual y retraso en la aparición de la pubertad (Fimbres, 1996).

## 4. LOCALIZACIÓN

### 4.1. Ubicación geográfica

El estudio se realizó en el laboratorio e instalaciones de la Estación Experimental de Choquenaira, dependiente de la Facultad de Agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés (U.M.S.A.), geográficamente está ubicado en el Altiplano central provincia Ingavi del departamento de La Paz, al Sur de la población de Viacha ubicado aproximadamente a 32 km al Sur- oeste de la ciudad de La Paz y a 6 kilómetros de la población de Viacha, entre los paralelos de 16°42 5" de latitud sur y 68°15 15" de longitud oeste y una altitud de 3870 msnm.

**Figura 7. Plano de ubicación de la Estación Experimental de Choquenaira**



*Fuente: Elaboración propia (2018)*

## **4.2. Características ecológicas**

### **4.2.1. Clima**

La temperatura mínima promedio es de 2.4 °C y la máxima promedio es de 17.6 °C, la humedad relativa media anual en la zona es de 38.8 %. Las precipitaciones son estacionales e irregulares en intensidad y periodicidad alcanzando un promedio anual de 349,10 mm, en los últimos años las precipitaciones se concentran en los meses de diciembre a marzo, alcanzando el 68 % de toda la precipitación. Con una velocidad de viento 9 km por hora (SENAMIHI, 2018).

### **4.2.2. Fisiografía**

La región está dada aproximadamente en un 21 % por serranías 79 % de planicies, que son aptos para la producción de cultivos agrícolas y las crianzas de animales mayores y menores. Las especies más representativas que componen la comunidad vegetal son de tipo herbáceos anuales y plurianuales y algunos de tipo arbustivas. Las plantas que predominan en las praderas nativas son las gramíneas y otras especies de importancia forrajera que desarrollan de manera irregular en altura y en poco volumen de fitomasa. (Mamani & Céspedes, 2012)

Según Paye (2006), en la región de Letanías existen especies tales como: Cebadilla, Ichu, Cola de ratón, Thola, Muni muni (*Bidens pilosa*), Lirio lirio (*Sisyrinchium andicola*), Reloj reloj (*Erodium cicutarium*), Diente de león (*Taraxacum officinalis*), k'anapaqu (*Sonchus oleraceus*), Paiqu (*Chenopodium ambrosoides*), Quinoa silvestre (*Chenopodium sp.*) y otras especies menores.

## 5. MATERIALES Y MÉTODO

### 5.1. Materiales

#### 5.1.1. Material biológico

Para la investigación se utilizaron 2 toros sementales, de raza Pardo Suizo con 3 años de edad y Holstein de 18 meses de edad mismos que pertenecen a la Estación Experimental Choquenaira.

**Figura 8. Sementales Pardo Suizo y Holstein**



*Fuente. Elaboración propia (2019)*

#### 5.1.2. Material para recolección de semen en campo

Los materiales utilizados para la colecta de semen fueron: vagina artificial, fundas de látex, tubos colectores graduados, embudo de látex, brete de sujeción, secadores, toallas de absorción, hornilla eléctrica.

#### 5.1.3. Material de laboratorio

- Autoclave
- Baño María
- Pinzas
- Balanza Analítica
- Termómetro digital
- pH-metro
- Microscopio óptico
- Porta y cubre objetos

- Tubos de ensayo
- Micro pipeta
- Matraz erlenmeyer de vidrio
- Papel de aluminio
- Vasos precipitados
- Probeta
- Cámara de Neubauer

#### **5.1.4. Reactivos**

- Dilutor comercial Andromed 200ml (Tilosina, Gentamicina, Espectromicina, Lincomicina)
- Aceite de inmersión
- Eosina nigrosina

#### **5.1.5. Insumos**

- Harina de soya
- Grano de cebada molido
- Maíz molido
- Sales minerales (fosvimin)
- Afrecho
- Ensilaje (avena y cebada)
- Heno (avena y cebada)

#### **5.1.6. Materiales de gabinete**

Los materiales de gabinete utilizados fueron: computadora e impresora, cuaderno de registro, cámara fotográfica.

### **5.2. Metodología**

#### **5.2.1. Procedimiento pre experimental**

Para comenzar la investigación se realizó desparasitación y vitaminización a los sementales, con el fin de prever problemas de salud durante la investigación. Seguidamente se los pesó obteniendo los datos de 790 kg en el Pardo Suizo (Líder) y 370 kg en el Holstein (Ringer).

### 5.2.1.1. Aporte de proteína y energía del alimento común

Al alimento común se lo designó como testigo, donde tiene un aporte de 18% PC y 3000 Kcal de ED.

En los siguientes cuadros se tiene la preparación del alimento común para los sementales Pardo Suizo con peso vivo de 790 Kg y Holstein 370 Kg.

**Cuadro 4. Cálculo de ración, Pardo Suizo– peso vivo 790 kg**

Insumo	Alimento	M.S. %	% PC	ED (Kcal)
ensilaje	100	16	6	598
		100	34,4	3743,7
	<b>8,09</b>	13,08	4,45	90,71
Heno Cebada	100	88	5	1130
		100	5,7	1284,09
	<b>0,9</b>	7,06	0,5	91,78
Heno Avena	100	87	3	1920
		100	3,4	2206,9
	<b>1,69</b>	15	0,51	378,86
Alfalfa	100	20	16	2900
		100	80	3100
	<b>4,95</b>	10	8,4	550,86
Maíz	100	89	7	3350
		100	7,86	3764,05
	<b>6,2</b>	54,86	4,31	1887,85
<b>Total Ofrecido</b>	<b>21,83</b>			
<b>Requerimiento</b>			<b>18,17</b>	<b>3000,06</b>

Fuente: Elaboración Propia (2018)



**Cuadro 5. Cálculo de ración, Holstein – peso vivo 370 kg**

Insumo	Alimento	M.S. %	% PC	ED (Kcal)
ensilaje	100	16	6	598
		100	34,4	3743,7
	<b>3,79</b>	13,08	4,45	90,71
Heno Cebada	100	88	5	1130
		100	5,7	1284,09
	<b>0,37</b>	7,06	0,5	91,78
Heno Avena	100	87	3	1920
		100	3,4	2206,9
	<b>0,79</b>	15	0,51	378,86
Alfalfa	100	20	16	2900
		100	80	3100
	<b>3,32</b>	10	8,4	550,86
Maíz	100	89	7	3350
		100	7,86	3764,05
	<b>2,86</b>	54,86	4,31	1887,85
<b>Total Ofrecido</b>	<b>11,13</b>			
<b>Requerimiento</b>			<b>18,17</b>	<b>3000,06</b>

Fuente: Elaboración Propia (2018)

### 5.2.1.2. Preparación de las raciones

El preparado de la ración se realizó en programa Excel, con el método de prueba y error. La relación concentrado/forraje fue 20/80 en la dieta proteica y 25/75 de la dieta energética. Logrando alcanzar niveles de 20% de proteína cruda y 3200 Kcal de energía digestible.

### 5.2.1.3. Elaboración de la dieta energética (T1)

Para elaborar la ración se tiene que igualar al 16% de proteína cruda y 3200 Kcal de energía digestible, teniendo un 11% de proteína por debajo del requerimiento (T0) y un 7% de ED Kcal por encima del requerimiento (T0). Para obtener el tal como ofrecido se realizó el cálculo del consumo de alimento en base a la materia seca de 2,7% MS de acuerdo al peso vivo del animal.

En el siguiente cuadro se tiene la ración preparada para el semental Pardo Suizo, con peso vivo de 790 kg.

**Cuadro 6. Calculo de ración, Pardo suizo - Peso vivo 790 kg**

Insumo	Alimento Kg	M.S. %	% PC	ED (Kcal)
Ensilaje	100	16	5,5	598
		100	37,5	3737,5
	<b>55,32</b>	41,5	13,9	1382,88
Heno Cebada	100	88	5	1130
		100	5,7	1284,09
	<b>0,48</b>	2	0,1	25,68
Heno Avena	100	87	3	1920
		100	3,4	2206,9
	<b>7,72</b>	31,5	1,1	695,17
Afrecho	100	88	14	2640
		100	15,9	3000
	0,24	1	0,2	30
Grano cebada	100	89	10	3300
		100	11,2	3707,87
	<b>0,96</b>	4	0,4	1148,31
Maíz	100	89	7	3350
		100	7,9	3764,04
	<b>4,79</b>	20	1,6	752,81
<b>Total Ofrecido</b>	<b>69,51</b>			
<b>Requerimiento</b>			<b>17,3</b>	<b>3205,6</b>

Fuente: Elaboración Propia (2018)

En el siguiente cuadro se tiene la ración preparada para el semental Holstein, con peso vivo de 420 kg.

**Cuadro 7. Calculo de ración, Holstein – peso vivo 420 kg**

Insumo	Alimento	M.S. %	% PC	ED (Kcal)
Ensilaje	100	16	5,5	599
		100	34,4	3743,75
	<b>29,41</b>	41,5	14,3	1553,66
Heno Cebada	100	88	5	1130
		100	5,7	1284,09
	<b>0,26</b>	2	0,1	25,68
<b>Heno Avena</b>	100	87	3	1920

		100	3,4	2206,9
	<b>4,11</b>	31,5	1,1	695,17
<b>Afrecho</b>	100	88	14	2640
		100	15,9	3000
	<b>0,13</b>	1	0,2	30
<b>Grano cebada</b>	100	89	10	3300
		100	11,2	3707,87
	<b>0,51</b>	4	0,4	1148,31
<b>Maíz</b>	100	89	7	3350
		100	7,9	3764,04
	2,55	20	1,6	752,81
<b>Total Ofrecido</b>	<b>36,97</b>			
<b>Requerimiento</b>			<b>17,5</b>	<b>3205,6</b>

Fuente: Elaboración Propia (2018)

#### 5.2.1.4. Elaboración de dieta proteica (T2)

Para elaborar la ración se tiene que igualar al 20% de proteína cruda y 2800 Kcal de energía digestible, teniendo un valor de 11% PC por encima del requerimiento (T0) y 7% de ED Kcal por debajo del requerimiento. Para obtener el tal como ofrecido se realizó el cálculo del alimento en base a la materia seca 2,7% y peso del animal.

En el siguiente cuadro se tiene la ración preparada para el semental Pardo Suizo, con peso vivo de 760 kg.

**Cuadro 6. Cálculo de ración, Pardo suizo - Peso vivo 760kg**

Insumo	Alimento	M.S. %	% PC	ED (Kcal)
<b>Ensilaje</b>	100	16	6	598
		100	37,5	3737,5
	<b>47,45</b>	37	13,9	1382,88
<b>Heno Cebada</b>	100	88	5	1130
		100	5,7	1284,09
	<b>4,2</b>	18	1	231,14
<b>Heno Avena</b>	100	87	3	1920
		100	3,4	2206,9
	<b>5,9</b>	25	0,9	551,72
<b>Afrecho</b>	100	88	14	2640
		100	15,9	3000
	<b>0,47</b>	2	0,3	60
<b>Torta de soya</b>	100	89	46	2740

		100	51,7	3764,04
	<b>1,61</b>	7	3,6	215,51
	100	89	7	3350
<b>Maíz</b>		100	7,9	3764,04
	<b>2,54</b>	11	0,9	414,04
<b>Total Ofrecido</b>	<b>62,17</b>			
<b>Requerimiento</b>			20,6	2855,3

Fuente: Elaboración Propia (2018)

En el siguiente cuadro se tiene la ración preparada para el semental Holstein, con peso vivo de 370 kg.

**Cuadro 7. Calculo de ración, Holstein - Peso vivo 370 kg**

Insumo	Alimento	M.S. %	% PC	ED (Kcal)
	100	16	6	598
<b>Ensilaje</b>		100	37,5	3737,5
	<b>23,1</b>	37	13,9	1382,88
	100	88	5	1130
<b>Heno Cebada</b>		100	5,7	1284,09
	<b>2,04</b>	18	1	231,14
	100	87	3	1920
<b>Heno Avena</b>		100	3,4	2206,9
	<b>2,87</b>	25	0,9	551,72
	100	88	14	2640
<b>Afrecho</b>		100	15,9	3000
	<b>0,23</b>	2	0,3	60
	100	89	46	2740
<b>Torta de soya</b>		100	51,7	3078,65
	<b>0,79</b>	7	3,6	215,51
	100	89	7	3350
<b>Maíz</b>		100	7,9	3764,04
	<b>1,23</b>	11	0,9	414,04
<b>Total Ofrecido</b>	<b>30,26</b>			
<b>Requerimiento</b>			20,6	2855,29

Fuente: Elaboración Propia (2018)

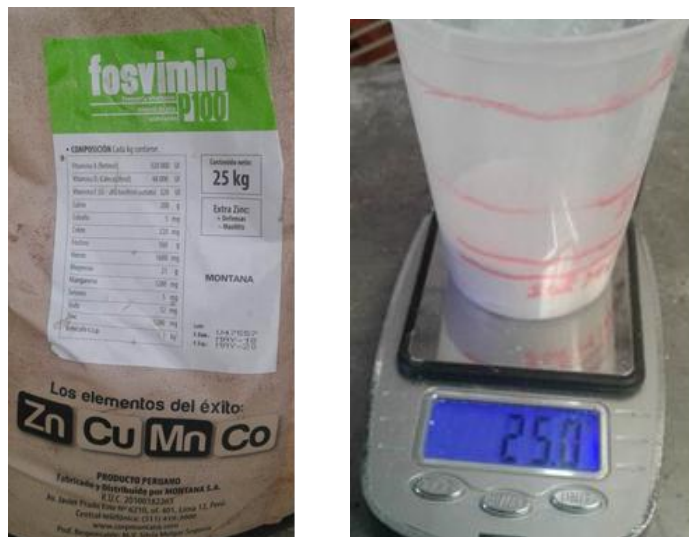
**Figura 9. Alimento concentrado energético y proteico**



*Fuente: elaboración propia (2019)*

Preparado el alimento con los insumos requeridos, se aplicó sales minerales con una dosis de 25 gr por cada 5 kg de balanceado como alimento suplementario. La administración y dosis recomendada por la sal comercial es de 5 a 10 Kg por cada tonelada de alimento. Para una mejor palatabilidad se administró sal común.

**Figura 10. Sales minerales**



*Fuente: elaboración propia (2019)*

#### **5.2.1.5. Periodo de adaptación del semental con el alimento requerido.**

La adaptación a la nueva dieta fue por un tiempo de 20 días. Esto con el fin de preparar a su metabolismo y afecte mejor al desarrollo de la espermatogénesis para el momento de la colecta. El suministro de agua fue ad libitum.

**Figura 11. Periodo de adaptación del alimento balanceado a los sementales**



*Fuente: elaboración propia (2018)*

## **5.2.2. Procedimiento experimental**

La fase experimental se tomó en cuenta desde el comienzo de la colecta de semen del testigo T0, después de proporcionar los tratamientos correspondientes, se colectó las muestras por tratamiento a su debido tiempo.

### **5.2.2.1. Alimento testigo:**

El alimento testigo fue el proporcionado diariamente a los toros, se consideró como testigo T0, la dieta consta de ensilaje y heno suministrados por las mañanas y por las tardes 4 horas de pastoreo en los alfalfares. Teniendo un aporte proteico de 18% y 3000 kcal de energía.

### **5.2.2.2. Alimentación del semental con suplemento energético**

En la siguiente figura se tiene la programación de 39 días para las colectas de las muestras del (T1)



tercera muestra y el día 39 la cuarta muestra. Cada muestra colectada se llevó a laboratorio y se obtuvo los resultados de los análisis correspondientes.

#### **5.2.2.4. Preparación de los sementales para la colecta del semen**

Primero se realizó el lavado del prepucio con agua potable. Quitando así cualquier tipo de contaminación. Se secó a medio ambiente por 20 minutos, siguiendo el cortado del exceso de pelos del prepucio.

#### **5.2.2.5. Proceso de colección del semen**

Las colectas se realizó con intervalos de 7 días y se valoraron todas las características macro y microscópicas de cada uno de los eyaculados.

Las muestras de semen se obtuvieron utilizando vagina artificial, que está compuesto por un cuerpo rígido de caucho, una válvula exterior, una funda de látex. En el extremo de la vagina artificial se acopla un cono flexible de látex y un tubo colector graduado protegido con una funda térmica para la protección de la luz y la temperatura.

**Figura 14. Vagina Artificial**



*Fuente: elaboración propia (2019)*

Se realizó la sujeción de la hembra para el estímulo del toro. Una vez que el semental monta a la hembra se desvió el pene hacia la vagina artificial, hasta que efectué el golpe del riñón acompañado de la eyaculación, posterior se retiró la vagina artificial, rápidamente se llevó al laboratorio.



**Figura 15. Colecta de semen**



*Fuente: elaboración propia (2018)*

#### **5.2.2.6. Manejo del semen eyaculado**

- La vagina artificial al momento de la colecta de semen la temperatura fue de 42 a 45 °C, la presión ha sido regulada de acuerdo al reproductor.
- El semen colectado debe estar a una temperatura mínima de 35°C y un máximo de 38°C.
- Se evitó la exposición directa de la muestra del semen al sol.
- Se evitó el contacto con la orina, bosta o cualquier contaminante.

#### **5.2.2.7. Análisis de semen fresco colectado**

Tras la colecta de cada eyaculado se llevó inmediatamente a laboratorio para valorar las características macro y microscópicas de cada uno de los eyaculados, con el objetivo de determinar la calidad espermática.

#### **5.2.2.8. Características macroscópicas**

Para el examen macroscópico se valoraron los siguientes parámetros: Volumen, color, pH y densidad.

- a) **Volumen:** Se realizó con tubo graduado y el valor se obtuvo a través de la lectura directa el cual se expresó en mililitros (ml).

- b) **Color:** Se evaluó por medio de la visualización directa del eyaculado dentro del tubo colector. La calificación se realizó de acuerdo por categorías.
- c) **Densidad:** se determinó de acuerdo a la concentración obtenida
- d) **pH:** Se midió con el pHmetro. De acuerdo a la figura 16

**Figura 16. Medida del pH con papel peachimetro**



*Fuente: elaboración propia (2018)*

#### **5.2.2.9. Características microscópicas**

Para la valoración microscópica de semen fresco se estudiaron las siguientes características: concentración, motilidad en masa, motilidad individual, morfología, vitalidad.

- a) **Motilidad masal:** la evaluación de la motilidad masal se observó en un microscopio óptico de campo claro, colocando una gota de semen en el portaobjeto tibio y sin cubre objeto, usando aumento de (10x), donde se determinó los movimientos en remolino y la velocidad de los espermatozoides. Se observaron en 10 campos para proporcionar la estimación del porcentaje de motilidad masal.
- b) **Motilidad individual:** La evaluación de la motilidad individual se realizó mediante un microscopio óptico de campo claro, usando aumento de (40x) donde se determinó los movimientos progresivos de los espermatozoides. Se

colocó una gota de semen sobre el porta objetos atemperado y se usó un cubreobjetos para extender la muestra, se observaron 10 campos extensamente espaciados para proporcionar una estimación del porcentaje de motilidad de espermatozoides con movimiento progresivos.

**Figura 17. Movimiento progresivo de los espermatozoides**



*Fuente: Elaboración propia (2018)*

- c) **Vitalidad:** Se colocó una gota de semen a un porta objetos con una gota de eosina-nigrosina, se homogenizo (mezcla) luego se realizó un frotis, posteriormente se colocó una gota de aceite de inmersión, luego se llevó al microscopio y se observó en 10 puntos de la muestra llegando a observar 100 espermatozoides. Llegando a observar espermatozoides teñidos de rosado significando la muerte del espermatozoide y otros blancos lo que muestra los espermatozoides vivos.

**Figura 18. Conteo de espermatozoides vivos y muerto**



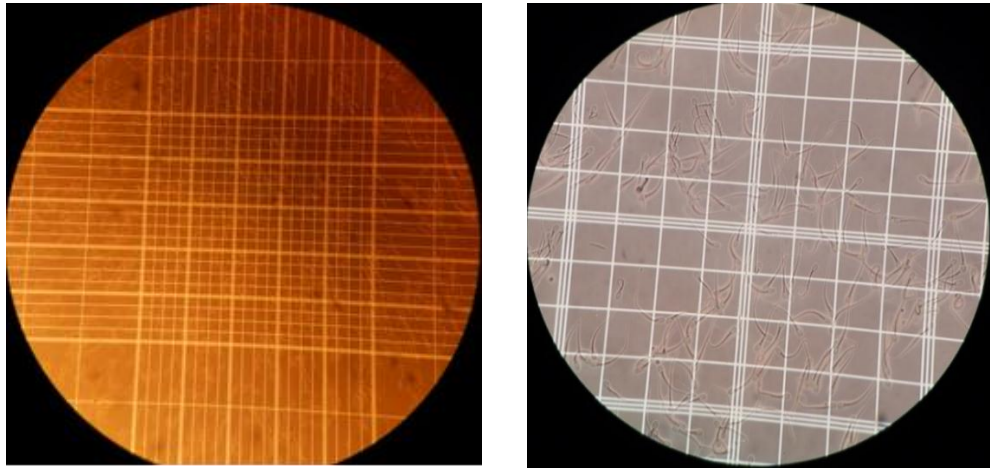
**Fuente: elaboración propia (2018)**

d) **Concentración:** La concentración espermática se determinó por el método hemocitométrico que consiste en el conteo de espermatozoides por unidad de volumen que multiplicado por volumen permite conocer el número total de espermatozoides por eyaculado. Se procedió a homogenizar la muestra de semen agitando suavemente el tubo colector cónico, luego se realizó la dilución, utilizando agua fría estéril. Con la pipeta de dilución de glóbulos rojos se aspiró cuidadosamente el semen y el líquido diluyente por separado, hasta obtener una dilución estándar de 1: 100 agitando por segundos. Posteriormente se llevó a observar a la cámara de Neubauer colocando 10 ul de muestra de semen diluido, se dejó reposar para después realizar el conteo de espermatozoides en cinco cuadrantes.

Para obtener el número de espermatozoides por milímetro cúbico se empleó la fórmula propuesta por Sorensen (1982).

$$\text{N}^{\circ} \text{ Espermatozoides} \times 50 \times 100 \times 1000 = \text{espermatozoides/milímetro}$$

**Figura19. Conteo de los espermatozoides en la cámara de Neubauer**



*Fuente: Elaboración propia (2018)*

#### **5.2.2.10. Cálculo del dilutor base**

El dilutor utilizado fue Andromed. La preparación es un porcentaje de agua destilada mezclado con el dilutor. La proporción preparada fue:

20 ml del dilutor Andromed para 115 ml de agua destilada, teniendo un total de 135ml del dilutor base.

Preparación del dilutor de la yema de huevo, primero se lavó con jabón neutro los huevos frescos de preferencia de gallina criolla seguido de eso se sacó la yema con ayuda de papel secante a un vaso de precipitado.

Luego se diluyo con el dilutor base de Andromed utilizando las siguientes proporciones: 90ml del dilutor Andromed colocar 10ml de yema. Obteniendo un total de 100ml de dilutor.

Para obtener un producto homogéneo se colocó a la centrifugadora en tubos de ensayo, a 1000 revoluciones por 10 minutos.

Cumplido los 10 minutos se sacaron los tubos de ensayo y con ayuda de una pipeta milimétrica, se sacó la parte de líquida limpia a una probeta, dejando la parte precipitada de contaminantes y semisólidos.

### 5.2.2.11. Dilución del semen

El tubo colector con la muestra de semen y la probeta con el dilutor se colocaron en baño María a 37°C. El semen se diluyó a 37°C. Empezando con proporciones de 1:1 (semen y dilutor). Se homogeneizó suavemente el semen y el diluyente mediante una agitación manual.

El semen parcialmente diluido se enfrió gradualmente a temperatura ambiente hasta 5°C en un tiempo de 45 a 50 minutos. El semen enfriado se diluyó lentamente, mediante la adición del diluyente de la yema de huevo. Para realizar la adición se agregó en cuatro porciones iguales a intervalos de 10 minutos, mezclando después de cada adición.

### 5.2.3. Análisis estadístico

Medidas repetidas en el tiempo realiza la comparación de los efectos de los tratamientos sobre los participantes.

#### 5.2.3.1. Modelo lineal aditivo

$$Y_{ij} = \mu + \beta + \alpha + \varepsilon$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Una observación en la j-esima tiempo con el i-esimo tratamiento.

$\mu$  = media general

$\beta$  = efecto J- esimo tiempo

$\alpha$  = efecto i-esimo tratamientos

$\varepsilon$  = error experimental

- **Tratamientos**

T0= testigo (alimento común 18% PC – 3000 Kcal ED)

T1= tratamiento 1 (alimento energético 16% PC – 3200 Kcal ED)

T2= tratamiento 2 (alimento proteico 20% PC – 2800 Kcal ED)

### **5.2.3.2. Análisis estadístico**

En el presente trabajo se realizaron los siguientes análisis estadísticos: para las variables macroscópicas y microscópicas se realizó el análisis de varianza con las fuentes de variación de fechas (días), Tratamientos (con alimento proteico y energético); se realizó el análisis de comparación de promedios de FSD Fisher al 5% de probabilidad para los factores que reportaron diferencias estadísticas.

## **6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Para la interpretación de resultados los toros serán representados por: Pardo suizo (Líder) representara I y Holstein (Ringer) representara II.

A continuación, se describen los resultados del trabajo en dos tiempos, en una primera instancia donde el toro (I) se le administró el (T1) y el toro II se le administró el (T2). En el segundo tiempo el toro I se le suministró el (T2) y el toro II se le suministró el (T1). Para ambos tiempos se describen los análisis cuantitativos y cualitativos de las características macroscópicas y microscópicas.

### **6.1. Resultados del Pardo Suizo (Líder)**

#### **6.1.1. Características macroscópicas**

##### **6.1.1.1. Color del semen fresco**

En laboratorio se obtuvo los siguientes colores de acuerdo a los tratamientos y tiempos.

**Cuadro 8. Color del semen (Pardo suizo - I)**

<b>T0</b>	<b>T1</b>			<b>T2</b>		
<b>Color</b>	<b>Muestra</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>Color</b>	<b>Muestra</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>Color</b>
Blanco cremoso	1	24	Blanco cremoso	1	24	Creinoso
	2	32	Creinoso	2	32	Blanco cremoso
	3	39	Blanco cremoso	3	39	Blanco cremoso

**Fuente: Elaboración Propia (2019)**

De acuerdo al T0 (testigo) se observó un color de blanco cremoso, en comparación al T1 (alimento energético) y respecto al tiempo (24, 32 y 39 días) se obtuvieron los colores de blanco cremoso, cremoso y blanco cremoso respectivamente. Y con el T2 (alimento proteico) respecto al tiempo (24, 32 y 39 días) se obtuvieron los colores cremosos, blancos cremosos y blancos cremosos respectivamente.

Según Agüero (2012) son considerados buenos y normales los colores blanco marfil, blanco cremoso y blanco amarillento.

Esta característica macroscópica (color de semen) con ambos tratamientos muestran una buena calidad mostrando colores de blanco cremoso y cremoso como aspectos cualitativos óptimos para obtener una buena calidad en la concentración espermática.

#### **6.1.1.2. Aspecto del semen fresco**

Datos obtenidos del aspecto del semen del toro en laboratorio fueron:



**Cuadro 9. Aspecto del semen (Pardo suizo - I)**

<b>T0</b>	<b>T1</b>			<b>T2</b>		
<b>Densidad</b>	<b>Muestra</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>Densidad</b>	<b>Muestra</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>Densidad</b>
Muy denso	1	24	Denso	1	24	Muy denso
	2	32	Muy denso	2	32	Denso
	3	39	Denso	3	39	Denso

**Fuente: Elaboración Propia (2019)**

De acuerdo al T0 (testigo) muestra un aspecto muy denso, en comparación con el T1 (alimento energético) respecto al tiempo (24, 32 y 39 días) se obtuvo datos de denso, muy denso y denso respectivamente. Y con el T2 (alimento proteico) respecto al tiempo (24, 32 y 39 días) se obtuvo datos de muy denso, denso y denso respectivamente.

Gómez (2004) califica al semen como muy buena (muy denso) al semen granuloso presentando buena concentración espermática, buena (denso) al semen opaco lechoso presentando buena concentración espermática, regular (lechoso) al semen como la leche aguada con poca concentración conteniendo más plasma.

El aspecto del semen junto al color puede mostrar la concentración de espermatozoides. Mientras más espeso o denso sea el semen mayor posibilidad de obtener más cantidad de semen diluido por lo cual la concentración espermática será mayor. Los animales jóvenes en su mayoría muestran un aspecto semidenso, mientras que en animales adultos su aspecto del semen es más denso.

### **6.1.1.3. Volumen**

Los datos obtenidos en laboratorio del volumen del semen con respecto a los tratamientos fueron:

**Cuadro 10. Resultados del volumen del semen**

Tratamiento	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Alimento energético (T1)	10 ml	7 ml	6 ml
Alimento proteico (T2)	7,5 ml	6 ml	5 ml

Fuente: Elaboración Propia

**Cuadro 11. Análisis de la Varianza del Volumen del semen (Pardo suizo)**

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Tratamiento	10,10	2	5,05	20,19	0,0182 *
Tiempo	11,08	2	5,54	22,17	0,0160 *
Error	0,75	3	0,25		
Total	21,93	7			

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**CV= 7,83**

De acuerdo a los resultados del análisis de la varianza a nivel de 5% se presentó diferencia entre tratamientos ( $P < 0,05$ ), indica que los tratamientos afectan en el volumen del semen del bovino.

Por otra parte, al nivel de 5% se evidencian que el tiempo influye en el volumen del semen ( $P < 0,05$ ).

**Cuadro 12. Prueba de comparación de medias para el volumen del semen (Pardo suizo)**

Tratamiento	Volumen (ml)	N	Duncan $\alpha=0.01$
T1	<b>7,67</b>	3	A
T2	<b>6,17</b>	3	A B
T0	<b>4,80</b>	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

Fuente: Elaboración Propia (2019)

El tratamiento 1 (Energía 3200kcal) tiene mayor efecto positivo con el valor de 7,67ml del volumen eyaculado, indicándonos un parámetro bueno, en comparación a los tratamientos T2 (alimento proteico) y T0 (testigo) con 6,17 y 4,80 respectivamente.

Artia, (2017) menciona que el volumen promedio ronda en los 5 o 6 mililitros dentro de un rango de 4 a 12 mililitros. Cuando los toros son jóvenes tienden a producir eyaculados menos voluminosos, pero esto cambia a partir del segundo año de vida, cuando debe ser mayor a 4 ml. El eyaculado se puede ver afectado también por la recolección exagerada de semen produciendo un agotamiento del animal.

A mayor energía las células epiteliales de la vesícula seminal producirán un 60% del plasma seminal. Y en el testículo en la parte de los tubos seminíferos se realizará la división celular en las etapas de proliferación, la meiosis I y meiosis II

#### 6.1.1.4. PH del semen

Los datos obtenidos en laboratorio del pH del semen de acuerdo al tratamiento y tiempo fueron:

**Cuadro 13. pH del semen fresco (Pardo suizo)**

<b>T0</b>	<b>T1</b>			<b>T2</b>		
<b>pH</b>	<b>Muestra</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>pH</b>	<b>Muestra</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>pH</b>
6,8	1	24	6,8	1	24	6,9
	2	32	6,8	2	32	6,9
	3	39	6,9	3	39	6,9

Fuente: Elaboración Propia (2019)

Fimbres, (1996) afirma que los niveles de energía y proteína no influyen en el pH del semen en distintas especies. Esto se mantiene con 6.9 a 7,3.

Afirmativamente las dietas no influyen en el cambio del pH del semen. Los espermatozoides pueden sobrevivir a medio alcalino. Es por eso que el semen no puede llegar a un pH de 6,6 porque se produciría la debilidad y muerte de las células.

## 6.1.2. Características microscópicas

### 6.1.2.1. Vitalidad

Los datos obtenidos en laboratorio de la vitalidad de los espermatozoides de acuerdo al tratamiento y tiempo fueron:

**Cuadro 14. Datos de laboratorio de la vitalidad espermática**

Tratamiento	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Alimento energético (T1)	77%	80%	80%
Alimento proteico (T2)	83%	79%	80%

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**Cuadro 15. Análisis de la Varianza de la vitalidad espermática (Pardo suizo)**

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Tratamiento	36,54	2	18,27	7,83	0,0645 NS
Tiempo	2,33	2	1,17	0,50	0,6495 NS
Error	7,00	3	2,33		
Total	45,88	7			

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**CV= 1.88**

De acuerdo a los resultados del análisis de la varianza a nivel de 5% se concluyó que no hay diferencia entre tratamientos ( $P>0,05$ ) en la vitalidad de los espermatozoides.

Por otra parte, al nivel de 5% se concluyó que no hay diferencia entre los tiempos ( $P>0,05$ ) en cuanto a la vitalidad de los espermatozoides.

**Cuadro 16. Pruebas de comparación de medias para la vitalidad espermática (Pardo suizo)**

Tratamiento	Vitalidad (%)	n	Duncan $\alpha=0.01$
T0	<b>85,00</b>	2	A
T2	<b>80,67</b>	3	A
T1	<b>79,67</b>	3	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

De acuerdo a la prueba estadística los tratamientos se clasificaron en un grupo. Respecto a las medias el T0 (testigo) tiene el valor de 85% de espermatozoides vivos en comparación del T2 (alimento proteico) y T1 (alimento energético), 80,67% y 79,67% respectivamente.

Rugeles (2012), menciona que el porcentaje de viabilidad espermática es mayor cuando las dietas son bajas en energía (1300 Kcal) EM y proteína (6%).

De acuerdo a los resultados la dieta energética y proteica no afecto en la vitalidad espermática, el porcentaje de espermatozoides vivos en el eyaculado depende de las características genéticas y características externas como el medio ambiente y la edad del toro. En la comparación de medias el testigo tiene mayor viabilidad con respecto a los demás tratamientos.

#### **6.1.2.2. Motilidad individual**

Los datos obtenidos en laboratorio de la motilidad individual progresiva de los espermatozoides con respecto al tratamiento y tiempo fueron:

**Cuadro 17. Datos de laboratorio de la motilidad individual de los espermatozoides**

<b>Tratamientos</b>	<b>Muestra 1</b>	<b>Muestra 2</b>	<b>Muestra 3</b>
Alimento energético (T1)	84%	85%	85%
Alimento proteico (T2)	78%	80%	79%

**Fuente: Elaboración Propia (2019)**

**Cuadro 18. Análisis de la Varianza de la motilidad individual de los espermatozoides (Pardo suizo)**

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	49,21	2	24,60	221,44	0,0006 **
Tiempo	2,33	2	1,17	10,50	0,0442 *
Error	0,33	3	0,11		
Total	51,88	7			

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**CV= 0.41**

Los resultados nos muestran que a nivel de 1% hay diferencia entre los tratamientos ( $P < 0,01$ ), en la motilidad individual de los espermatozoides. A nivel de 5% hay diferencia entre tiempos ( $P < 0,05$ ), en la motilidad individual de los espermatozoides.

**Cuadro 19. Prueba de comparación de medias para la motilidad individual (Pardo suizo)**

<b>Tratamiento</b>	<b>Motilidad ind. (%)</b>	<b>N</b>	<b>Duncan <math>\alpha=0.01</math></b>
T1	<b>84,67</b>	3	A
T0	<b>81,00</b>	2	B
T2	<b>79,00</b>	3	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

Fuente: Elaboración Propia (2019)

De acuerdo a las pruebas estadísticas los tratamientos se clasifican en tres grupos indicando que si existe diferencias entre los tratamientos. En cuanto a las medias el T1 (alimento energético) obtuvo un 84,67% de motilidad individual progresiva es mayor con respecto al (testigo) y (alimento proteico).

El mayor porcentaje de motilidad individual rápida progresiva fue encontrada en los eyaculados de la dieta de 6% de proteína cruda y 1300 Kcal de energía metabolizable (Rugeles, 2012).

La motilidad espermática dependerá de la madurez del espermatozoide. El epidídimo es un órgano que tiene la función de hacer madurar y activar al espermatozoide entre 15 a 16 días. Este órgano está compuesto por epitelios cilíndricos, por lo cual para la mejor fusión de este tejido se requiere de energía.

### 6.1.2.3. Morfología

Los datos obtenidos en laboratorio de la morfología de los espermatozoides con respecto a los tratamientos y tiempo fueron:

**Cuadro 20. Datos de laboratorio de la morfología de los espermatozoides**

Tratamiento	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Alimento energético (T1)	85%	83%	82%
Alimento proteico (T2)	78%	80%	82%

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**Cuadro 21. Análisis de la Varianza de la normalidad espermática (Pardo suizo)**

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Tratamiento	97,33	2	48,67	11,84	0,0377 *
Tiempo	0,33	2	0,17	0,04	0,9608 NS
Error	12,33	3	4,11		
Total	110,00	7			

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**CV= 2.43%**

De acuerdo al análisis de varianza los resultados nos muestran que a nivel de 5% hay diferencia entre los tratamientos ( $P < 0,05$ ) en cuanto a la morfología de los espermatozoides. En cuanto al nivel de 5% no hay diferencia entre tiempos ( $P > 0,05$ ), en la morfología de los espermatozoides.

**Cuadro 22. Pruebas de comparación de medias para morfología espermática (Pardo suizo)**

Tratamiento	Morfología (%)	n	Duncan $\alpha=0.01$
T0	<b>89,00</b>	2	A
T1	<b>83,33</b>	3	A
T2	<b>80,00</b>	3	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

Fuente: Elaboración Propia (2019)

El espermatozoide bovino se caracteriza por poseer una cabeza oval y aplanada, una pieza intermedia y una cola. La cola, como en las demás especies, está formada por

el cuello, que une la cabeza con los segmentos principales, medio y caudal de la cola. En el bovino, el mínimo porcentaje aceptado de espermatozoides normales es 70 % (Hafez, 2012).

Rugeles, (2012), menciona que mayor porcentaje de anomalías en animales se debe a la alimentación con mayor contenido de energía. Cuando los niveles de energía no son suficientes se afectan los mecanismos endocrinos por lo que disminuye la secreción de testosterona y gonadotropina así también las dietas de alto contenido proteico tienen efecto negativo.

Las dietas no afectaron en la morfología espermática, los toros jóvenes en desarrollo presentan un porcentaje de normalidad de hasta 97%, es recomendable que el toro no presente un porcentaje de normalidad menor a 85%.

Si se tiene resultados de baja normalidad espermática se debe a los factores climáticos, fisiología del animal o la alimentación, el exceso de energía llena de grasa al escroto impidiendo un buen desarrollo de las células. El exceso de proteína cambia el pH de los tejidos del testículo afectando a la fertilidad y desarrollo de los espermatozoides.

#### 6.1.2.4. Concentración

Los datos obtenidos en laboratorio de la concentración espermática de acuerdo a los tratamientos y tiempos fueron:

**Cuadro 23. Datos de laboratorio de la concentración espermática**

Tratamiento	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Alimento energético (T1)	708.000.000/ml	1.080.000.000/ml	730.000.000/ml
Alimento proteico (T2)	985.000.000/ml	870.000.000/ml	880.000.000/ml

**Fuente: Elaboración Propia (2019)**



**Cuadro 24. Análisis de la Varianza) de la concentración espermática (transformación  $\sqrt{x}$ ) (Pardo suizo)**

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Tratamiento	1,757E+17	2	8,784E+16	4,13	0,1375 NS
Tiempo	3,142E+16	2	1,571E+16	0,74	0,5485 NS
Error	6,382E+16	3	2,127E+16		
Total	2,709E+17	7			

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**CV= 15.21**

De acuerdo a los resultados de análisis de varianza a nivel de 5% no hay diferencia entre los tratamientos ( $P > 0,05$ ), en cuanto a la concentración de los espermatozoides. A nivel de 5% no hay diferencia entre tiempos ( $P > 0,05$ ), en cuanto a la concentración de los espermatozoides.

**Cuadro 25. Pruebas de comparación de medias para concentración espermática (Pardo suizo)**

Tratamiento	Concentración (esp/ml)	N	Duncan $\alpha=0.01$
T0	<b>1,210E+09</b>	2	A
T2	<b>9,117E+08</b>	3	A
T1	<b>8,393E+08</b>	3	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

Fuente: Elaboración Propia (2019)

De acuerdo a las pruebas estadísticas el tratamiento se clasifica en un grupo. Respecto a las medias el T0 (testigo) con 1,210E+09 de concentración espermática es mayor en comparación al (alimento proteico) y (alimento energético), 9,117E+08 y 8,393E+08 respectivamente.

Dietas balanceadas con pastos ricos en energía, y un adecuado porcentaje de proteína, son benéficas en el inicio de la pubertad, ya que favorecen un desarrollo testicular más rápido, especialmente durante edades entre 10 y 15 meses. Mejorando así la concentración espermática, la morfología y la motilidad individual. (Lozano, 2009)

Las dietas energética y proteica no influyeron en la concentración espermática en el Pardo Suizo, un factor importante es la edad, Lozano (2009), menciona que un buen

desarrollo testicular se da entre las edades de 10 a 15 meses, en cambio el toro presentaba una edad de 30 meses aproximadamente. Por el motivo que la dieta energética no pudo influir en el desarrollo de los tejidos testiculares.

#### 6.1.2.5. Motilidad masal (M.M.)

Los datos obtenidos en laboratorio de la motilidad masal de los espermatozoides de acuerdo a los tratamientos y tiempos fueron:

**Cuadro 26. Datos de laboratorio de la motilidad masal espermática**

Tratamientos	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Alimento energético (T1)	4%	5%	4%
Alimento proteico (T2)	5%	5%	4%

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**Cuadro 27. Análisis de la Varianza de la motilidad masal de los espermatozoides (Pardo suizo)**

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,54	2	0,27	2,44	0,2351 NS
Tiempo	1,00	2	0,50	4,50	0,1250 NS
Error	0,33	3	0,11		
Total	1,88	7			

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**CV= 7.62**

Respeto a los resultados del análisis de varianza a nivel de 5% no hay diferencia entre los tratamientos ( $P>0,05$ ), en cuanto a la motilidad masal de los espermatozoides.

Por otra parte a nivel de 5% no hay diferencia entre tiempos ( $P>0,05$ ), en cuanto a la motilidad masal de los espermatozoides.

**Cuadro 28. Pruebas de comparación de medias para la motilidad masal (Pardo suizo)**

<b>Tratamiento</b>	<b>Motilidad masal (%)</b>	<b>N</b>	<b>Duncan <math>\alpha=0.01</math></b>
T2	4,67	3	A
T1	4,33	3	A
T0	4,00	2	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

**Fuente: Elaboración Propia (2019)**

Las pruebas estadísticas muestran los tratamientos clasificado en un grupo. Respecto a las medias el T2 (alimento proteico) con 4,67% de motilidad masal es mayor en comparación al alimento energético y testigo.

Según la intensidad del movimiento, la generación de ondas permite clasificar como muy buena a la MM por la presencia de ondas oscuras, donde más del 80% de las células se mueven rápidamente, Lo que corresponde como movimiento moderado a un 60 a 80% con ondas claras, con 40 a 60% los espermatozoides poseen un movimiento suave (Rugeles, 2012).

Se encontró la mayor proporción de eyaculados de muy buena y buena motilidad masal de los espermatozoides con dieta de 7,08% de proteína cruda y 1,5 Mcal de energía metabolizable. (Almanza et al. 2012).

La motilidad en masa depende de la motilidad individual progresiva. La proteína influyó en la M.M. con un 4,67%. En la Estación experimental de Choquenaira se halló hasta un 5,5% de motilidad masal.

## **6.2. Resultados del toro Holstein (Ringer)**

### **6.2.1. Características Macroscópicas**

#### **6.2.1.1. Color del semen fresco**

Los datos obtenidos en laboratorio del color del semen con respecto a los tratamientos y tiempos fueron:

**Cuadro 29. Color Del Semen Fresco (Holstein- II)**

<b>T0</b>	<b>T1</b>			<b>T2</b>		
<b>color</b>	<b>Muestra</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>Color</b>	<b>Muestra</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>Color</b>
Blanco marfil	1	24	Blanco lechoso	1	24	Blanco marfil
	2	32	Blanco marfil	2	32	Blanco cremoso
	3	39	cremoso	3	39	cremoso

**Fuente: Elaboración Propia (2019)**

El toro I con el T0 nos muestra un color de blanco cremoso, con el T2 alimento proteico y respecto al tiempo se obtuvieron los colores de cremoso y blanco cremoso respecto a su tiempo correspondiente; con el toro II con el T0 se obtuvo un blanco marfil y con el T1 alimento energético y respecto al tiempo se obtuvieron los colores blanco lechoso, blanco marfil y cremoso respecto a su tiempo correspondiente.

Los colores blanco cremoso y cremoso, muestran una buena concentración de los espermatozoides, esto nos indica que los colores obtenidos son de buena calidad en la concentración espermática (Agüero, 2012).

Debido a los buenos colores obtenidos del toro Holstein, podemos decir que se tiene una buena concentración espermática.

#### **6.2.1.2. Aspecto del semen fresco**

Los datos obtenidos en laboratorio del aspecto del semen de acuerdo a los tratamientos y tiempos fueron:

**Cuadro 30. Aspecto del semen fresco (Holstein- II)**

<b>T0</b>	<b>T1</b>			<b>T2</b>		
<b>Densidad</b>	<b>Muestra</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>Densidad</b>	<b>Muestra</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>Densidad</b>
denso	1	24	Denso	1	24	Muy denso
	2	32	Denso	2	32	Denso
	3	39	Denso	3	39	Denso

**Fuente: Elaboración Propia (2019)**

En el toro I con el T0 muestra un aspecto muy denso y con el T2 (alimento proteico) respecto al tiempo nos muestra un aspecto denso, muy denso, denso; en el toro II con el T0 muestra un aspecto denso, mientras con el T1 (alimento energético) respecto al tiempo nos muestra los aspectos densos.

Gómez (2007), califica al semen como muy buena (muy denso) al semen granuloso presentando buena concentración espermática, buena (denso) al semen opaco lechoso presentando buena concentración espermática, regular (lechoso) al semen como la leche aguada con poca concentración conteniendo más plasma.

Los aspectos obtenidos son de textura densa y muy densa, calificando como muy buena y buena. Con el alimento energético la división celular de los testículos en los túbulos seminíferos, producirá mayor cantidad de células espermáticas.

Los animales jóvenes en su mayoría muestran un aspecto semidenso, mientras que en animales adultos su aspecto del semen es más denso.

### **6.2.1.3. Volumen**

Los datos obtenidos en laboratorio del volumen del semen con respecto a los tratamientos y tiempos fueron:

**Cuadro 31. Datos de laboratorio del volumen de semen (Holstein)**

Tratamiento	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Alimento energético (T1)	10 ml	5,5 ml	5 ml
Alimento proteico (T2)	5 ml	3 ml	3 ml

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**Cuadro 32. Análisis de la Varianza del volumen del semen (Holstein)**

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Tratamiento	15,89	2	7,94	9,22	0,0523 *
Tiempo	15,25	2	7,63	8,85	0,0551 NS
Error	2,58	3	0,86		
Total	33,72	7			

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**CV= 18.33**

Respecto al resultado del análisis de varianza a nivel de 5% se concluyó que hay diferencia entre tratamientos ( $P < 0,05$ ), en el volumen del semen. Por otra parte, a nivel de 5% se concluyó que no hay diferencia entre tiempos ( $P > 0,05$ ) en el volumen eyaculado del toro.

**Cuadro 33. Prueba de comparación de medias para el volumen del semen**

Tratamiento	Volumen (ml)	n	Duncan $\alpha=0.01$
T1	<b>6,83</b>	3	A
T0	<b>4,50</b>	2	A
T2	<b>3,67</b>	3	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

Fuente: Elaboración Propia (2019)

Acuerdo a las pruebas estadísticas muestran los tratamientos clasificado en un grupo. El T1 (Energía 3200 Kcal) tiene mayor efecto positivo con el valor de 6,8 ml del volumen eyaculado, indicándonos un parámetro bueno, en comparación al tratamiento T0 testigo y T2 alimento proteico con 4,5 y 3,7 respectivamente.

Artia, (2017), menciona que el volumen promedio ronda en los 5 o 6 mililitros dentro de un rango de 4 a 12 mililitros. Cuando los toros son jóvenes tienden a producir eyaculados menos voluminosos, pero esto cambia a partir del segundo año de vida, cuando debe ser mayor a 4 ml. El eyaculado se puede ver afectado también por la recolección exagerada de semen produciendo un agotamiento del animal.

A mayor energía las células epiteliales de la vesícula seminal producirán un 60% del plasma seminal. Y en el testículo en la parte de los tubos seminíferos se realizará la división celular en las etapas de proliferación y la meiosis.

En la Estación Experimental de Choquenaira se llegó a obtener hasta 11,3 ml de volumen del semen. Los toros que dan una buena cantidad de volumen son aquellos que tienen una buena característica fenotípica. La alimentación hace mucho en obtener buena calidad de semen de toros.

#### 6.2.1.4. PH del semen

Los datos obtenidos en laboratorio del pH del semen con respecto a los tratamientos y tiempos fueron

**Cuadro 34. pH del semen fresco en toros (Holstein)**

<b>T0</b>	<b>T1</b>			<b>T2</b>		
<b>pH</b>	<b>Muestra</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>pH</b>	<b>Muestra</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>pH</b>
6,9	1	24	7	1	24	6,9
	2	32	6,9	2	32	6,9
	3	39	6,9	3	39	7

Fuente: Elaboración Propia (2019)

Fimbres, (1996), afirma que los niveles de energía y proteína no influyen en el pH del semen. Esto se mantiene con 6.9 a 7,3, las especies como bovinos, caprinos y ovinos.

Afirmativamente las dietas no influyen en el cambio del pH del semen. Los espermatozoides pueden sobrevivir a medio alcalino. Es por eso que el semen no puede llegar a un pH de 6,6 porque se produciría la debilidad y muerte de las células.

## 6.2.2. Características microscópicas

### 6.2.2.1. Vitalidad

Los datos obtenidos en laboratorio de la vitalidad espermática con respecto a los tratamientos y tiempos fueron:

**Cuadro 35. Datos de laboratorio de la vitalidad espermática (Holstein)**

Tratamientos	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Alimento energético (T1)	87%	90%	88%
Alimento proteico (T2)	66%	77%	82%

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**Cuadro 36. Análisis de la Varianza de la vitalidad espermática (Holstein)**

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Tratamiento	507,33	2	253,67	13,51	0,0316 *
Tiempo	82,33	2	41,17	2,19	0,2589 NS
Error	56,33	3	18,78		
Total	646,00	7			

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**CV=8,28**

De acuerdo a los resultados del análisis de varianza a nivel de 5% hay diferencia entre los tratamientos ( $P > 0,05$ ) en cuanto a la vitalidad de los espermatozoides. Por otro lado, a nivel de 5% no hay diferencia entre las fechas ( $P > 0,05$ ) en cuanto a la vitalidad de los espermatozoides.



**Cuadro 37. Pruebas de comparación de medias para la vitalidad espermática (Holstein)**

<b>Tratamiento</b>	<b>Vitalidad (%)</b>	<b>n</b>	<b>Duncan <math>\alpha=0.01</math></b>
T1	<b>88,33</b>	3	A
T2	<b>75,00</b>	3	A
T0	<b>69,00</b>	2	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

**Fuente: Elaboración Propia (2019)**

Acorde a la prueba estadística los tratamientos se clasificaron en un grupo. Respecto a las medias el T1 (alimento energético) tiene el valor de 88,33% de espermatozoides vivos en comparación del alimento proteico y testigo, 75% y 69 % respectivamente.

Los resultados del presente estado se asemejan a los descritos por Rúgeles, (2001), donde menciona que el porcentaje de viabilidad espermática es mayor cuando las dietas son bajas en energía (1300 Kcal) EM y proteína (6%).

En los análisis de laboratorio se alcanzó resultados donde a mayor energía 3200 Kcal ED Se obtiene mayor porcentaje de espermatozoides vivos, esto se debe a la resistencia de los espermatozoides en el medio ambiente gracias a la producción de fructosa secretada por la vesícula seminal. (Para la secreción de la fructosa se requiere de energía). Para la viabilidad del espermatozoide se debe tomar en cuenta los factores externos, el medio ambiente, la manipulación y la edad del toro.

#### **6.2.2.2. Motilidad individual**

Los datos obtenidos en laboratorio de la motilidad individual de los espermatozoides fueron:

**Cuadro 38. Datos de laboratorio de la motilidad individual (Holstein)**

<b>Tratamiento</b>	<b>Muestra 1</b>	<b>Muestra 2</b>	<b>Muestra 3</b>
Alimento energético (T1)	86%	86%	87%
Alimento proteico (T2)	84%	81%	86%

**Fuente: Elaboración Propia (2019)**

**Cuadro 39. Análisis de la Varianza de la motilidad individual de los espermatozoides (Holstein)**

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	24,17	2	12,08	8,37	0,0593 NS
Tiempo	9,00	2	4,50	3,12	0,1853 NS
Error	4,33	3	1,44		
Total	37,50	7			

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**CV=3,53**

De acuerdo a los resultados del análisis de varianza a nivel de 5% no hay diferencia entre los tratamientos ( $P>0,05$ ), en cuanto a la motilidad individual de los espermatozoides.

Por otro lado, a nivel de 5% no hay diferencia entre tiempos ( $P>0,05$ ), en cuanto a la motilidad individual de los espermatozoides.

**Cuadro 40. Pruebas de comparación de medias para la motilidad individual (Holstein)**

<b>Tratamiento</b>	<b>Motilidad ind. (%)</b>	<b>n</b>	<b>Duncan <math>\alpha=0.01</math></b>
T0	<b>88,00</b>	2	A
T1	<b>86,33</b>	3	A
T2	<b>83,67</b>	3	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

Fuente: Elaboración Propia (2019)

Conforme a las pruebas estadísticas los tratamientos se clasifican en tres grupos. En cuanto a las medias el T0 (testigo) con 88 % de motilidad individual progresiva es mayor con respecto al alimento proteico y alimento energético.

El mayor porcentaje de movilidad individual rápida progresiva fueron encontrados en los eyaculados de la dieta de 6% de proteína cruda y 1300 Kcal de energía metabolizable (Rúgeles, 2001).

La motilidad espermática dependerá de la madurez del espermatozoide. El epidídimo es un órgano que tiene la función de hacer madurar y activar al espermatozoide entre 15 a 16 días. Este órgano está compuesto por epitelios cilíndricos, para el

funcionamiento de este tejido se requiere de energía. Las dietas energéticas y proteicas no afectaron en la motilidad individual de los espermatozoides.

### 6.2.2.3. Morfología

Los datos obtenidos en laboratorio de la morfología de los espermatozoides de acuerdo a los tratamientos y tiempos fueron:

**Cuadro 41. Datos de laboratorio de la morfología espermática (Holstein)**

Tratamiento	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Alimento energético (T1)	80%	85%	90%
Alimento proteico (T2)	93%	87%	83%

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**Cuadro 42. Análisis de la Varianza de la normalidad espermática (Holstein)**

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Tratamiento	77,33	2	38,67	1,16	0,4244 NS
Tiempo	0,33	2	0,17	5,0E-03	0,9950 NS
Error	100,33	3	33,44		
Total	178,00	7			

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**CV= 2,81**

De acuerdo al resultado del análisis de varianza a nivel de 5 % hay diferencia de tratamientos ( $P>0,05$ ), en cuanto a la morfología de los espermatozoides. En cambio, a nivel de 5% no hay diferencia entre tiempos ( $P>0,05$ ), en cuanto a la morfología de los espermatozoides.

**Cuadro 43. Pruebas de comparación de medias para morfología espermática (Holstein)**

Tratamiento	Morfología (%)	n	Duncan $\alpha=0.01$
T0	<b>93,00</b>	2	A
T2	<b>87,67</b>	3	A
T1	<b>85,00</b>	3	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

Fuente: Elaboración Propia (2019)

El espermatozoide bovino se caracteriza por poseer una cabeza oval y aplanada, una pieza intermedia y una cola. La cola, como en las demás especies, está formada por el cuello, que une la cabeza con los segmentos principales, medio y caudal de la cola. En el bovino, el mínimo porcentaje aceptado de espermatozoides normales es 70 % (Hafez, 2012).

Rugeles et al. (2012), menciona que mayor porcentaje de anomalías en animales se debe a la alimentación con mayor contenido de energía. Cuando los niveles de energía no son suficientes se afectan los mecanismos endocrinos por lo que disminuye la secreción de testosterona y gonadotropina así también las dietas de alto contenido proteico tienen efecto negativo.

Las dietas no afectaron en la morfología espermática, los toros jóvenes en desarrollo presentan un porcentaje de normalidad de hasta 97%, es recomendable que el toro no presente un porcentaje de normalidad menor a 85%.

Si se tiene resultados de baja normalidad espermática se debe a los factores climáticos, fisiología del animal o la alimentación, el exceso de energía llena de grasa al escroto impidiendo un buen desarrollo de las células. Y el exceso de proteína cambia el pH de los tejidos del testículo afectando a la fertilidad y desarrollo de los espermatozoides.

#### 6.2.2.4. Concentración

Los datos obtenidos en laboratorio de la concentración espermática de acuerdo a los tratamientos y tiempos fueron:

**Cuadro 44. Datos de laboratorio de la concentración espermática (Holstein)**

Tratamientos	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Alimento energético (T1)	810.000.000/ml	990.000.000/ml	1.085.000.000/ml
Alimento proteico (T2)	655.000.000/ml	705.000.000/ml	695.000.000/ml

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**Cuadro 45. Análisis de la Varianza de la concentración espermática (transformación  $\sqrt{x}$ ) (Holstein)**

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Tratamiento	3,183E+17	2	1,592E+17	34,45	0,0085 **
Tiempo	2,656E+16	2	1,328E+16	2,87	0,2008 NS
Error	1,386E+16	3	4,619E+15		
Total	3,587E+17	7			

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**CV= 3613 E-2**

De acuerdo a los resultados a nivel de 1 % hay diferencia entre tratamientos ( $P > 0,01$ ) en cuanto a la concentración de los espermatozoides.

Por otra parte, a nivel de 5% no hay diferencia entre fechas ( $P > 0,05$ ) en cuanto a la morfología de los espermatozoides.

**Cuadro 46. Pruebas de comparación de medias para concentración espermática (Holstein)**

Tratamiento	Concentración (esp/ml)	N	Duncan $\alpha=0.01$
T1	9,617E+08	3	A
T2	6,850E+08	3	AB
T0	4,550E+08	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

Fuente: Elaboración Propia (2019)

Acorde a las pruebas estadísticas el tratamiento se clasifica en dos grupos. Respecto a las medias el T1 (alimento energético) con 9,617E+08 de concentración espermática es mayor en comparación al alimento proteico y testigo, 6,850E+08y 4,550E+08 respectivamente.

Dietas balanceadas con pastos ricos en energía, y un adecuado porcentaje de proteína, son benéficas en el inicio de la pubertad, ya que favorecen un desarrollo testicular más rápido, especialmente durante edades entre 10 y 15 meses. Mejorando así la concentración espermática, la morfología y la motilidad individual (Lozano, 2009).

La espermatogénesis requiere de energía para realizar la división celular en la etapa de la interface. Y para la fisiología de este fenómeno, se requiere también energía para el trabajo de las células (sertolli y leyding) encargadas de la división celular. Un factor importante es dar la dieta energética a animales jóvenes para su desarrollo testicular.

#### 6.2.2.5. Motilidad masal

Los datos obtenidos en laboratorio de la motilidad masal de los espermatozoides con respecto a los tratamientos y tiempos fueron:

**Cuadro 47. Datos de laboratorio de la motilidad masal espermática (Holstein)**

Tratamiento	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Alimento energético (T1)	3%	4%	5%
Alimento proteico (T2)	5%	4%	5%

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**Cuadro 48. Análisis de la Varianza de la motilidad masal de los espermatozoides (Holstein)**

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,83	2	0,42	0,94	0,4827 NS
Tiempo	1,33	2	0,67	1,50	0,3536 NS
Error	1,33	3	0,44		
Total	3,50	7			

Fuente: Elaboración Propia (2019)

**CV= 20,57**

De acuerdo a los resultados del análisis de varianza a nivel de 5 % no hay diferencia entre tratamientos ( $P>0,05$ ), en cuanto a la motilidad masal de los espermatozoides.

A nivel de 5% no hay diferencia entre fechas ( $P>0,05$ ), en cuanto a la motilidad masal de los espermatozoides.

**Cuadro 49. Pruebas de comparación de medias para la motilidad masal (Holstein)**

<b>Tratamiento</b>	<b>Motilidad en masa (%)</b>	<b>N</b>	<b>Duncan <math>\alpha=0.01</math></b>
T1	<b>4,67</b>	3	A
T0	<b>4,00</b>	2	A
T2	<b>4,00</b>	3	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

**Fuente: Elaboración Propia (2019)**

Las pruebas estadísticas muestran los tratamientos clasificado en un grupo. Respecto a las medias el T1 (alimento energético) con 4,67% de motilidad masal es mayor en comparación al T0 (testigo) y T2 (tratamiento proteico), 4% respectivamente.

Según la intensidad del movimiento, la generación de ondas permite clasificar como muy buena a la motilidad masal por la presencia de ondas oscuras, donde más del 80% de las células se mueven rápidamente, lo que corresponde como movimiento moderado a un 60 a 80% con ondas claras, con 40 a 60% los espermatozoides poseen un movimiento suave (Rugeles et al. 2012).

Se encontró la mayor proporción de eyaculados de muy buena y buena motilidad masal de los espermatozoides con dieta de 7,08% de proteína cruda y 1,5 Mcal de energía metabolizable (Almanza et al. 2012).

La motilidad masal depende de la motilidad individual progresiva. La proteína influyo en la MM con un 4,67%.

## **7. CONCLUSIONES**

En las características macroscópicas, no se halló cambios ni variaciones en la coloración del semen, respecto al testigo con los tratamientos. El color se mantiene en un blanco cremoso en ambos toros.

En cuanto a la densidad del semen el toro Pardo suizo el testigo (T0) presenta un aspecto muy denso, y con los tratamientos, solo denso. El toro Holstein no presenta diferencias entre tratamientos respecto a la densidad.

En la variable del volumen del eyaculado, en el toro Pardo Suizo por tratamiento y tiempo es estadísticamente significativa. Mejorando el volumen con el T1 (alimento energético con 7% mayor al requerimiento), con un promedio de 7,67 ml, seguido del T2 (alimento proteico con 7% mayor al requerimiento) con 6,17 ml, y con 4,80 ml el testigo.

En el toro Holstein el volumen también muestra ser significativo, favorable en el T1 (alimento energético con 7% mayor al requerimiento), con un promedio de 6,83 ml en comparación al testigo con 4,50 ml y, el T2 (alimento proteico con 11% mayor al requerimiento) con 3,67 ml de eyaculado.

En el pH por tratamiento y tiempo, son estadísticamente no significantes, manteniendo un promedio de 6,9 en ambos toros.

Respecto a las características microscópicas, para la vitalidad espermática en el toro Pardo Suizo no presentó significancia por tratamiento y tiempo, pero en la comparación de medias se tiene los siguientes resultados, 85% de espermatozoides vivos en el testigo, 80,67% en el T2 (alimento proteico con 11% mayor al requerimiento) y 79,67% con el T1 (alimento energético con 7% mayor al requerimiento).

En el toro Holstein el tratamiento muestra ser significativo para la vitalidad espermática con un promedio de 88,33% de espermatozoides vivos con el T1 (alimento energético con 7% mayor al requerimiento) en comparación al T2 (alimento proteico con 11% mayor al requerimiento) con el valor de 75%, y el testigo con 69% de espermatozoides vivos.

En cuanto a la motilidad individual de los espermatozoides, el toro Pardo Suizo demostró por tratamiento alta significancia, siendo mejor el T1 (alimento energético con 7% mayor al requerimiento) con un promedio de 84,67% respecto al testigo con 81%, y al T2 (alimento proteico con 11% mayor al requerimiento) con 79% de motilidad.

El toro Holstein, por tratamiento y tiempo no mostró significancia. Sin embargo, en comparación de medias mostró al testigo favorable con el 88%, seguido del T1



(alimento energético con 7% mayor al requerimiento) con 86,33%, y el T2 (alimento proteico con 11% mayor al requerimiento) con 83,67% de motilidad.

En la variable morfología, el toro Pardo Suizo por tratamiento, presenta significancia con un valor promedio de 89% de espermatozoides normales del T0 (testigo) en comparación al T1 (alimento energético con 7% mayor al requerimiento) con 83,33% y 80% con el T2 (alimento proteico con 11% mayor al requerimiento).

Sin embargo, el toro Holstein no presenta significancia con respecto al tratamiento y tiempo para la variable morfología. Pero en las comparaciones de medias, se presentó 93% de espermatozoides normales en el testigo, 87,37% en el T2 (alimento proteico con 11% mayor al requerimiento) y 85% en el T1 (alimento energético con 7% mayor del requerimiento).

La variable concentración espermática, no es significativa para el toro Pardo Suizo respecto al tratamiento y tiempo. Presenta los siguientes valores en comparación de medias,  $1,21 \times 10^9$  espermatozoides/ml en testigo;  $9,11 \times 10^8$  espermatozoides/ml en el T2 (alimento proteico con 11% mayor al requerimiento); y  $8,393 \times 10^8$  espermatozoides/ml en el T1 (alimento energético con 7% mayor al requerimiento).

En el toro Holstein para la variable concentración espermática, los tratamientos demostraron ser significativos, favorable para el T1 (alimento energético con 7% mayor al requerimiento) con  $9,6617 \times 10^8$  espermatozoides/ml, seguido del T2 (alimento proteico con 11% mayor al requerimiento) con  $6,850 \times 10^8$ /ml y  $550 \times 10^8$  espermatozoides/ml en el testigo.

Respecto a la motilidad masal, el toro Pardo Suizo no presenta significancia en relación al tratamiento y tiempo. En la comparación de medias el T2 (alimento proteico con 11% mayor al requerimiento) presenta mayor porcentaje con 4,67% en comparación al T1 (alimento energético con 7% mayor al requerimiento) con 4,33% y el testigo con un 4%.

Asimismo, el toro Holstein tampoco es significativo respecto al tratamiento y tiempo para la motilidad masal. El promedio para el T1 (alimento energético con 7% mayor al

requerimiento) es 4,67% y 4% para el testigo y el T2 (alimento proteico con 11% mayor al requerimiento).

El presente estudio, demuestra que el tratamiento 1 (3200 Kcal de energía digestible con 7% mayor al requerimiento), influye favorablemente en la calidad espermática del toro Holstein de 18 meses.

## **8. RECOMENDACIONES**

En función a los resultados se puede tener las siguientes recomendaciones:

Se recomienda aplicar alimento energético a los toros donadores de semen, ya que mejora la concentración, morfología normal y motilidad individual.

Se aconseja realizar investigaciones en dietas con requerimiento de proteína cruda fija y variación de niveles de energía digestible.

Se recomienda realizar investigaciones de dietas con requerimiento energía digestible fija y variación de niveles de proteína cruda.

Se aconseja administrar dietas con alimento energético a animales en proceso de crecimiento y no tanto así en animales adultos.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Acuña, M. C. (2008). Examen de fertilidad en toros. Argentina: Empresa Chunivet.
- Agüero, E. (2012). Evaluación de las Características Seminales de Sementales Bovinos mediante el Analizador Seminal Computarizado (CASA). pp. 9 – 12.
- Almanza, R., Linares., Gonzales, J. (2012). Efecto de los niveles de proteína y energía en la dieta sobre la calidad seminal y los perfiles metabólicos de toros Brahman. Venezuela, p. 164.
- Artía, R. C. (2017). Revisación de toros: Descripción de un caso de infertilidad en un programa reproductivo que combina IATF y servicio natural. Facultad de Ciencias Veterinarias.
- Artificia, D. L. (2014). Evaluación del Potencial Reproductivo del Toro. Venezuela Maracay.: Edición Aragua.
- Barrantes, E. (s.f.). Banco forrajero. INTA. Recuperado de [http://www.mag.go.cr/biblioteca\\_virtual\\_ciencia/manual\\_b\\_forrajeros\\_03.pdf](http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/manual_b_forrajeros_03.pdf)
- Boggio, D. C. (2008). Evaluación de la Aptitud Reproductiva Potencial y Funcional del Toro. Capacidad de Servicio. Chile.
- Buzón, A. (2013). Análisis cinéticos y morfométricos del espermatozoide del caballo empleando el sistema Sperm Class Analyzer. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Cordoba. Pp. 38-39
- Carpio, S. (2015). Evaluación de dos diluyentes para la crioconservación de semen bovino: yema de huevo vs leche descremada. Universidad Politecnica Salesiana Sede Cuenca. Cuenca Ecuador. pp 33.
- Evaluación morfológica seminal en toros (2015). Recuperado de <https://studylib.es/doc/31863/evaluaci%C3%B3n-morfol%C3%B3gica-seminal-de-toros>

- Fimbres Durazo, H. (1996). Efecto de la energía y proteína sobre la aptitud reproductiva de sementales caprinos antes y después del empadre de otoño. Universidad Autónoma de Nueva León: Tesis de grado. Facultad de Agronomía de Estudios de Postgrado.
- Galarza, A. (2013). Eficacia de dos diluyentes: tris + lecitina de soya (andromed®) y tris + yema de huevo (triladyl ®).
- García, P. (2010). Visión fisiológica de la reproducción bovina. CIGAL
- Garcia, R. (1993). Manual de laboratorio patológico, Editorial interamericana Mac Graw Hill. Obtenido de <http://hematoxilina-eosina-uc.blogspot.com/>
- Gelambi, M. (s.f.). Espermiogenesis Fases y sus características. Obtenido de <https://www.lifeder.com/espermiogenesis/>
- Granja, T. (2012). Factores nutricionales que interfieren en el desempeño productivo de la hembra bovina. Maestría de producción Animal. Universidad Estadual. Sao Paulo, Brasil. pp. 459
- Guarié, E. A. (2013). Nutrición del toro y calidad seminal. Buenos Aires.
- Gómez, V. (2007). Protocolo para la evaluación de semen en rumiantes. Facultad de Ciencias Veterinaria. Argentina.
- Hafez, E.S.E. (1993). Reproduction in farm animals reproductive Health Center. International Kiawa island. Sexta edition. South Carolina. USA.
- Hafez, (2012). Evaluación de características seminales de sementales bovinos. Postgrado en reproducción animal y tecnología de inseminación artificial. Universidad Central de Venezuela. Facultad de ciencias Veterinarias. Pp. 5-10.
- Hernández López, C. (2012). Tipos de diluyentes en la inseminación artificial. Obtenido de <https://es.slideshare.net/kibaultor/tipos-de-diluyentes-en-la-inseminacion-artificial>

- Hernández, L. C. (2014). Evaluación de la motilidad espermática de semen caprino criopreservado bajo diferentes medios diluyentes a través del sistema casa. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente especialización en mejoramiento genético. Cucuta.
- Hidalgo, C. Tamargo, C. Monforte, C. (2014). Análisis de semen Bovino. Área de Selección y Reproducción Animal. Tecnología alimentaria. Boletín informativo SERIDA n°2. pp. 40-42.
- Hooper, R. (2015). Bovine Reproductive. Departament of pathobiology and population medicine. Mississippi USA. pp 21-30.
- Instituto de Investigaciones Pecuarias – Centro regional de investigación. (2005). Boletín Inia N° 148. Requerimiento de nutrientes según el estado fisiológico en bovinos de leche.
- INATEC (2016) Manual del Protagonista – Reproducción Animal. Instituto Nacional Tecnológico, (1ra ed.) Nicaragua, JICA.
- Linares González, J., Luna González, J., Castaño Villadiego, F., & Vergara Garay, O. (2012). Efecto de los niveles de proteína y energía de la dieta sobre la calidad seminal y los perfiles metabólicosde toros Brahman. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Ciencias Pecuarias. Universidad de Córdoba, Montería, Córdoba.Colombia.
- López, J. (s.f.). Obtenido de <https://www.reproduccionveterinaria.com/fisiologia-y-anatomia-obstetrica/macho/fisiologia-reproductiva-del-macho/semen/>
- Lozano, H. (2009). Factores que afectan en la calidad seminal del toro. Bogotá: Clínica de la Reproducción Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. pp. 259-261

- Mamani R., Céspedes R. (2012). Revista en Imágenes Estación Experimental de Choquenaira. Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Agronomía. La Paz Bolivia. 11,12 p.8
- McDonald, E. G.M. (s.f.) Nutrición Animal. Editorial ACRIBIA, S.A. 5ª edición
- Minitube, (2003). Concentrados de diluyentes para preparar medio de congelación de semen bovino. (En línea). Consultado 6 de agosto 2019. Recuperado de [https://www.minitube.es/pdf/index/13500-1200\\_Leaflet-BiladylTriladyl\\_es\\_181113.pdf](https://www.minitube.es/pdf/index/13500-1200_Leaflet-BiladylTriladyl_es_181113.pdf).
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (Octubre de 2012). Insumos y factores asociados a la producción agropecuaria. Obtenido de [https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/insumos\\_factores\\_de\\_produccion\\_octubre\\_2012.pdf](https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/insumos_factores_de_produccion_octubre_2012.pdf)
- Morón, D. A. (2015). Evaluación de la calidad seminal en toros reproductores en invierno y verano en el departamento del Cesar. Barranquilla, Colombia: Trabajo Final Para optar al Grado Académico de Especialista en Reproducción Bovina.
- Muñoz Otero, R. (2009). Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino mediante el uso de sistemas casa y citometría de flujo: identificación de subpoblaciones espermáticas. Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de Veterinaria.
- NRC. (1968), Necesidades nutritivas del ganado vacuno lechero. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires Argentina. pp-. 36-37
- Paye, F. (2006). Evaluación agronómica y comparación de rendimiento en seis especies forrajeras plurianuales, bajo condiciones de secano, en Letanías, provincia Ingavi. Tesis Lic. Ing. Agro. La Paz, BO. Universidad Mayor de San Andrés. P 220, 221.
- Pérez, H. E. (2014). Fisiología de la reproducción del macho. Ecuador p. 7

- Pérez, M., Serrahima, L., Sanmiguel, L. (2012). Manual de crianza de animales. Ed. LEXUS. Barcelona, España.
- Prado, D. A. (s.f.). Postgrado en reproducción animal y tecnología de la inseminación artificial. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Reproducción Animal.
- PRONACA, (2015). Características de un buen reproductor bovino para ganadería de doble propósito y carne. Revista Procampo. Ed. N°13.
- Ptaszynska, M. (2007). Compendium de reproducción animal. Paraguay: 9na edición.
- Quisbert, G. (2014). Suplementación del selenio sobre la calidad espermática de sementales bovinos (*Bos taurus*) en la estación experimental de Choquenaira. La Paz - Bolivia: Universidad Mayor de San Andrés, pp. 65 - 86.
- Richard, H. (2015). Bovine reproduction Department of Pathobiology and Population Medicine. USA: Starkville, Mississippi.
- Rugeles, C. (2001). Interrelación entre nutrición y fertilidad en bovinos. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Córdoba. Montería – Colombia.
- Rugeles, C.; Linares, J.; Luna, J.; Castaño, F.; Vergara O. (2012). Efecto de los niveles de proteína y energía sobre la calidad seminal y los perfiles metabólicos de toros Brahman. Revista científica, vol. XXI. Universidad de Zulia. Maracaibo – Venezuela. pp 164 – 166.
- Salvador, Z. (2017). Como es el espermatozoide. Reproducción asistida ORG. (En línea) consultada 8 de agosto 2019. Obtenido de <https://www.reproduccionasistida.org/espermatozoide/>
- Samper, E. (2011). La idealizada imagen de los espermatozoides. Obtenido de <https://blogs.elpais.com/la-doctora-shora/2011/09/la-idealizada-imagen-de-los-espermatozoides-humanos.html>

SERIDA nro. 2. (2013). Análisis del semen bovino. Boletín informativo del SERIDA - n.º 2.

SENAMIHI (2018). Cuadro de información y pronósticos agrometeorológicos del altiplano. Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras. Boletín N° 240/2018 del 21 al 31 de diciembre.

Sorensen, A.M. (1982). Reproducción Animal, principios y prácticas, primera edición. Editorial Mc GRAW-HILL, México. 93-185 p.

Universidad politecnica salesiana Carrera de medicina veterinaria y zootecnia. (s.f.). Evaluación de dos diluyentes para la crioconservación de semen bovino: yema de huevo vs leche descremada.

Universidad Complutense Madrid. Nutricion animal Veterinaria <https://clickmica.fundaciondescubre.es/conoce/100-preguntas-100-respuestas/donde-sacan-las-celulas-animales-energia-vivir/>

Valerio, D. (2014). Cómo evaluar la aptitud reproductiva de los toros. (En línea). Consultado 20 junio 2019. Obtenido de [www.elmercurio.com](http://www.elmercurio.com)

Villamizar, G. (2014). Manual de procedimiento para la colecta y Crioconservacion de Semen Bovino. Universidad Cooperativa de Colombia, Bucaramanga, Colombia.



# ANEXOS

## *Anexo 1. Peso inicial y peso final durante la investigación*

REPRODUCTOR	PESO INICIAL (Kg)	PESO FINAL (Kg)
Holstein (RINGER)	370	465
Pardo Suizo( LIDER)	790	777

## *Anexo 2 Aporte de proteína y energía de los insumos utilizados en la investigación*

ALIMENTO	Proteína cruda (%)	Energía digestible (Kcal)
Afrecho de trigo	14	2640
Torta de soya	46	2740
Grano de cebada molida	10	3300
Maíz molido	7	3350
Ensilaje	5,5	598
Heno de cebada	5	1130
Heno de avena	3	1920
Alfalfa	16	2900

**Anexo 3 Datos obtenidos en laboratorio de las características macroscópicas y microscópicas**

<b>Pardo Suizo LIDER</b>	<b>T 0 (05-11-18)</b>	<b>T1 (29-11-18)</b>	<b>T1 (7-12-18)</b>	<b>T1 (14-12-18)</b>	<b>T2 (28-01-19)</b>	<b>T2 (4-02-19)</b>	<b>T2 (11-02-19)</b>
<b>Variables de respuestas</b>							
<b>Caracteres macroscopicos</b>							
Volumen	4,8 ml	10ml	7ml	6ml	7,5ml	6ml	5ml
Color	Blanco cremoso	blanco cremoso	cremoso	cremoso	cremoso	blanco cremoso	blanco cremoso
Densidad	Espeso	denso	densisimo	denso	densisimo	denso	denso
PH	6.8	6.8	6.8	6.9	6,9	6.9	6.8
<b>Características Microscopicas</b>							
Vitalidad	85%	77%	80%	80%	83%	79%	80%
Motilidad individual	81%	84%	85%	85%	78%	80%	79%
Motilidad individual post descongelado	63%	63%	67%	64%	63%	62%	62%
Morfología	89%	85%	83%	82%	78%	80%	82%
Concentración por ml	1,210,000,000	708,000,000	1,080,000,000	730,000,000	985.000.000	870.000.000	880.000.000
motilidad masal	4%	4%	5%	4%	5%	5%	4%
		<b>proteina</b>			<b>energia</b>		
<b>Holstein RINGER</b>	<b>T 0 (05-11-18)</b>	<b>T2 (29-11-18)</b>	<b>T2(7-12-18)</b>	<b>T2(14-12-18)</b>	<b>T1 (28-01-19)</b>	<b>T1 (4-02-19)</b>	<b>T1(11-02-19)</b>
<b>Variables de respuestas</b>							
<b>Caracteres macroscopicos</b>							
Volumen	4,5ml	5ml	3ml	3ml	10ml	5,5ml	5ml
Color	blanco marrfil	blanco marfil	blanco cremoso	cremoso	blanco lechoso	blanco marfil	cremoso
Densidad	denso	densisismo	deno	denso	denso	denso	denso
PH	6,9	6.9	6.9	6.9	7	6.9	6.9
<b>Características Microscopicas</b>							
Vitalidad	69%	66%	77%	82%	87%	90%	88%
Motilidad individual	88%	84%	81%	86%	86%	86%	87%
Motilidad individual post descongelado	64%	58%	65%	63%	65%	66%	66%
Morfología	93%	93%	87%	83%	80%	85%	90%
Concentración por ml	455,000,000	655,000,000	705,000,000	695,000,000	810.000.000	990.000.000	1.085.000.000
motilidad masal	4%	5%	4%	5%	3%	4%	5%

**Anexo 4. Alimentación de los semenetales con forraje y concentrado conservado seco**



Semental raza Holstein (Ringer)



Semental raza Pardo Suizo (Lider)

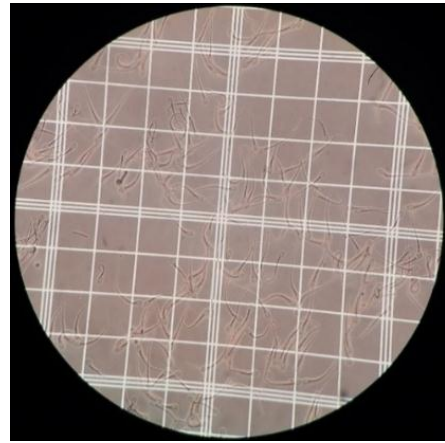
**Anexo 5. Preparación del alimento concentrado**



## Anexo 6. Observación de los espermatozoides de los toros en laboratorio



Observación de los espermatozoides a través del microscopio



Conteo de los espermatozoides en la cámara de Neubauer



Observación de la vitalidad y morfología de los espermatozoides



Observación de la motilidad espermática