



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA ZOOTECNIA

**“GENOTIPIFICACIÓN Y ANÁLISIS DE GENES DE INTERÉS
COMERCIAL DE REPRODUCTORES BOVINOS DE LA
ESTACIÓN EXPERIMENTAL PASTAZA DE LA ESPOCH”**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar el grado académico de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

AUTOR:

DIEGO PAÚL QUILAMBAQUI PRADO

Riobamba – Ecuador

2023



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA ZOOTECNIA

**“GENOTIPIFICACIÓN Y ANÁLISIS DE GENES DE INTERÉS
COMERCIAL DE REPRODUCTORES BOVINOS DE LA
ESTACIÓN EXPERIMENTAL PASTAZA DE LA ESPOCH”**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar el grado académico de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

AUTOR: DIEGO PAÚL QUILAMBAQUI PRADO

DIRECTOR: Ing. MsC. JOSÉ VICENTE TRUJILLO VILLACIS

Riobamba – Ecuador

2023

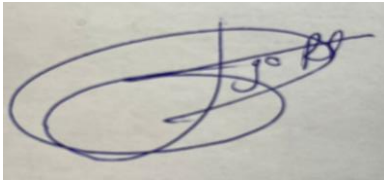
©2023, DIEGO PAÚL QUILAMBAQUI PRADO

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Diego Paúl Quilambaqui Prado, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 25 de enero del 2023.



Diego Paúl Quilambaqui Prado
C.C.: 1400555080

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA ZOOTECNIA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; tipo: Trabajo Experimental, “**GENOTIPIFICACIÓN Y ANÁLISIS DE GENES DE INTERÉS COMERCIAL DE REPRODUCTORES BOVINOS DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL PASTAZA DE LA ESPOCH**”, realizado por el señor: **DIEGO PAÚL QUILAMBAQUI PRADO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Hermenegildo Díaz Berrones., MgS. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2023-01-25
Ing. MsC. José Vicente Trujillo Villacis. DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2023-01-25
Ing. Carlos Andrés Mancheno Herrera. ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2023-01-25

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mi papá Mario Quilambaqui por creer en mí y por ser mi ejemplo de superación durante los momentos más difíciles de mi vida. A mi mamá Marianita Prado por ser el pilar más importante en mi vida y demostrarme siempre su amor y apoyo incondicional, gracias por sus oraciones al Padre Celestial y la Purísima de Macas que me dieron la fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados. A mi novia María Elena mi mejor amiga, mi compañera de vida, por confiar en mí y apoyarme en todos y cada uno de los pasos que doy en mi vida, siempre está ahí para mí y deseo compartir con usted este y muchos otros momentos más importantes en nuestras vidas. A mis hermanas Eliana y Wendy, aunque hemos pasado momentos difíciles siempre han estado apoyándome y brindándome todo su cariño. A mis sobrinos Emilia, Ariana y Joaquín que siempre me alegran el corazón con sus sonrisas y ocurrencias cuando llego a visitarlos.

Diego

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradecer infinitamente a Dios, por darme la fortaleza y ayudarme a superar los obstáculos y dificultades a lo largo de mi vida estudiantil. A mi familia por ser mi mayor motivación para lograr alcanzar mis metas propuestas. A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela de Zootecnia, por brindarme la oportunidad de formarme. A la Estación Experimental Pastaza de la ESPOCH por brindarme sus instalaciones y recursos para la elaboración de este trabajo investigativo. Un agradecimiento a los docentes que conforman la Gloriosa Escuela de Zootecnia, en especial al Ing. Vicente Trujillo, director de tesis y Ing. Andrés Mancheno, quienes a través de su voluntad, paciencia y enseñanzas supieron inculcar los conocimientos necesarios para mi formación profesional. A la Asociación Charolais del Ecuador por su colaboración durante el proceso de mi trabajo de investigación. A mis amigos con los que compartí dentro y fuera de las aulas, por esos momentos de alegrías y tristezas, algún día nos volveremos a reunir.

Diego

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT	xv
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	3
1.1. Generalidades del bovino de la raza Charolais.....	3
<i>1.1.2. Características físicas.....</i>	<i>3</i>
<i>1.1.3. Características funcionales.....</i>	<i>4</i>
<i>1.1.4. Características reproductivas.....</i>	<i>5</i>
<i>1.1.5. Características productivas</i>	<i>6</i>
<i>1.1.5.1. Aptitud.....</i>	<i>6</i>
<i>1.1.5.2. Cualidades cárnicas.....</i>	<i>7</i>
1.2. Cruces de Charolais	7
1.3. La genómica	8
<i>1.3.1. Metodología del análisis de los genomas.....</i>	<i>9</i>
<i>1.3.2. Descripción molecular del genoma bovino</i>	<i>9</i>
<i>1.3.3. ADN Satélite</i>	<i>10</i>
1.4. Genotipificación.....	11
<i>1.4.1. Utilidad de la genotipificación.....</i>	<i>12</i>
<i>1.4.2. Microsatélites.....</i>	<i>14</i>
<i>1.4.2.1. Los microsatélites como marcadores genéticos.....</i>	<i>15</i>
<i>1.4.2.2. Mecanismos de mutación de los microsatélites</i>	<i>16</i>
<i>1.4.2.3. Modelos de Mutación.....</i>	<i>17</i>
<i>1.4.2.4. Selección de microsatélites para caracterizar genéticamente poblaciones bovinas ...</i>	<i>17</i>
<i>1.4.2.5. Técnicas para la caracterización alélica de microsatélites</i>	<i>18</i>
1.5. Índices de interés comercial en la producción de carne bobina.....	20
<i>1.5.1. Índice de producción Igenity</i>	<i>20</i>
<i>1.5.2. El índice materno Igenity.....</i>	<i>21</i>
<i>1.5.3. Tendencias del índice materno</i>	<i>21</i>
<i>1.5.4. Rasgos de crecimiento.....</i>	<i>21</i>

1.5.5.	<i>Rasgos de Canal</i>	22
1.6.	Fertilización	22
1.6.1.	<i>Comportamiento sexual del toro</i>	22
1.6.2.	<i>Evaluación de la salud reproductiva del toro</i>	23
1.6.3.	<i>Factores que afectan la fertilidad en el macho</i>	24
1.7.	Evaluación de la fertilidad	25
1.7.1.	<i>Examen físico</i>	25
1.7.2.	<i>Examen del semen</i>	26
1.7.2.1.	<i>Examen macroscópico</i>	26
1.7.2.2.	<i>Examen microscópico</i>	27
1.8.	Anatomía del aparato reproductor	29
1.8.1.	<i>Anormalidades del tracto reproductor</i>	29
1.8.2.	<i>Fisiología y endocrinología del aparato reproductor del macho</i>	30
1.9.	Métodos de extracción o colecta de semen bovino	30
1.9.1.	<i>Eyaculación</i>	31
1.9.2.	<i>Método de la vagina artificial</i>	32
1.9.2.1.	<i>Ventajas y desventajas de la vagina artificial</i>	33
1.9.3.	<i>Método de la electroeyaculación</i>	33
1.9.3.1.	<i>Ventajas y desventajas de la electroeyaculación</i>	33
1.9.4.	<i>Método de masaje transrectal</i>	35
1.9.4.1.	<i>Ventajas y desventajas del masaje transrectal</i>	36

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	37
2.1.	Localización y duración del experimento	37
2.1.1.	<i>Tiempo de duración del experimento</i>	37
2.2.	Unidades experimentales	37
2.3.	Materiales, equipos y reactivos	38
2.3.1.	<i>Materiales</i>	38
2.3.1.1.	<i>Materiales de campo</i>	38
2.3.1.2.	<i>Materiales de laboratorio</i>	38
2.3.2.	<i>Equipos</i>	39
2.3.3.	<i>Reactivos</i>	39
2.4.	Tratamiento y diseño experimental	39
2.5.	Mediciones experimentales	39
2.5.1.	<i>Genotipificación y genes de interés comercial</i>	40

2.6.	Análisis estadístico y pruebas de significancia.....	41
2.7.	Procedimiento experimental.....	41
2.7.1.	<i>Toma de muestra de pelo para análisis de laboratorio</i>	<i>41</i>
2.7.2.	<i>Identificación animal</i>	<i>41</i>
2.7.3.	<i>Inspección del técnico de la Asociación Charolais del Ecuador</i>	<i>42</i>
2.7.4.	<i>Descripción del patrón racial de la raza Charolais.....</i>	<i>42</i>
2.7.5.	<i>Registro funcional o inicial.....</i>	<i>43</i>
2.7.6.	<i>Sobre los machos nacidos del libro Purebred</i>	<i>43</i>
2.7.7.	<i>Registro de las montas, inseminaciones y transferencia de embriones</i>	<i>43</i>
2.7.8.	<i>Sobre la Base de datos de los registros</i>	<i>44</i>
2.7.9.	<i>Registro de fincas o predios</i>	<i>44</i>
2.7.10.	<i>Registro de propietarios.....</i>	<i>44</i>
2.8.	Metodología de evaluación	44
2.8.1.	<i>Análisis de genes de interés comercial</i>	<i>44</i>
2.8.2.	<i>Análisis del Gen Miostatina</i>	<i>46</i>
2.8.3.	<i>Recolección de la muestra seminal.....</i>	<i>46</i>
2.8.4.	<i>Análisis del semen</i>	<i>46</i>
2.8.5.	<i>Pre dilución del semen</i>	<i>49</i>
2.8.5.1.	<i>Diluyente AndroMed ®</i>	<i>50</i>
2.8.5.2.	<i>Cálculo de espermatozoides viables, número de dosis y dilución final</i>	<i>50</i>
2.8.5.3.	<i>Envasado y sellado de pajillas</i>	<i>51</i>
2.8.5.4.	<i>Curva de temperatura</i>	<i>51</i>
2.8.6.	<i>Congelación.....</i>	<i>51</i>
2.8.7.	<i>Almacenamiento de dosis seminales.....</i>	<i>52</i>
2.9.	Elaboración de la ficha técnica	52

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS .	53
3.1.	Calidad genética de los reproductores bovinos Charolais la estación experimental Pastaza de la ESPOCH.....	53
3.1.1.	<i>Análisis de genes de interés comercial</i>	<i>55</i>
3.2.	Evaluación de la fertilidad.....	60
3.3.	Ficha técnica con la de los reproductores bovinos de la Estación Experimental Pastaza de la ESPOCH.....	64
3.4.	Análisis de costos de las técnicas y tecnologías aplicadas	65

CONCLUSIONES.....	67
RECOMENDACIONES.....	68
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Peso vivo y promedios zoométricos de la raza Charolais.....	4
Tabla 2-1: Parámetros reproductivos de la raza Charolais.....	5
Tabla 3-1: Parámetros productivos de la raza Charolais.....	6
Tabla 4-1: Utilidad de la genotipificación	12
Tabla 5-1: Caracterización de las especies de interés zootécnico	18
Tabla 6-1: Comportamiento sexual del toro	23
Tabla 7-1: Factores que afectan la fertilidad en el macho.....	24
Tabla 8-1: Factores de evaluación de fertilidad	25
Tabla 9-1: Factores analizados en el análisis microscópico de semen bovino.....	28
Tabla 10-1: Procedimiento de eyaculación	31
Tabla 11-1: Método de la vagina artificial	32
Tabla 12-1: Método de la electroeyaculación	34
Tabla 13-1: Método de masaje transrectal	35
Tabla 1-2: Condiciones meteorológicas de la Estación Experimental Pastaza	37
Tabla 2-2: Parámetros de identificación animal.....	41
Tabla 3-2: Patrón racial de la raza Charolais	42
Tabla 4-2: Caracterización de animales en el libro PUREBREED.....	43
Tabla 5-2: Marcadores genéticos	45
Tabla 6-2: Análisis de genes de interés comercial.....	45
Tabla 7-2: Motilidad masal	48
Tabla 8-2: Clasificación de la motilidad espermática de acuerdo a la sociedad de teriogenología de los Estados Unidos de Norteamérica.	48
Tabla 1-3: Informe final de resultado de genotipificación del toro FCP Samuel 616	53
Tabla 2-3: Informe final de resultado de genotipificación del toro FCP Teo 617.	54
Tabla 3-3: Análisis del gen miostatina en bovinos Charolais de la Estación Experimental Pastaza de la ESPOCH	60
Tabla 4-3: Evaluación de parámetros de fertilidad del toro FCP Samuel 0616.....	60
Tabla 5-3: Evaluación de parámetros de fertilidad del toro FCP Teo 0617.....	61
Tabla 6-3: Costos de la tecnología aplicada en la investigación.....	66

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1-1:	Procedimiento en el laboratorio para realizar la genotipificación	11
Ilustración 2-1:	Esquema de la BSE de toros	24
Ilustración 3-1:	Factores considerados en el análisis macroscópico de semen bovino	27
Ilustración 4-1:	Anatomía del aparato reproductor del macho bovino	29
Ilustración 1-2:	Análisis del semen	47
Ilustración 2-2:	Proceso del análisis microscopico del semen	47
Ilustración 1-3:	Resultados del análisis de genes de interés comercial del toro FCP Samuel 0616.....	56
Ilustración 2-3:	Resultados del análisis de genes de interés comercial del toro FCP Teo 0617	57
Ilustración 3-3:	Ficha técnica FCP TEO 0617 de la Estación Experimental Pastaza de la ESPOCH.	64
Ilustración 4-3:	Ficha técnica FCP SAMUEL 0616 de la Estación Experimental Pastaza de la ESPOCH.	65

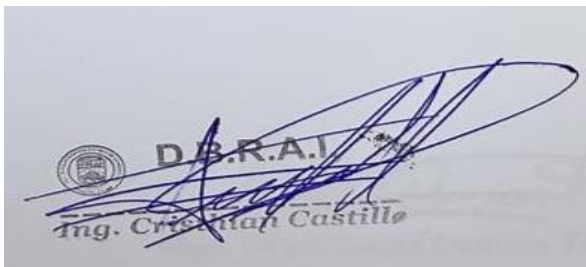
ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** RESULTADO DEL ANÁLISIS DE LABORATORIO DE LOS EJEMPLARES
- ANEXO B:** SELECCIÓN DE LOS EJEMPLARES
- ANEXO C:** EXTRACCIÓN DE MUESTRA DE PELO CON RAÍZ PARA PRUEBA DE GENOTIFICACIÓN Y ANÁLISIS DE GENES
- ANEXO D:** EVALUACIÓN DE FERTILIDAD DE LOS EJEMPLARES
- ANEXO E:** COLOCACIÓN DE ARETES CERTIFICADOS Y REGISTRADOS ASO CHAROLAIS DEL ECUADOR
- ANEXO F:** FACTURA
- ANEXO G:** REPORTE DE LAS PRUEBAS

RESUMEN

El presente trabajo de Integración Curricular tuvo como objetivo realizar la genotipificación y análisis de genes de interés comercial de reproductores en la Estación Experimental Pastaza perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. La investigación fue considerada como experimental y se determina una población constituida por dos ejemplares de la raza Charoláis, el estudio inició por la evaluación de fertilidad de los reproductores, extracción y congelación del semen, toma de muestra para el análisis de laboratorio, registro de ejemplares y finalmente se elaboró una ficha técnica con información de los ejemplares; para evaluar la fertilidad se utilizó estadística descriptiva con la finalidad de obtener parámetros de interés. Además, se empleó el método STRS para la determinación de la genotipificación. Todo el análisis se llevó a cabo en el laboratorio de Biotecnología Genética (BIOTECGEN S.A) conjuntamente con un trabajo de campo de 180 días utilizando materiales de campo, laboratorio, equipos y reactivos. En cuanto a genotipificación respecto al ejemplar FCP Samuel 0610: se determinan que cinco pares de alelos correspondientes al 29,41% son homocigóticos y 12 pares de alelos (70,59%) son heterocigóticos y en el segundo ejemplar FCP TEO 0616: 6 pares de alelos representado por 35,29% son homocigóticos y 11 pares de alelos (64,71%) son heterocigóticos. En conclusión, se determina que la calidad genética de los reproductores es elevada, el toro FCP Samuel 0616 mostró características de interés comercial más adecuadas; se recomienda a la Estación Experimental Pastaza efectuar análisis similares a nuevos grupos de reproductores bovinos para mantener una base de datos para estudios posteriores.

Palabras clave: <GENOTIPIFICACIÓN>, <GENES>, <REPRODUCTORES BOVINOS>, <INTERÉS COMERCIAL>, <FERTILIDAD>



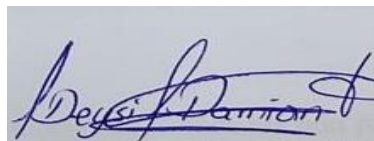
0326-DBRA-UPT-2023

ABSTRACT

The objective of this Currículum Integration work was to carry out genotyping and analysis of genes of commercial interest of breeders at Estación Experimental Pastaza belonging to Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. The research was considered as experimental and a population consisting of two specimens of the Charolais breed is determined, the study began by the evaluation of fertility of the breeders, extraction and freezing of semen, sampling for laboratory analysis, registration of specimens and finally a technical sheet was prepared with information on the specimens. Descriptive statistics was used to evaluate fertility in order to obtain parameters of interest. In addition, the STRS method was used for the determination of genotyping. All the analysis was carried out in the Genetic Biotechnology laboratory (BIOTECGEN S.A) together with a field work of 180 days using field materials, laboratory, equipment and reagents. Regarding genotyping with respect to the specimen FCP Samuel 0610: it is determined that five pairs of alleles corresponding to 29,41% are homozygous and 12 pairs of alleles (70,59%) are heterozygous and in the second specimen FCP TEO 0616: 6 pairs of alleles represented by 35,29% are homozygous and 11 pairs of alleles (64,71%) are heterozygous. In conclusion, it is determined that the genetic quality of the breeders is high, the FCP Samuel 0616 bull showed more suitable characteristics of commercial interest. It is recommended that Estación Experimental Pastaza carry out similar analyses on new groups of cattle broodstock to maintain a database for further studies.

Keywords: < GENOTYPING >, < GENES >, < BOVINE BREEDERS >, < COMMERCIAL INTEREST >, < FERTILITY >.

0326-DBRA-UPT-2023



Mgs. Deysi Lucía Damián Tixi

C.I. 0602960221

INTRODUCCIÓN

En la presente investigación denominada Genotipificación y Análisis de Genes de Interés Comercial de Reproductores Bovinos de la Estación Experimental Pastaza en la cual se busca obtener el perfil genético de un organismo. Se considera una técnica molecular que usa el ADN presente en las células nucleadas como los glóbulos blancos, las células de las fibras musculares, espermatozoides y folículos pilosos; los cuales se conservan en el semoviente a lo largo de toda su vida productiva. El estudio posibilita conocer el material genético que un sujeto ha heredado de sus padres biológicos (MerchánI, et al., 2017 pp. 5-6).

En la genotipificación bovina se hace uso de segmentos del ADN llamado microsatélites, los cuales son marcadores genéticos que estudian la herencia de los genes en las familias y presentan numerosas formas denominadas alelos, cada microsatélite animal tiene 2 alelos; uno heredado paterno y otro materno; es así como la determinación de los alelos localizados en los microsatélites presentes en el ADN de un semoviente posibilita obtener una mezcla especial que se llama genotipo del ejemplar en cuestión (Finegold, 2021 pp. 12-15).

Este tipo de estudios tienen la posibilidad de garantizar la identidad de los animales a partir de una edad corta con un beneficio directo para el productor. Por otra parte, generan un costo agregado a otros productos como: semen, embriones, óvulos y veceros, en la utilidad asegura los principios productivos de los animales, posibilita solucionar dudas en los procesos reproductivos, optimiza los cruces, permite ser más acertado en la selección en la venta de hembras, controla mejor los procesos de renovación del hato optimizando la productividad (García, et al., 2018 p. 18).

La amazonia ecuatoriana tiene un gran potencial en cuanto a espacio físico para la ganadería que debe ser aprovechada de forma sostenible, utilizando excelentes recursos genéticos que en la actualidad se encuentran disponibles y técnicas como la genotipificación que permiten hacer uso del mejor material genético, a fin de incrementar la cantidad de carne y leche. Entre los años 2000-2011, los pastos han aumentado en 116 mil hectáreas que representan el 69,2% de todo el crecimiento de la tipología de uso agrario en el territorio amazónico (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2022 p. 8).

En la industria ganadera se necesita elegir reproductores con propiedades genéticas deseables, resistentes a ambientes extremos, enfermedades, con rendimientos aceptables en masa corporal, cantidad y calidad en la producción cárnica y láctea. Lo que ha permitido que la utilización de técnicas biotecnológicas de selección asistida como los marcadores moleculares se han

convertido en los últimos años en una alternativa fundamental para obtener adecuados rendimientos productivos con forme al interés zootécnico del productor.

Por la antes mencionado se ha seleccionado la genotipificación como una alternativa para la selección de cualidades de interés zootécnico y económico como: índice de producción, facilidad de parto, tasa de preñez en novillas, ganancia diaria de peso, terneza, marmoleo, calidad y cantidad de leche, entre otros. A fin de contribuir en la optimización genética, para obtener descendencia con propiedades determinadas de forma más inmediata y eficiente, reduciendo los intervalos entre generaciones y los precios de producción en la región amazónica ya que se cuenta con material genético de alta calidad adaptado muy bien en la zona climática.

Es por ello que la presente investigación se realizó la genotipificación y análisis de genes de interés comercial de reproductores bovinos de la Estación Experimental Pastaza de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Por lo señalado anteriormente se plantea los siguientes objetivos:

- Determinar la calidad genética de los reproductores bovinos de la Estación Experimental Pastaza de la ESPOCH mediante los resultados obtenidos de la Genotipificación y análisis de genes de interés comercial.
- Evaluar la fertilidad de los reproductores mediante Pruebas de Fertilidad para la posterior crio conservación de su material genético.
- Elaborar una ficha técnica con la información acerca de los reproductores bovinos de la Estación Experimental Pastaza de la ESPOCH.
- Conocer los costos de las técnicas y tecnologías aplicada.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Generalidades del bovino de la raza Charolais

1.1.1. *Origen*

La raza Charolais es originaria del centro este de Francia del Distrito de Charol, tuvo sus inicios en las antiguas provincias francesas de Charolles y de Niemen, situadas en las regiones centro oeste y sudoeste de Francia, se desconoce el ganado que dio origen a esta raza, ya que tiene una gran capacidad de producir carne debido a su gran masa muscular con abundante manto de carne los cuartos posteriores, donde se encuentran los cortes de mayores cualidades de sabor cárnico (Bavera, 2014, p. 131).

En la edad adulta esta raza alcanza altos pesos, en cuanto a las características físicas su pelaje es de color blanco y existen dos variedades: mocha y astada. La misma que ha sido tradicionalmente utilizada en cruza con razas británicas, especialmente con Angus, con la finalidad de lograr reses con mejor rendimiento de carne a partir de su menor contenido de grasas. Se la cataloga como "Raza continental" debido a su origen europeo (Bavera, 2014, p. 131).

En años anteriores el proceso de desarrollo era pausado, pero ahora se da mayor rapidez, a partir de una raza geográfica antigua de color crema que habitaba la comarca de Charolais, posiblemente esta forma ancestral tenía varias características en común con el ganado Simmental de Suiza y Alemania. En su origen de triple aptitud (carne, trabajo y leche) los Charolais se han convertido en una raza especializada de carne que va aumentando rápidamente su reputación (Bavera, 2014, p. 131).

1.1.2. *Características físicas*

La raza Charolais tiene ciertas características propias por ejemplo: el pelo puede ser corto en verano, se espesa y se alarga durante las épocas de frío intenso. La mayoría de los terneros nacen con cuernos, aunque muchos criadores los extirpan cuando los terneros son jóvenes. A campo toman un tinte blanco pajizo. El cuerpo es voluminoso y cilíndrico, su piel es suelta y de espesor medio, el pelo es suave. Una de las características más destacables consiste en la

musculatura sumamente desarrollada que se encuentra en las extremidades y sobre el lomo de los mejores representantes de la raza (León, 2011, p. 11).

La cabeza es corta, profunda y ancha sus ojos son de color oscuro, los cuernos pálidos y nacen lateralmente, encorvándose hacia adelante y hacia arriba en su extremidad. Los machos adultos presentan una abultada musculatura en la región cervical y tienen un cuerpo largo y profundo, con una línea dorsal casi horizontal y costillar bien arqueados. La pelvis es de longitud y caída moderadas, lo que da a estos animales un aspecto escurrido en los cuartos traseros, pero los muslos están bien desarrollados y redondeados por detrás. Las extremidades son bastante largas y con huesos recios, característica conveniente en los animales de tiro (Jaramillo, 2014, p. 8).

1.1.3. Características funcionales

El tamaño del ganado Charolais es grande, se caracteriza por su gran apetito que puede satisfacer consumiendo forrajes bastos y poco apetecibles, también, puede convertir el alimento consumido en carne con una gran eficacia, esta aptitud, añadida a su gran rusticidad y enorme docilidad, permite que se adapte muy bien a todos los sistemas de crianza ya sean extensivos e intensivos (Jaramillo, 2014, p. 8).

En la tabla 1-1, se puede observar los promedios zoométricos y el peso vivo de la raza Charolais, en lo cual los toros adultos pueden presentar pesos que oscilan de los 900 a 1,250 kg, y las hembras pesos que van desde los 560 a 900 kg.

Tabla 1-1: Peso vivo y promedios zoométricos de la raza Charolais

Variables	Machos		Hembras	
	1 Año	Adultos	2 años	Adultas
Peso vivo (kg)	516	1086	614	812
Alzada a la Cruz (cm)	122	142	130	137
Perímetro Torácico (cm)	182	239	199	217
Profundidad Torácica (cm)	46	64	51	59
Anchura de Grupa	44	55	53	57

Fuente: (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 1968 pp. 353-354).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

Además, Esta raza en explotaciones intensivas bajo una amplia variedad de condiciones ambientales ha presentado buenos rendimientos productivos y en cuanto a las hembras y machos

son utilizados para mejorar el ganado por medio de cruzamientos, gracias a la buena reputación que se ha ganado (Ganzábal, 2015 p. 9).

1.1.4. Características reproductivas

El ganado Charolaise se la destina para la producción de carne, tanto vigilada como estabulada. Las terneras paren por primera vez a una edad aproximada y pueden llegar a tener cuatro terneros en su vida activa, además los terneros nacen a intervalos de un año. Los toros son rápidos en su servicio y se utilizan por primera vez cuando llegan a los 15 meses de edad. Su vida normal reproductora dura unos seis años (French, 2017 p. 20).

Los machos por lo general al nacer pesan unos 45 kg y las hembras unos 42 kg. Habitualmente las vacas no se utilizan para la producción lechera, sin embargo producen lo suficiente para criar un ternero por año, siendo un rendimiento estimado que llega a los 3.000 litros por lactación. En el caso de los gemelos el peso al nacer es por término medio de 47 kilogramos para los machos y 43 kilogramos para las hembras. El promedio de incremento diario en el peso hasta los seis meses de edad es de 1,15 y 1,04 kilogramos para los machos y las hembras respectivamente (French, 2017 p. 20).

En la tabla 2-1 se describe los parámetros reproductivos del ganado Charolais:

Tabla 2-1: Parámetros reproductivos de la raza Charolais

Parámetros reproductivos	
Taza de preñez	81%
Tasa de supervivencia	96%
Tasa de destete	78%

Fuente: (Ganaderia.com, 2017).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

Por parte de Galván (1991, p. 75), menciona que la hembra produce un ternero anualmente sin dificultad, gracias a su buena fertilidad, longevidad, prolificidad y a su buen intervalo entre partos. Cabe mencionar que poseen una excelente capacidad lechera. El primer parto se presenta a los 2 años de edad. El intervalo entre el primer y el segundo parto es mayor de un año, luego de esto presentará partos anuales, puede tener hasta 4.5 partos en su vida productiva y la probabilidad de tener partos gemelares es de 2.8 a-3%. La infertilidad es baja de 7,52 % y la mortalidad de 4%. El peso al nacer de la hembra es de 45 Kg y de 48 Kg en

los machos, aunque pueden llegar a 60 kg. Los terneros en sus primeros 4 meses tendrán ganancias de peso diarios de unos 1100 gramos.

1.1.5. Características productivas

El ganado Charolaise engorda satisfactoriamente en los prados o en el establo y da carne de excelente calidad. Aunque ésta presenta una elevada proporción de grasa intramuscular (marmorización) los depósitos superficiales son excepcionalmente escasos. Los animales sacrificados al terminar su engorde en el prado dan un rendimiento a la canal del 40 al 45 por ciento, pero cuando se engordan en régimen de estabulación los bueyes jóvenes con frecuencia dan un rendimiento del 60 al 70 por ciento en la canal (Mendoza, 2019, p. 4).

El ganado Charolaise se engorda de satisfactoriamente en los prados o en el establo el mismo que da carne de excelente calidad. Sin embargo presenta una elevada proporción de grasa intramuscular (marmorización) los depósitos superficiales son excepcionalmente escasos. Estos ejemplares al terminar su engorde ofrecen un rendimiento a la canal del 40 al 45 por ciento, pero cuando se engordan en régimen de estabulación los bueyes jóvenes por lo general dan un rendimiento del 60 al 70 por ciento (Galván, 1991, p. 75).

En la tabla 3-1, se describe los parámetros productivos del ganado Charolais.

Tabla 3-1: Parámetros productivos de la raza Charolais

Parámetros productivos	
Peso al destete	268 – 295 kg
Peso al año de edad	480 kg
Ganancia de peso diría (novillos de engorde)	1,58 kg
Conversión alimenticia	1 kg * 7,26 kg
Rendimiento a la canal	65 – 68 %
Relación de ganancia de peso	78% musculo/canal, 12-14% grasa/canal y 15-18% hueso/canal

Fuente: (Ganaderia.com, 2017).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

1.1.5.1. Aptitud

La Charolais es una raza destinada para la producción de carne por excelente calidad, ya que en la actualidad se la consideraba para distintos propósitos este tipo posee buena conformación

cárnica, de bajo contenido de grasa, en cuanto a las hembras están son muy apreciadas por sus diferentes cualidades entre ellas su fertilidad y prolificidad pues tiene una alta tasa de partos de gemelos, con buena producción de leche para poder alimentar correctamente a su cría, siendo la mejor entre las razas destinadas a carne (Jaramillo, 2014, p. 8).

Posee una gran velocidad de crecimiento este puede llegar hasta 2,5 kg/día, gracias a su alta rusticidad se adapta muy bien a los diferentes sistemas de crianza y condiciones ambientales, logrando buenas ganancias de peso con forrajes bastos. Los machos son utilizados para cruzamientos con otras razas, ya que se considera que este transmite a su descendencia las cualidades cárnicas que posee, por lo cual adquirirlo para reproductor suele ser costoso (Jaramillo, 2014, p. 8).

1.1.5.2. Cualidades cárnicas

La producción de carne es uno de los principales propósitos del charolais, esta raza dispone de una gran variabilidad de productos que entrega bajo distintas categorías (edad, sexo, condiciones generales). Esta clase de animales tiene un crecimiento inigualado con una ganancia media diaria que puede alcanzar 2200 gramos en periodo de engorde; proporcionando una enorme capacidad de ingestión vinculada a su tamaño, su profundidad de pecho y su volumen digestivo. Un potencial de crecimiento que restringe los insumos en favor de carcasa sin exceso de grasa de cobertura y de una carne ligeramente veteada de primera calidad, apreciada por el consumidor por el sabor, color y terniza (Jaramillo, 2014, p. 9).

1.2. Cruces de Charolais

El ganado Charolais se ha cruzado con una serie de razas como la: Normando, Holstein, Simmental, Blonde D'Aquitaine y el más apto para la zona del trópico es el Cebú, el mismo que es uno de los más recomendados para mejorar la producción cárnica, a diferencia de las hembras se cuenta con una gran ventaja ya que estas tienen una buena habilidad materna para destetar muy buenos terneros, con la suficiente producción de leche para la cría, el objetivo de selección de este tipo de animales, ya que la Charolais es una raza muy dominante frente a otras, pues al realizar el cruzamiento, esta tiende a imponerse tanto en su parte física por el color de su pelaje, como en el potencial de estos animales en la producción de carne. Esta parte dominante también se ve en la ganancia de peso, rendimiento a la canal, calidad de la canal, fertilidad y habilidad materna (Jaramillo, 2014, p. 9).

1.3. La genómica

Los análisis genéticos tradicionales para ganado vacuno han permitido obtener una gran cantidad de información sobre la producción, reproducción y de detección de enfermedades en los programas de mejoramiento genético, tipo y características de conformación en los animales. Estos análisis se han basado en los registros productivos y en el pedigrí (registros genealógicos), seleccionando animales sobresalientes o con mérito genético con la capacidad de producir eficientemente y transmitir su potencial genético a la descendencia. Sin embargo, debido al tiempo que requiere llevar estos registros, además de cubrir los costos elevados es necesario para una evaluación genética por prueba de progenie. El medir las características productivas de las hijas y coleccionar datos suficientes para una mayor precisión al momento de hacer la evaluación para la estimación del valor de cría (Marín, 2013, p. 9).

Con la llegada de la tecnología y los microarreglos de alta densidad (chips genómicos), en la actualidad se dispone de distintas plataformas para la genotipificación de miles de marcadores moleculares SNP's simultáneamente que unidos a las evaluaciones genéticas tradicionales permitirán elevar la precisión de los valores genéticos de animales superiores con una confiabilidad del 75% para animales muy jóvenes, disminuyendo costos de producción de los toros utilizados para la venta de semen probado y de las evaluaciones genéticas sobre todo en machos y hembras jóvenes (Marín, 2013, p. 4).

Las evaluaciones genómicas tienen un sinnúmero de ventajas frente a las evaluaciones genéticas tradicionales, entre las cuales están:

- El incremento en la intensidad de la selección por el incremento del número de animales en prueba con los mismos recursos económicos que pueden optar por el mejoramiento genético
- La selección de características de baja heredabilidad con mejor precisión y resultados.

Todo lo antes mencionado hace posible mejorar caracteres funcionales que bajo un sistema de selección tradicional mostrarían progresos genéticos bajos (Marín, 2013, p. 4).

En la actualidad, la genómica es la subdisciplina de la genética creada con la finalidad de caracterizar molecularmente los genomas completos, el mismo que surge de la integración de las cinco áreas tradicionales de genética (genética mendeliana, citogenética, genética molecular, genética de poblaciones y genética cuantitativa) con una serie de disciplinas nuevas todas ellas asociadas a la estadística, la bioinformática y la robótica (Marín, 2013, p. 4).

1.3.1. Metodología del análisis de los genomas

Según (Ortega, 2011, p. 415), manifiesta que las distintas técnicas de biología molecular han logrado el conocimiento detallado de los genomas. El desarrollo que ha permitido la aplicación de técnicas de mapeo físico, genético y comparativo, admiten la posibilidad de asignación física específica de los genes dentro de un cromosoma, determinan la sintenia entre marcadores y obtienen de manera conjunta, información tanto de genes como de marcadores.

El avance en el conocimiento de la química de los ácidos nucleicos, la automatización de los procesos de laboratorio y la biología computacional, han contribuido al conocimiento de la organización y variabilidad genética de las especies, a tal punto, que en la actualidad se dispone de pruebas de laboratorio que permiten obtener información rápida y confiable de caracteres genéticos de importancia económica en especies de gran valor productivo. Algunos ejemplos en bovinos incluyen la detección de genes como los de la tiroglobulina, la calpastatina y la miostatina, implicados en características como el marmóreo, la ternera de la carne y la doble musculatura respectivamente (Sánchez, 2008, p. 6).

1.3.2. Descripción molecular del genoma bovino

El genoma bovino está compuesto por 29 pares de autosomas y un par de cromosomas sexuales. La mayor diferencia cariológica entre: *Bos taurus* y *Bos indicus*; las dos especies de ganado bovino se encuentra en el cromosoma Y: en *Bos indicus* este cromosoma es acrocéntrico mientras que en *Bos taurus* es submetacéntrico (Arcila, 2006 p. 2).

Para (Ortega, 2011, p. 2415), quien describe que un mapa inicial derivado de clones de BACs del genoma bovino fue construido a partir de fragmentos de restricción de 290.797 clones de animales de tres diferentes razas, que incluyeron Charolais, Holstein y Angus, en donde fueron incluidos los genotipos y pedigrís de dos mapas genéticos y un set de marcadores obtenidos a partir de mapas de híbridos por radiación, los cuales fueron consolidados en un mapa con 17.254 marcadores en total. En el primer borrador de la secuencia del genoma bovino se generó a partir de un individuo de la raza Herford, mientras que la base de datos para SNPs ha sido generada a partir de seis razas diferentes: Holstein, Angus, Jersey, Limousin Norwegian Red y Brahman.

De los datos obtenidos tanto de los mapas físicos, genéticos y del secuenciamiento; se estima que el total del genoma bovino consta de 2,87 Gpb (2870 millones de pares de bases); a la fecha, se ha reportado anotaciones de 4000 genes, de los 22,000 que probablemente lo constituyen. Además, se han identificado 496 micro RNAs, la mitad de los cuales se encuentran distribuidos

en 60 grupos génicos separados por 10 Kb, conteniendo de 2 a 7 genes cada uno. El 41,7% es el contenido total de GC, y al igual que en otros mamíferos el genoma está compuesto de muchos elementos transponibles y un número de repeticiones específicas para rumiantes, que conforman cerca del 27% del total de genoma (Ortega, 2011, p. 2415).

1.3.3. ADN Satélite

Fue el primero identificado como bandas satélites respecto a una banda principal, cuando el ADN se ultra centrifugaba en gradientes de densidad (28), ahora el ADN satélite hace referencia a cualquier secuencia repetida en tándem. Este ADN principalmente se encuentra localizado en el centrómero. Existe en el centrómero de los bovinos tres secuencias cortas, que se cree se formaron a partir de la duplicación o triplicación de una corta secuencia única de entre 11 y 12 pb (Ortega, 2011, p. 2416).

En los bovinos el ADN satélite representa a más de un cuarto del contenido total del genoma. La separación de éste por centrifugación en gradientes de densidad permite identificar ocho grandes porciones de ADN satélite (1706, 1709, 1711a, 1711b, 1715, 1720a, 1720b y 1723 g/cm³) y once componentes menores; representando un 23 y 4% del total respectivamente. La porción de 1706 fue la primera secuenciada y se observó que está compuesta de una región de 2350 pb con una estructura de repeticiones alternadas de dos subsecuencias cortas, una de 12 pb y otra de 11 pb (Ortega, 2011, p. 2416).

Se ha determinado que las diferentes partes de ADN satélite bovino comparten secuencias similares. Por ejemplo, el componente de 1715 corresponde a un elemento básico de 31 pb repetido en tándem para formar una secuencia de 1402 pb, que a su vez se repite hasta 110.000 copias en el genoma de bovinos. Dos elementos diferentes han sido descritos en la región 1711 (1711a y 1711b); el segmento de 1711b es idéntico al elemento satélite de 1715 pero con una inserción de 1198 pb, llamado INS1711pb, cercanamente relacionado con la porción LTR (long terminal repeat) de un retrovirus. La porción 1711a contiene una secuencia llamada INS-1711a de 602 pb la cual comparte un segmento con la secuencia INS-1711b. La porción de 1723 no está relacionada con ninguna de las otras regiones y tampoco contiene unidades de repetición. La unidad de 1709 está compuesta de una secuencia de 3200 pb y aloja las dos secuencias Bov-A2 y Bov-B (Ortega, 2011, p. 2417).

1.4. Genotipificación

Es el proceso a través del cual se obtiene el genotipo (huella de ADN o perfil genético) de un organismo. Estas técnicas moleculares utilizan el ADN de un organismo, siendo este un material hereditario de los seres vivos, que se localizan en todas las células nucleadas del cuerpo (ej. Glóbulos blancos, células de las fibras musculares, espermatozoides y folículos pilosos) y normalmente se mantiene conservado durante toda la vida del animal (Bravo, 2017, p. 1).

El análisis permite conocer el material genético heredado de sus padres biológicos por un individuo. En este tipo de pruebas se utilizan segmentos del ADN que han sido denominados microsatélites, los mismos que pueden presentar varias formas llamadas alelos. Para cada microsatélite, cada animal tiene dos alelos, uno heredado del padre y otro de la madre, es así como la determinación de los alelos ubicados en los microsatélites presentes en el ADN de un individuo, admite obtener una combinación particular que se denomina genotipo (perfil genético) del ejemplar en cuestión (Bravo, 2017, p. 1).

El procedimiento en el laboratorio para realizar la genotipificación se puede dividir en 3 pasos:

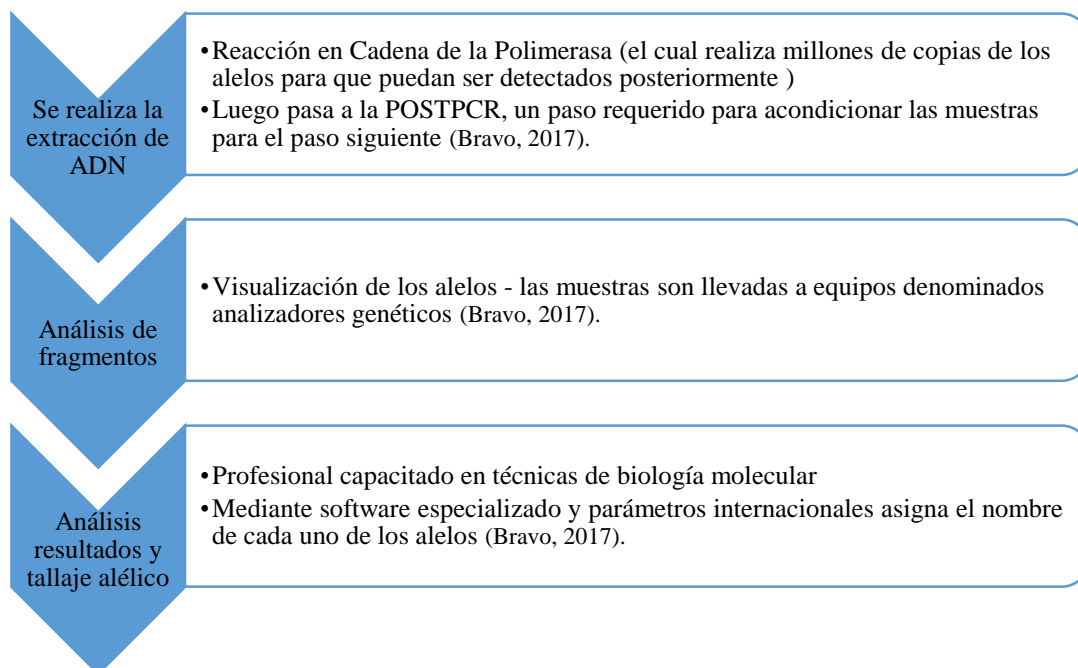


Ilustración 1-1: Procedimiento en el laboratorio para realizar la genotipificación

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

La Sociedad Internacional de Genética Animal (ISAG), teniendo en cuenta los microsatélites bovinos, equinos, caninos y felinos son los más empleados en los laboratorios que realizan este tipo de pruebas en el mundo; se ha establecido y recomendado un grupo de microsatélites como

los que mejor se comportan para llevar a cabo pruebas de genotipificación y de parentesco en bovinos a nivel internacional.

1.4.1. Utilidad de la genotipificación

Para (Bravo, 2017, p. 3) el perfil genético o genotipo de su animal le permite realizar, con una alta confiabilidad, el seguimiento (trazabilidad molecular) de éste dentro de cada una de las etapas de su vida y en la cadena productiva (productos cárnicos, lácteos, semen, óvulos). Esto garantiza la identidad de los animales más preciados en todas las etapas productivas, ver tabla 4-1.

Tabla 4-1: Utilidad de la genotipificación

	Características
Utilidad de la genotipificación	<ul style="list-style-type: none"> • Garantizan la identidad del animal a los dueños de los animales como a quien los vende. • Da un valor agregado a los productos (Semen, óvulos, embriones, animales...). • Esclarece dudas en el pedigrí de los animales, garantizando el origen de los mismos. • Permite resolver confusiones en los procesos de Inseminación Artificial. • Pueden ser identificados en cualquier parte del mundo, al emplear metodologías internacionales. • Abigeato o robo de animales. • Identificación de animales perdidos. • Identificación de animales en incidentes como ataques y daño a la propiedad privada.

Fuente: (Bravo, 2017, p. 3).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

Metodología de la genotipificación

Según el protocolo de BIOTECGEN para la genotipificación de los ejemplares se utilizó la siguiente metodología:

- 1. Identificación y cadena de custodia:** se llevó a cabo la identificación de los ejemplares a partir de su registro de genealógico y se asignó un código de laboratorio a cada muestra. Así mismo, se realizó un minucioso registro, seguimiento y control de cada uno de los procedimientos realizados sobre las muestras desde la toma, incluyendo todos

los procesos de laboratorio, análisis de resultados y emisión del informe final, garantizando así la cadena de custodia.

El software BIOSOFTGEN fue empleado para el registro de los procedimientos de laboratorio y de los responsables de su ejecución en el formato de cadena de custodia, así como para el desarrollo del informe final de resultados.

- 2. Extracción de ADN y amplificación de los sistemas genéticos:** las muestras de folículo piloso fueron procesadas mediante un protocolo de extracción de ADN con hidróxido de sodio reportado por **Troy et al. (2001)** y eventualmente mediante adaptación de un protocolo de extracción con fenol cloroformo descrito por Fernández et al. (2006). En el caso de muestras de sangre, éstas fueron procesadas por el método de Salting out o según las instrucciones de los fabricantes del reactivo y las tarjetas FTA™ de gibco brl products.

En el caso de las muestras de semen, el ADN se obtuvo con el kit comercial DNEASY® de marca QIAGEN, o por modificación del protocolo de fenol cloroformo. Los marcadores moleculares analizados en la prueba y que corresponden a microsatélites o repeticiones cortas en tandem (Short Tandem Repeats, STR's), fueron los siguientes: tgl227, bm2113, tgl53, eth10, sps115, tgl126, tgl122, inra23, eth3, eth225, bm1824, sps113, rm067, bm1818, csm60, mgtg4b, cssm66, ilsts006 y se amplificaron a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) empleando el kit comercial: "bovine genotypes™, panel: 3.1\" de finnzymes diagnostics.

- 3. Genotipificación y asignación de alelos:** los productos amplificados fueron analizados con el marcador de peso molecular: "genescan 500 liz size standard\" y con métodos automatizados de detección fluorescente, los cuales fueron empleados en el analizador genético de electroforesis capilar: applied biosystems 3500 de applied biosystems. Para la asignación del tamaño de los alelos en pares de bases y su nombramiento, se empleó el software: genemapper version 3.2 de applied biosystems.

- 4. Interpretación de resultados y emisión del informe final:** se dispone de datos de identificación de los animales, los propietarios y responsables de la toma de muestras, los códigos asignados, fechas de recepción de las mismas, procesamiento en el laboratorio y emisión del resultado. El informe consta de una tabla en la que se reportan los marcadores genéticos analizados en cada muestra y los resultados obtenidos por cada alelo, de tal forma que el individuo es homocigoto para el sistema cuando tenga el mismo número de repeticiones cortas o STR., en sus dos alelos (los mismos números)

y heterocigoto cuando el número de repeticiones cortas sea distinto en cada alelo (números distintos).

Los espacios en blanco o la ausencia de algún marcador son presentados cuando el marcador genético no permitió la detección clara de alguno(s) de los alelos del ejemplar analizado. Como mínimo se deberán reportar 14 marcadores moleculares por cada muestra. Finalmente, la veracidad del informe es respaldada por la firma del profesional y el director de laboratorio. Los resultados no podrán ser reproducidos o modificados total ni parcialmente.

5. **Control de calidad del procedimiento y los resultados:** Se utilizó un control positivo que corresponde a ADN bovino, suministrado por el kit comercial "\"bovine genotypestm, panel 3.1\" de finnzymes diagnostics y controles negativos de extracción y PCR, que no incluían ADN. Biotecgen S.A., es miembro de la sociedad internacional de genética animal (INTERNATIONAL SOCIETY OF ANIMAL GENETICS, ISAG) y participa en los ejercicios de calidad externos organizados por esta entidad. Biotecgen S.A, tiene implementado un sistema de gestión de calidad.

1.4.2. *Microsatélites*

Los microsatélites establecen cortas regiones de ADN, de 1 a 6 pb periódicas en tandas dentro de los genomas eucariotas, cuya repetición puede llegar hasta 60 o más veces estas se heredan de forma mendeliana y la posibilidad de tener varios alelos de un locus particular en las poblaciones, los hacen útiles en el análisis de identificación, estudios poblacionales, análisis de enfermedades genéticas particulares asociadas a expansión de repeticiones y genética forense. Técnicamente los microsatélites son fáciles de identificar utilizando la metodología de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), la cual permite flanquear con iniciadores específicos los extremos de los mismos y luego pueden ser detectados con tinción en plata o con fluorocromos en secuenciadores automáticos (Ortega, 2011, p. 2417).

En los bovinos existen más de 83 microsatélites utilizados para estudios población de los cuales aproximadamente 30 son recomendados por la Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y alimentación (FAO) debido a su alta reproducibilidad y polimorfismo. Actualmente los estudios de paternidad en ganado utilizan una batería entre 10 y 15 marcadores de tipo microsatélite recomendados por la Sociedad Internacional de Genética Animal (Ortega, 2011, p. 2417).

1.4.2.1. Los microsatélites como marcadores genéticos

Los microsatélites son secuencias, repetidas en tándem entre 10 y 30 veces e intercaladas al azar en el genoma de todos los organismos eucariota que estos elementos muestran una variación en cuanto a su longitud que se hereda de una forma estable mediante el modelo mendeliano. Se han observado las secuencias microsatélites en todos los genomas eucariotas y, en muy poca medida, en los procariotas (Ortega, 2011, p. 2418).

Existen al menos 35.000 secuencias de este tipo en el genoma haploide humano distribuidos al azar, por lo que se cree que se encuentran cada 100.000 pb aproximadamente. En los eucariotas se puede encontrar, al menos una secuencia microsatélite cada 10.000 pb. Al parecer se encuentran de forma uniforme distribuidos en los cromosomas, aunque se ha observado que están poco representados en las regiones teloméricas y centroméricas, tanto en el hombre como en animales domésticos (Ortega, 2011, p. 2418).

La frecuencia de las distintas secuencias microsatélites es distinto según el genoma estudiado, aunque se ha observado que en todos ellos las más comunes son las repeticiones dinucleotídicas, seguidas de las mononucleotídicas, trinucleotídicas y en menor medida el resto. Las repeticiones (CA)_n son las más estudiadas hasta ahora ya que son las más abundantes en el genoma de mamíferos. En todos los genomas eucarióticos analizados se ha observado una muy escasa presencia, o incluso total ausencia, de repeticiones tipo (GC)_n, aunque se encuentran algunas secuencias con repeticiones (GC)_n como es el caso de un microsatélite formado por (GC) 15(TG) 19 encontrado en el genoma del caballo (Martínez, 2014, p. 45).

De acuerdo a la estructura los microsatélites pueden ser :perfectos los mismos que contienen únicamente un motivo nucleotídico repetido n veces, imperfectos que contienen una secuencia no repetitiva intercalada entre las repeticiones y compuestos son aquellos que están compuestos por dos o más ramos de motivos repetitivos. Existen muchas hipótesis una de ellas es que puede tener una función en el mantenimiento de la estructura de los cromosomas (Martínez, 2014, p. 45).

Además están asociados con la regulación génica, tanto con un incremento en la velocidad de la transcripción de un gen, como con una reducción en la misma. Además se han relacionado con puntos de alta frecuencia de recombinación (“hot spots”). Por otra parte, aunque es posible que los microsatélites no tengan una función común sin embargo si tienen un mecanismo común de evolución (Martínez, 2014, p. 46).

La conservación de los microsatélites entre especies próximas e incluso los cebadores utilizados para amplificar una determinada secuencia en una especie, se utilizan para la amplificación de

una secuencia análoga en una especie cercana. Este proceso de microsatélites dinucleotídicos en chimpancés usando cebadores humanos indica que los microsatélites están muy conservados en cuanto a su localización cromosómica y esta conservación podría sugerir una conservación funcional (Martínez, 2014, p. 57).

La comparación de especies distantes desde el punto de vista evolutivo se considera que la conservación es baja. Entre primates, artiodáctilos, roedores y lagomorfos no se alcanza el 30% de secuencias microsatélites conservadas. El polimorfismo de los microsatélites corresponde a la variación en el número de unidades repetidas. Se caracterizan por estar distribuidos por todo el genoma y ser muy abundantes; también, son muy polimórficos ya que se utilizan ampliamente como marcadores genéticos. Fueron definidos por primera vez como marcadores de DNA polimórficos en 1989 y desde entonces, han probado ser una herramienta excelente para hacer mapeo genético en varios organismos, estudios forenses, estudios genéticos de manejo y conservación de poblaciones (Martínez, 2014, p. 46).

Por lo general se utiliza para el control de paternidad en especies domésticas, para detectar poblaciones consanguíneas, en los estudios filogenéticos, para examinar el ligamiento entre la distribución geográfica y genética de las poblaciones, para la asignación de individuos a poblaciones, entre otras. Los microsatélites son marcadores neutros con respecto a la selección, puesto que no se ven modificadas sus frecuencias como consecuencia de la selección llevada a cabo en una población. Para un marcador neutral, el grado de polimorfismo está en función de la tasa de mutación. La tasa y la dirección de la mutación constituyen dos factores básicos en la estimación de distancias genéticas, particularmente cuando se tiene en cuenta el tiempo de divergencia entre dos poblaciones (Pinos, 2013, p. 14).

1.4.2.2. Mecanismos de mutación de los microsatélites

Los marcadores microsatélites tienen un gran impacto en la genética de poblaciones; se han convertido en los marcadores dominantes de elección., en donde mutan a una tasa extremadamente alta y se piensa que evolucionan bajo el modelo de mutación por pasos (Stepwise Mutation Model), que se caracteriza por la adición o supresión de uno o más grupos de bases, aunque los dinucleotídicos, tienen un modelo de mutación más parecido al modelo de alelos infinitos (IAM) (Martínez, 2008, p. 54).

En los microsatélites más largos se ha observado que tienden a acortarse cuando ocurre una mutación. La alta tasa de mutación conduce a varios problemas: la probabilidad de diferenciar dos alelos idénticos por descendencia o por estado decrece conforme la tasa de mutación se

incrementa; las inferencias tomadas a partir del valor de F_{st} , como detectar el número de migrantes, pueden resultar sesgadas por la imposibilidad de separar los efectos de mutación y migración (Martínez, 2008, p. 54).

Se ha demostrado que cuando el proceso de mutación es con el modelo por pasos, la migración puede ser diferenciada del proceso de mutación. No se puede aplicar eficientemente en los microsatélites dinucleotídicos en donde la similitud no debida al parentesco (homoplasia) es frecuente. La homoplasia causa una subestimación de la variación entre poblaciones y por ende de las distancias genéticas y por tanto se produce una sobreestimación de las similitudes entre las poblaciones (Martínez, 2008, p. 54).

1.4.2.3. Modelos de Mutación

Generalmente la mutación de los microsatélites implica un cambio en el tamaño de una repetición, pero a veces, comprende varias unidades de repetición. Los modelos de mutación son necesarios si las frecuencias alélicas de dos grupos de individuos se utilizan para calcular distancias genéticas entre ellas. El uso de un modelo de mutación específico es esencial para la estimación de parámetros de las poblaciones (diferenciación genética, número de migrantes por generación, etc.) que son dependientes del modelo de mutación propuesto para los marcadores (Martínez, 2008, p. 55).

Se han propuesto para microsatélites dos modelos de mutación opuestos, el modelo infinitesimal (IAM) y el modelo de mutación por pasos (SMM). El SMM describe la mutación de los alelos de los microsatélites por la pérdida o ganancia de una unidad de repetición de la serie y que puede mutar y convertirse en algún alelo existente en la población. En contraste, bajo el IAM, una mutación comprende cualquier número de repeticiones y siempre resulta en un alelo que no existía en la población (Martínez, 2008, p. 55).

1.4.2.4. Selección de microsatélites para caracterizar genéticamente poblaciones bovinas

Según (Martínez, 2008, pp. 55-56), manifiesta que, a través de un grupo de expertos de la Sociedad Internacional de Genética Animal (ISAG), determinó una serie de recomendaciones acerca de las propiedades que deben reunir los microsatélites para el análisis de distancia genética y la caracterización de las distintas especies de interés zootécnico.

En la tabla 5-1 se indica la caracterización de las especies de interés zootécnico.

Tabla 5-1: Caracterización de las especies de interés zootécnico

	Características
Caracterización de las especies de interés zootécnico	<ul style="list-style-type: none">• Deben ser de dominio público.• Es importante conocer su situación en los mapas genéticos de la especie y no presentar relaciones de ligamiento entre ellos.• Las variantes alélicas deben tener una herencia mendeliana simple.• Cada microsatélite debe tener al menos cuatro alelos, aunque los marcadores con un alto grado de mutación no siempre son los más idóneos pues pueden dar lugar a desajustes en la segregación y no ser adecuados para los análisis de distancia genética.• Cuando sea posible siempre es mejor utilizar marcadores interespecíficos (comunes a varias especies) Siguiendo estos criterios, la FAO (FAO, 1998) recomendó una lista de 30 microsatélites para estudios de biodiversidad bovina.

Fuente: (Martínez, 2008, pp. 55-56).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

En el año 2004, se publicaron los resultados de una encuesta realizada por la FAO acerca de estudios de diversidad genética en animales domésticos que, determinan que esta lista no era muy utilizada en estudios de bovinos, lo que condujo a que la FAO recomiende una nueva lista de microsatélites para bovinos.

1.4.2.5. Técnicas para la caracterización alélica de microsatélites

Existen tres etapas para la caracterización de microsatélites de DNA:

- Extracción del DNA
- Reacción de amplificación mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)
- La electroforesis del producto de la reacción.

Los protocolos de extracción de DNA o RNA dependen del material biológico utilizado (sangre, semen, pelo, orina, heces, saliva, etc.) y el uso posterior del ácido nucleico obtenido. En general, los protocolos de extracción de DNA constan de dos partes, en una primera se pretende lisar las células y solubilizar el DNA y, en la segunda, eliminar por métodos enzimáticos y/o químicos, las proteínas, el RNA y otras macromoléculas (Martínez, 2008, p. 56).

A través de estas técnicas se logran grandes cantidades de DNA de alto peso molecular a partir de pequeñas muestras de tejido fresco o congelado, así como la posibilidad conservar durante largos periodos de tiempo el material obtenido. El DNA eucariótico purificado se ha obtenido sometiendo muestras de tejidos a una digestión con proteínas K en presencia de SDS y EDTA,

varias extracciones con fenol y cloroformo y finalmente precipitación alcohólica en presencia de sales. A partir de este protocolo inicial han surgido otros que pretenden reducir el riesgo al manipulador, el tiempo empleado para obtener el DNA purificado y, por último, los costos. En el caso de utilizar el DNA obtenido exclusivamente para amplificar secuencias microsatélites mediante la PCR, las exigencias de purificación disminuyen enormemente habiéndose diseñado estrategias realmente sencillas para preparar la muestra (Martínez, 2008, p. 57).

Después de que se haya obtenido el DNA modelo a ser amplificado, la siguiente etapa consiste en la reacción de amplificación. La duplicación del DNA *in vitro* sucede de forma semejante a lo que ocurre dentro de la célula exigiendo básicamente los mismos componentes: DNA molde, desoxinucleótidos trifosfatados (dATP, dCTP, dTTP, dGTP), DNA polimerasa y cebadores oligonucleotidos. La PCR consiste en ciclos repetidos de amplificación, de 30 a 45, con tres etapas en cada ciclo: desnaturalización del DNA a temperaturas entre 90 y 95o C, anillamiento de los cebadores a una temperatura entre 50 y 60o C y la elongación de la cadena por la polimerasa a 72o C (Martínez, 2008, p. 57).

Con el objeto de ahorrar tiempo y esfuerzo, El proceso conocido como PCR múltiplex puede amplificar simultáneamente diferentes secuencias en una única reacción. Un factor importante en la PCR es la correcta elección de los cebadores, que deben asegurar la especificidad y eficiencia de la amplificación, utilizándose cebadores con la mínima longitud y evitando que los oligonucleotidos sean complementarios entre sí (Martínez, 2008, p. 57).

Una de las metodologías más utilizadas en el laboratorio es la electroforesis en geles de agarosa o poliacrilamida en todo lo relacionado con el trabajo con ácidos nucleicos. A través de la electroforesis podemos separar fragmentos de ADN y ARN en función de su tamaño, observarlos mediante una sencilla tinción, y de esta manera establecer el contenido de ácidos nucleicos de una muestra, teniendo una estimación de su concentración y grado de entereza. Además se puede extraer del gel los fragmentos de ADN que sean de interés, para posteriormente utilizarlos en distintas aplicaciones (Romero, et al., 2014 p. 27).

La introducción de estas técnicas conlleva el disponer de un secuenciador automático, con lo que está sujeta a las posibilidades del laboratorio en el que se realice la investigación. Los secuenciadores automáticos son sistemas que tienen la capacidad de determinar las secuencias y tamaños de fragmentos cuantificando la fluorescencia emitida por oligonucleotidos o dNTPs marcados con fluorocromos. Para el cálculo del tamaño de un fragmento de DNA desconocido se utiliza un patrón o estándar formado por fragmentos de DNA marcados de diversas longitudes

conocidas, evitando que se solapen dichos fragmentos con los que se están estudiando (Martínez, 2008, p. 58).

De esta forma, se genera una curva de ajuste de tamaños por medio de un análisis de regresión. Ésta se basa en el tiempo que el secuenciador detecta los fragmentos del estándar en la ventana de detección. Así, cuando se someten a electroforesis fragmentos desconocidos junto al estándar se puede determinar con precisión la longitud molecular de los mismos y también se pueden emplear diferentes fluorocromos de manera que el número de fragmentos de igual tamaño que se analicen juntos puede ser tan grande como fluorocromos se utilicen. Los resultados obtenidos se recogen en un electroferograma y a través de programas informáticos se analizan los datos recopilados por el secuenciador (Martínez, 2008, p. 59).

1.5. Índices de interés comercial en la producción de carne bobina

Según Bethancourt & Martínez, (2017, p. 17), El índice de producción Igenity equilibra los rasgos maternos con características de incremento y de canal, colocando gran énfasis en el tiempo de permanencia y el jaspeado, así como un énfasis negativo en el consumo residual de alimento. Este índice está diseñado para productores que quieren mantener sus propias hembras de reemplazo y a la vez comercializar las terneras en la faena en una cuadrícula.

1.5.1. Índice de producción Igenity

Es un índice bien balanceado para rasgos maternos, productivos y de canal. Incluye: longevidad 30%, facilidad de parto materna 10%, ganancia diaria de peso 15%, eficiencia alimentaria - 15%, marmoreo 20% y terneza 10%. Tendencias del índice de producción - Cómo interpretarla

- Incrementos significativos de jaspeado y ADG (aumento promedio diario, por sus siglas en inglés) debido al mayor énfasis.
- La puntuación de Igenity para tiempo de permanencia aumentó casi un punto entero.
- En general un incremento positivo en rasgos maternos, terminales de crecimiento y mantenimiento.

Los resultados de la manada pueden variar según la intensidad de la selección individual.

1.5.2. El índice materno Igenity

El índice materno Igenity se enfatiza en la fertilidad, la reproducción y el peso al destete, con un énfasis negativo en el peso del añojo. Por lo tanto, se pretende controlar el tamaño de la vaca adulta de las terneras designadas como reemplazos. Este índice está diseñado para productores que quieren mantener sus propias hembras de reemplazo y comercializar las terneras al destete (Bethancourt, et al., 2017 p. 18).

1.5.3. Tendencias del índice materno

Según Biotecgen, (2021), los resultados de la manada pueden variar según la intensidad de la selección individual y se dispone de los siguientes parámetros característicos de los índices materno:

- **Peso al Nacer:** Es la variación en el peso al nacer que un toro o una novilla puede transmitir a su descendencia. Los valores más altos indican mayor peso al nacer. Terneros más pesados puede presentar mayor dificultad al parto, pero presentan mayor potencial de crecimiento.
- **Facilidad de parto directa:** Es el porcentaje de partos sin asistencia, indicando una mayor probabilidad que un ternero nazca sin ayuda. Un valor más alto indica una mayor facilidad de parto.
- **Facilidad de parto materna:** Es la probabilidad que una novilla de primer parto de cría sin asistencia. Un valor más alto significa una mayor facilidad de parto
- **Longevidad:** Es la oportunidad en una novilla de permanecer en el hato como una vaca productiva durante al menos seis años de edad. Un valor más alto es deseable.
- **Tasa de preñez en novillas:** Es el potencial de una novilla para concebir durante la temporada de monta. Un valor más alto es deseado.
- **Docilidad:** Es el potencial genético de ser dócil o tener crías dóciles. Valores más altos indican una mayor probabilidad de progenie con temperamento calmado.
- **Leche:** Esta expresado en libras de ternero desteto relacionado a la producción de leche de la madre (no es una predicción de las libras de leche producidas). Un valor más alto es deseable.

1.5.4. Rasgos de crecimiento

Los rasgos de crecimiento son factores que se establecen en relación al peso del espécimen en diferentes etapas, a la eficiencia alimentaria y la ganancia de peso que se tiene al día (Biotecgen, 2021).

- **Ganancia diaria de peso (lbs.):** El puntaje identifica el potencial genético de crecimiento post destete. Basado en libras de ganancia por día.
- **Eficiencia alimentaria (libras de alimento al día*):** Es la diferencia en el consumo de alimento para alcanzar el mismo nivel de ganancia diaria. Los valores más bajos indican mayor eficiencia alimentaria y son deseables.
- **Peso al destete (lbs.):** Peso en libras a la edad de 205 días.
- **Peso al año (lbs.):** Peso en libras a la edad de 365 días.

1.5.5. Rasgos de Canal

El peso de la canal es uno de los factores más importantes de la calidad de la canal y es muy determinante en el precio, pues es un indicador muy importante de la cantidad de músculo.

- **Peso canal caliente (PCC):** es el peso en libras o kilogramos obtenido inmediatamente al faenado (Papaleo, et al., 2006).
- **Espesor de Grasa:** este factor se mide en pulgadas o centímetros desde el punto de vista anatómico la carcasa del bovino se compone de músculo, grasa disecable, huesos, fascias y tendones. Las proporciones de estos componentes y el peso de la res depende en gran medida su valor nutricional y comercial (Papaleo, et al., 2006)
- **Área de Ojo del lomo (pulgadas²):** es el área correspondiente al músculo Longissimus dorsi a nivel del espacio intercostal entre la 12^a-13^a costilla, expresada en cm², Esta medida se correlaciona positivamente con la musculosidad del animal (Papaleo, et al., 2006).
- **Terneza:** Es el potencial genético de un animal para producir carne blanda, medido en libras por el test de Warner- Bratzler Shear force (WBSF). Un valor más alto indica mayor terneza.
- **Marmóreo:** El valor indica el grado de marmóreo en el ojo del lomo a la 12 costilla, expresada en Unidades de marmóreo de la USDA.
- **Peso canal caliente:** Es el peso de la canal sin refrigerar

1.6. Fertilización

1.6.1. Comportamiento sexual del toro

Según (Chenoweth, 2003 pp. 2-6), la monta natural el lapsus preparatorio de los toros es más prolongado que el de la extracción del semen debido a que en el proceso de la cópula se modifica en los centros de inseminación artificial, sobre todo el reflejo de acercamiento y de la preparación previa. Por lo que se puede mencionar que el tiempo de reacción de los toros puede disminuir o

prolongarse, según las técnicas de refrenamiento activo o pasivo que se haga uso. El problema relacionado al comportamiento sexual de los toros en la recogida instrumental del semen, se presenta en la tabla 6-1.

Tabla 6-1: Comportamiento sexual del toro

Aspectos	Descripción
Pérdida gradual de la libido sexual	Se produce junto con un retardo progresivo de la erección, del impulso para el salto y de la descarga eyaculatoria
Empobrecimiento progresivo cuantitativo y cualitativo de las características de la producción seminal	El comportamiento sexual en el toro incluye la detección, cortejo y servicio de hembras en estro. La libido o impulso sexual, ha sido definido como la "disposición y entusiasmo" de un toro de tratar de montar y servir a una hembra. La habilidad de apareamiento describe la habilidad física para completar el servicio. La capacidad de apareamiento es una medida del número de servicios alcanzados por un toro bajo. El tiempo de reacción es el cual transcurre entre el conocimiento del macho de un estímulo apropiado y la finalización del servicio.

Fuente: (Chenoweth, 2003).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

1.6.2. Evaluación de la salud reproductiva del toro

Se busca conocer la capacidad reproductiva del ejemplar, es decir, la habilidad de montar y dejar preñadas a las vacas de manera eficaz. Para esta evaluación, se considera desde la valoración del aparato reproductor, calidad del semen, la prueba de libido que permite conocer que tan agresivo sexualmente es el semental, la destreza de detectar vacas en celo y montarlas (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, 2013).

Según (Evaluación de la aptitud reproductiva del toro, 2014), mencionan que en una serie de estudios se ha obtenido que alrededor del 20 % de los toros evaluados han arrojado resultados que limitan su eficiencia reproductiva, lo que lleva a un bajo porcentaje de preñez. La evaluación de la salud reproductiva (BSE) es un procedimiento relativamente rápido y económico que de manera prudente permite evaluar toros en la fertilidad potencial. Elaborar una BSE implica una completa evaluación de todos los factores que contribuyen a un potencial reproductivo normal. La evaluación debe ser rápida pero exhaustiva de forma sistemática para identificar problemas que afectan la fertilidad del macho.

Una esquema de BSE en toros consiste de tres pasos:

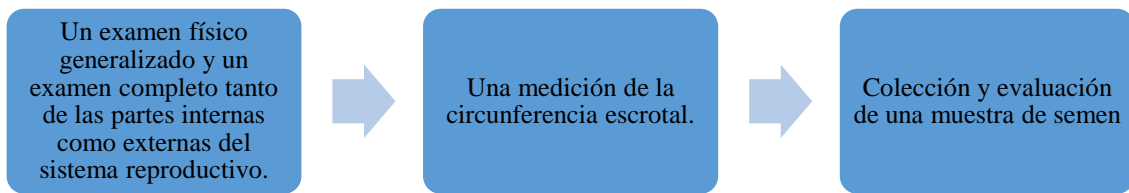


Ilustración 2-1: Esquema de la BSE de toros

Fuente: (Evaluación de la aptitud reproductiva del toro, 2014).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

1.6.3. Factores que afectan la fertilidad en el macho

En la tabla 7-1 se indican los factores que afectan la fertilidad en el macho.

Tabla 7-1: Factores que afectan la fertilidad en el macho

Factores	Descripción
<i>Edad</i>	En la pubertad del macho se considera como una de las etapas óptimas para la reproducción, pues en este momento es cuando el semen contiene mayor cantidad de espermatozoides y hay mayor probabilidad para preñar a una vaca.
<i>Raza</i>	La fertilidad depende de características seminales que poseen los toros, ya que unas razas poseen mejor calidad que otras para su reproducción, entre ellas se encuentran: <ul style="list-style-type: none">• Brangus,• Cebú Mientras que poseen motilidad espermática más baja las razas: <ul style="list-style-type: none">• Hereford• Angus
<i>Nutrición</i>	La nutrición de cada toro depende el ambiente en el cual son criados, muchos de las personas que poseen criaderos consideran que los mamíferos de pedigrí poseen problemas de fertilidad, no tienen muchos años de vida y su salud es variable, por este motivo en exposiciones no adquieren ningún tipo de semental, puesto que conocen la forma de crianza que han tenido.
<i>Reproducción de espermatozoides</i>	Para una espermatogénesis adecuada en los animales depende de varios factores entre ellos se encuentran: los cambios climáticos pueden afectar sea el calor o el frío, fiebre en el toro, ya que los testículos deben permanecer frescos para que el organismo desarrolle esta función adecuadamente.
<i>Anormalidades del tracto reproductor</i>	Para determinar las anomalías que se presentan en el tracto reproductor de los toros es necesario la práctica de un examen donde se determine las condiciones de varios órganos que intervienen en el proceso de reproducción.

Fuente: (Dahmani, 2005).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

1.7. Evaluación de la fertilidad

Esta evaluación incluye una inspección física, un examen de las glándulas internas, un meticuloso examen externo del tracto reproductivo y evaluación de la motilidad y normalidad del semen. (Cervantes, 2005, p. 21).

1.7.1. Examen físico

Se realiza un examen completo de los toros que van a formar parte de la reproducción, principalmente se evalúa con mayor énfasis los órganos sexuales internos y externos, en cuál se toma en cuenta; la condición corporal, los ojos, y el aparato reproductor, la finalidad de este proceso es descartar los toros que presentan anomalías o problemas para la monta (Dahmani, 2005).

En la tabla 8-1 se describen las características de los factores de evaluación de fertilidad.

Tabla 8-1: Factores de evaluación de fertilidad

Factores de evaluación	Características
<i>Condición corporal</i>	<ol style="list-style-type: none">1. Se evalúa principalmente la condición del animal con respecto a su nutrición, adicionalmente se califica la condición corporal del animal mediante una escala del 1 al 9, donde:<ul style="list-style-type: none">• 1 Toro demasiado flaco• 5-7 Estado intermedio (ideal)• 9 Toro obeso <p>Los toros para reproducción no deben tener obesidad, ya que su libido puede disminuir:</p>
<i>Miembros y aplomos</i>	<ol style="list-style-type: none">1. Cuando los toros están en proceso reproductivo deben caminar con mayor frecuencia con el fin la salud de los miembros.2. Para la evaluación de los sementales referente las pezuñas y aplomos se debe hacer cuando el animal está en movimiento, ya que es más fácil determinar si presentan problemas de cojera o postura, puesto que, también dificulta la monta.
<i>Ojos</i>	<ol style="list-style-type: none">1. Son de gran importancia ya que el toro mediante su visión detecta cuando una hembra está en celo, se descarta la participación cuando los ojos se ubiquen fuera de la órbita, ya que con el tiempo pueden perder la visión total.

Continuación de la tabla 8-1

<i>Testículos y epidídimos</i>	<ol style="list-style-type: none">1. Deben ser palpados minuciosamente para detectar anomalías, como lesiones o inflamaciones que pueden afectar el desarrollo de los testículos.2. Los testículos deben ser lisos para desplazarse libre dentro del saco escrotal.3. La dimensión de la circunferencia escrotal (CE) y la altura testicular es importante para determinar la capacidad reproductiva de un toro.4. La dimensión de la circunferencia escrotal se relaciona con la cantidad de semen que puede tener un semental, cuando la dimensión es menor a 34cm presenta una disminución de espermatozoides, representando un problema para la reproducción.
<i>Pene y prepucio</i>	<ol style="list-style-type: none">1. Pene, debe realizarse una palpación para constatar si existe presencia de heridas o inflamaciones.2. Prepucio, el examen determina si posee heridas o hematomas, este problema se presenta principalmente en toros cebuinos ya que su raza es más propensa a tener estas lesiones por su prepucio penduloso.
<i>Genitales internos</i>	<ol style="list-style-type: none">1. Mediante la palpación rectal de los órganos se debe evaluar uretra pelviana, cuerpo de la próstata, vesículas seminales y ámpulas del conducto deferente, para determinar una posible lesión.2. Cuando se detecta alguna molestia mediante la palpación es necesario aplicar un examen de laboratorio para descartar infecciones.
<i>Examen de laboratorio</i>	<ol style="list-style-type: none">1. Es necesario tomar una muestra de sangre del toro para examinar si posee una enfermedad infecciosa, ya que a través del semen se puede transmitir mediante la reproducción, tales como: fiebre aftosa, estomatitis vesicular, tuberculosis, paratuberculosis, entre otras.

Fuente: (Dahmani, 2005).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

1.7.2. Examen del semen

- Examen macroscópico.
- Examen microscópico.

1.7.2.1. Examen macroscópico

Según (Dahmani, 2005 p. 122), manifiesta que el examen macroscópico analiza 5 aspectos importantes para descartar cualquier anomalía de: volumen, color, olor o suciedad, en la muestra tomada, entre ellos se encuentran:

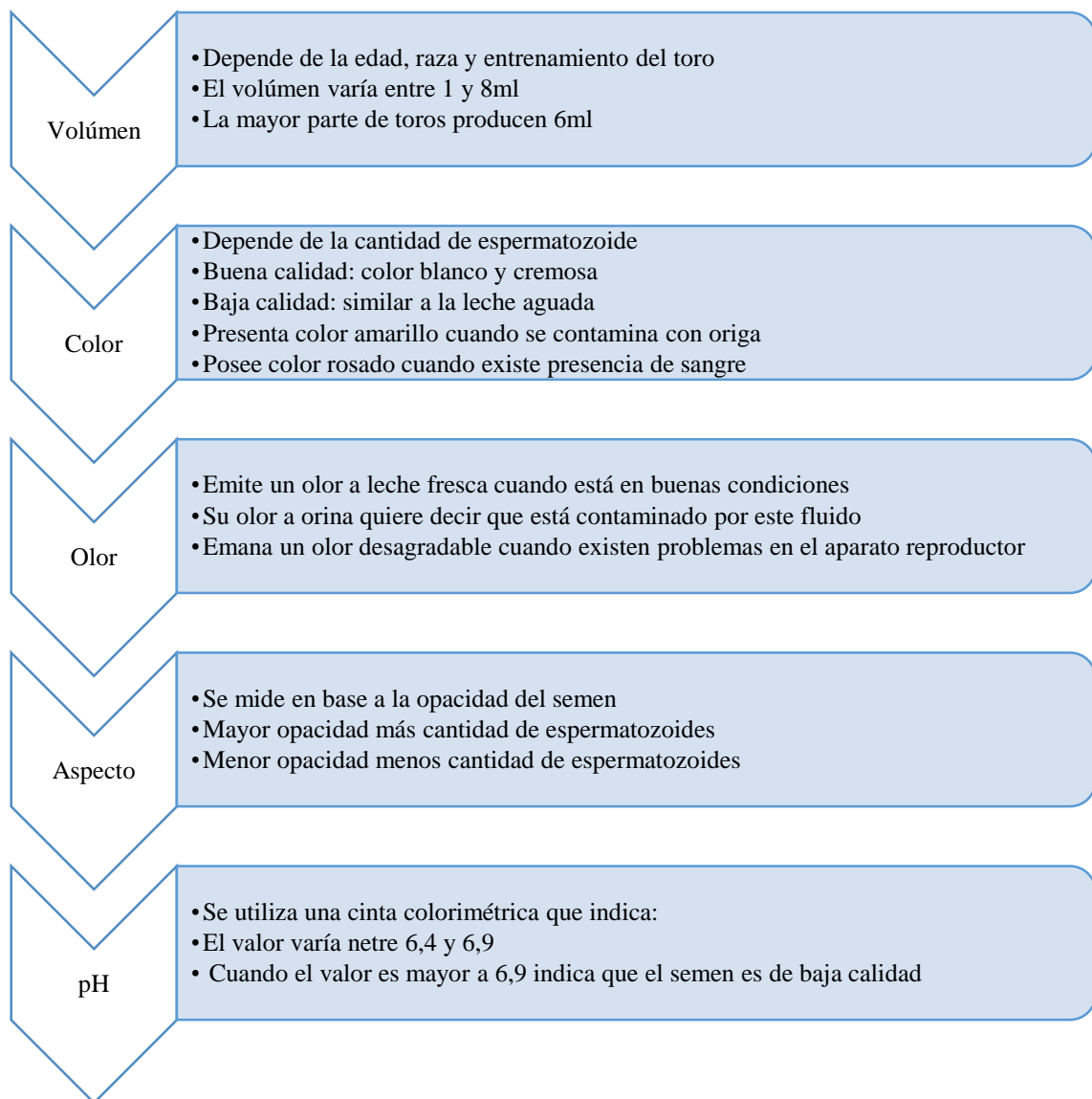


Ilustración 3-1: Factores considerados en el análisis macroscópico de semen bovino

Fuente: (Dahmani, 2005).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

1.7.2.2. Examen microscópico

Para el desarrollo de este exagmen una herramienta necesaria es el microscopio ya que permitirá determinar factores de gran importancia como: motilidad masal, la morfología y la concentración de los espermatozoides (Dahmani, 2005 pp. 122-125).

En la tabla 9-1 se indican los factores analizados en el análisis microscópico del semen bovino.

Tabla 9-1: Factores analizados en el análisis microscópico de semen bovino

Factores	Descripción
Motilidad masal	<p>La motilidad masal es juzgada de acuerdo con los movimientos en remolino observados en una sola gota de semen que ha sido tomada como muestra del toro. Utilizando una escala de 1 a 5 en la que el 1 es "no movimiento" y 5 es "máximo", se clasifica en:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Semen muy bueno: presenta ondas oscuras marcadas y con movimientos rápidos. • Semen bueno: se observan ondas menos oscuras que el anterior, marcadas con movimiento moderado. • Semen regular: presenta ondas claras con movimiento muy ligero. • Semen malo: no se observan ondas y los espermatozoides permanecen inmóviles
Motilidad individual	<p>Se observa de manera objetiva mediante el uso del microscopio, mediante esta técnica se clasifica el semen en:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Semen muy bueno: igual o mayor de 70% de motilidad individual. • Semen bueno: 50-69% de motilidad individual. • Semen regular: 30-49% de motilidad individual. • Semen malo: menor de 29% de motilidad individual.
Viabilidad espermática, normalidad acosómica y morfológica	<ul style="list-style-type: none"> • El valor mínimo es de 70% de acrosomas normales, pueden presentarse malformaciones primarias por originadas dentro del testículo durante a espermatogénesis y las malformaciones secundarias se originan dentro del epidídimo. • Las anomalías existentes en la eyaculación son entre el 15 y 20% en la cabeza y en la cola es aceptable hasta un 25%. • En ningún caso un toro es apto para la reproducción cuando presenta menos del 70% espermatozoides normales.
Concentración	<p>Se refiere al número de espermatozoides por ml, se determina diluyendo 0.1 cc de semen en 7.9 cc de Citrato al 2.9% y 5 ml de Formalina por litro al 10%. Los valores obtenidos que indican fertilidad en el toro son:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Concentración: >500million/ml • Motilidad progresiva: >50% • Vitalidad espermática: >50% • Cabezas anormales: <20% (lo normal es 8-12%) • Gotas citoplasmáticas proximales: <4% • Gotas citoplasmáticas distales <4% • Pieza media anormal: <15%, • Colas dobladas <4% • Colas enrolladas <3%.

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

1.8. Anatomía del aparato reproductor

Para (Becaluba, 2006, p. 48), un semental que puede ser parte del grupo de mamíferos reproductores debe poseer un aparato reproductor saludable, tanto en las hermanas como en el esperma, son elementos importantes que permitirán que la hembra tenga monta positiva, está conformado por:

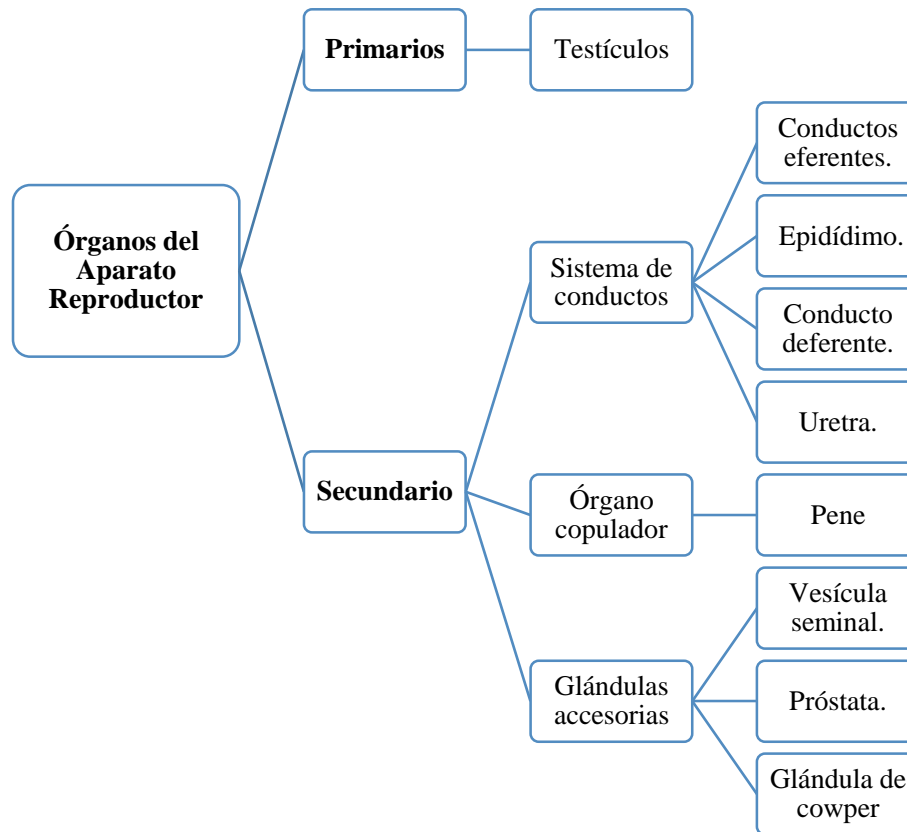


Ilustración 4-1: Anatomía del aparato reproductor del macho bovino

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

El testículo tiene dos funciones muy vitales:

- Producción de espermatozoides
- Producción de la hormona masculina específica (testosterona)

1.8.1. Anormalidades del tracto reproductor

Para (Becaluba, 2006,.) El primer paso en la evaluación reproductiva del toro está representado por el examen físico general, que involucra la evaluación del estado del animal en general, y en particular de los órganos del aparato reproductor entre ellos se contempla la evaluación de:

- Condición corporal,
- Ojos
- Los aplomos y el aparato genital externo e interno (pene, testículos, vesículas seminales)
- Los testículos
- Epidídimo
- Cordón espermático

1.8.2. Fisiología y endocrinología del aparato reproductor del macho

Las hormonas es la principal sustancia que permite la correcta reproducción del macho, es producida por la glándula endócrina para ser transportada mediante la sangre y la linfa hacia diferentes partes del cuerpo, se puede considerar como una glándula endócrina a los testículos ya que son encargadas de la producción de testosterona, por las células intersticiales.

La testosterona es de gran importancia, principalmente por:

- Ser responsable del desarrollo y mantenimiento del aparato reproductor masculino y de las características sexuales secundarias, asociadas con la masculinidad.
- Es un factor principal en el impulso y conducta sexual normal en los machos.
- Aumenta el crecimiento del esqueleto y músculo.
- Es esencial para la formación normal de esperma.

Los testículos también reciben hormonas de otras glándulas del cuerpo, como el lóbulo anterior a la glándula pituitaria, que es la encargada de la estimulación de testículos y los ovarios, se coloca abajo del cerebro específicamente en la base del cráneo, por esta localización su función es regular la reproducción.

Por otra parte, el nivel de testosterona que posee la sangre se encarga de regular la secreción de hormonas gonadotróficas a través de una retroalimentación, el funcionamiento depende del equilibrio hormonal que se presente, en el caso de existir un exceso o carencia de las hormonas es necesario aplicar una terapia que regule el problema.

1.9. Métodos de extracción o colecta de semen bovino

Los métodos de extracción son aplicados en la madurez de los sementales desde esa etapa de su vida empieza su vida productiva, los toros deben tener un período de descanso sexual en el cual

los espermatozoides que aún continúan en el aparato reproductor terminan su ciclo de vida con la muerte, por este motivo cuando inicia un nuevo ciclo de reproducción es necesario la aplicación de un examen al semen ya que puede contener gran cantidad de espermatozoides anormales (Figueroa, et al., 2014 p. 47).

Según (Figueroa, et al., 2014), manifiesta que es necesaria una preparación correcta del semental antes del proceso de extracción de semen, independientemente del método que se aplique, ya que influye en la calidad del semen que se obtenga, por este motivo, se debe aplicar las siguientes consideraciones:

- Es necesario aplicar masajes en la zona del prepucio.
- Debe lavarse el prepucio con agua (uso de manguera).
- Secar muy bien la piel y mucosa con toallas de papel.
- Cortar sólo el exceso de pelos demasiado largos, ya que los pelos del prepucio protege la mucosa.

1.9.1. Eyaculación

En la tabla 10-1 se indica el procedimiento de la eyaculación.

Tabla 10-1: Procedimiento de eyaculación

Método	Indicaciones
Eyaculación	<ul style="list-style-type: none"> • La eyaculación es la primera secreción que se obtiene, de color transparente y corresponde al producto de las glándulas sexuales accesorias, esta secreción no debe ser tomada puesto que carece de espermatozoides viables y además puede estar contaminada con secreciones urinarias. • Seguidamente debe comenzar la secreción de semen, por lo que se debe mantener el ritmo y el incremento de la estimulación eléctrica, en este momento el incremento de la estimulación es muy importante para lograr la secreción de semen, por lo que si el toro no eyacula prontamente se debe incrementar la estimulación. • Una vez recolectado el semen debe ser guardado a una temperatura mínima de 35°C y máxima de 38°C. • Es necesario descartar las primeras gotas de semen, cuando los conductos eyaculatorios se vacían, nuevamente sale un líquido claro el cual no debe de ser recolectado. • No debe de ser expuesto a los rayos del sol y tampoco debe de ser contaminado por orina, heces, tierra

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

1.9.2. Método de la vagina artificial

La vagina artificial consiste en un tubo cilíndrico de plástico rígido y resistente, de siete centímetros de diámetro y 35–40 centímetros de largo, recubierto internamente por una camisa de goma que se dobla sobre los extremos del cilindro formando una cámara que se llena con agua caliente (45–46 ° C) y aire, con el fin de proveer el estímulo adecuado de temperatura y presión, lográndose así la eyaculación, ver tabla 11-1 (Figueroa, et al., 2014).

Tabla 11-1: Método de la vagina artificial

Método	Indicaciones
	La vagina artificial consiste en un tubo cilíndrico de plástico rígido y resistente, de siete centímetros de diámetro y 35–40 centímetros de largo, recubierto internamente por una camisa de goma que se dobla sobre los extremos del cilindro formando una cámara que se llena con agua caliente (45–46 ° C) y aire, con el fin de proveer el estímulo adecuado de temperatura y presión, lográndose así la eyaculación
Eyaculación	Procedimiento para la extracción del semen
	<ul style="list-style-type: none"> • Para la monta se utiliza un señuelo que puede ser una vaca, un macho o un maniquí. Antes de colectar el semen se debe tener en cuenta dos aspectos importantes: la higiene y el estímulo del semental. • Se apoya con el método más efectivo para estimular al toro, la monta falsa, que consiste en permitir al semental montar sobre el señuelo y desviar el pene tomando con la palma de la mano la piel del prepucio. • Después de algunos segundos de intento de búsqueda de la vagina, el animal desciende; nunca se deberá tocar con la mano la mucosa del pene. • En el siguiente intento de monta se coloca la punta del pene desviado en la entrada de la vagina; inmediatamente el toro se lanza hacia delante en un empuje final que acompaña a la eyaculación. La monta falsa en el bovino aumenta la calidad del semen en cuanto a volumen, concentración espermática y motilidad.
	Área de trabajo y recolección del semen
<ul style="list-style-type: none"> • El área de recolección de semen debe contar con un puesto de monta, piso sólido y anti resbalante, defensas de seguridad y un ambiente de trabajo acorde con la actividad que se realiza (evitar ruidos y distracciones), además debe estar ubicado cerca del laboratorio. • Proceder a la recolección del eyaculado con el animal y la vagina artificial, previamente preparados, un operador diestro se coloca del lado derecho del toro, al momento del intento de monta desvía el pene tomando prepucio con la mano izquierda hacia el lado derecho impidiendo todo contacto con la monta. • Con la mano derecha, sosteniendo la vagina artificial, se coloca el extremo lubricado por delante del pene, y como respuesta al estímulo (presión y temperatura) semejante a la vagina de la vaca en celo, el toro penetra la vagina en toda su extensión, realizando lo que se conoce como golpe de lomo. • Después de la eyaculación el animal desmonta casi inmediatamente, entonces, se procede a retirar el tubo graduado (conteniendo el eyaculado), protegiéndolo debidamente de la luz solar directa, cambios drásticos de temperatura (choque térmico) y contaminación, se identifica la muestra y se entrega en el laboratorio. • La recogida de semen usando este método requiere la participación activa del toro y muy cerca se aproxima a una situación natural, permitiendo la evaluación de la libido o capacidad de servicio. 	
<ul style="list-style-type: none"> • Mediante esta técnica el macho que eyacula desarrolla totalmente la cadena de reflejos de coito fisiológico, aunque no exista penetración ni eyaculación en la vagina de una hembra. • El uso de esta técnica responde al hecho de que se obtienen eyaculados muy limpios, con una baja contaminación cuando se realiza correctamente y con un equipamiento base de bajo costo. 	

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

1.9.2.1. Ventajas y desventajas de la vagina artificial

Para (Figuroa, et al., 2014), el método de la vagina artificial tiene como principales ventajas y desventajas:

Ventajas:

- Se obtienen eyaculados muy limpios y con una baja contaminación cuando se realiza correctamente.
- El equipamiento base es de muy bajo costo,
- Observar toda la cadena de reflejos de excitación y libido sexual.

Desventaja:

- Requerir el uso de animales dóciles y entrenados

1.9.3. Método de la electroeyaculación

1.9.3.1. Ventajas y desventajas de la electroeyaculación

Ventajas

- No requiere montar animales
- No es físicamente demandante
- Adaptable a la mayoría de las instalaciones para manejo de ganado.
- Variedad de electroeyaculadores automáticos.

Desventaja

- Dolorosa para los toros

En la tabla 12-1 se indica el método de electroeyaculación.

Tabla 12-1: Método de la electroeyaculación

Método	Indicaciones
	Un electroeyaculador es que un electrodo conectado a una batería que genera estimulaciones rítmicas provocadas por descargas no mayores a 20 voltios. Los electroeyaculadores están diseñados para estimular los nervios pélvicos simpáticos y parasimpáticos con impulsos de bajo voltaje y amperaje y de esta forma pueden inducir erección peneana y eyaculación.
	Composición del electroeyaculador
	Constituido por los siguientes componentes: la caja de transporte, la sonda rectal, la unidad de control, el cargador de batería, el cable de energía, el cable de conexión de la sonda, el mango, el cono y el envase de colección
	Técnica
	Consiste en dar pulsos eléctricos muy leves en la próstata y vesículas seminales para que el animal presente erección y eyaculación. Con la utilización del electroeyaculador, como método para la recolección de semen.
	Preparación para el uso del electroeyaculador
Electroeyaculación	<ul style="list-style-type: none"> • Se procede a la preparación del animal, lo cual incluye: recortar los pelos del orificio prepucial y limpiarlo, si es necesario se debe lavar y secar cuidadosamente el área. • Un ayudante procede a limpiar el recto y a estimular mediante masaje transrectal las glándulas accesorias (glándulas vesiculares y ampollas de los conductos deferentes). • Posteriormente, se introduce el electrodo adecuado.
	Colocación del electroeyaculador en el recto del toro
	<ul style="list-style-type: none"> • Se asegura que las tres líneas metálicas o electrodos ubicados ventralmente, estén limpios y libres de corrosión. • Se retira el exceso de heces del recto, se levanta la cola del toro hasta hacerla horizontal, se lubrica el electrodo y se introduce en el recto, dirigiéndolo ligeramente hacia abajo y haciendo movimientos rotatorios. • Una vez insertado completamente el electrodo, se coloca la cola en el medio del mango (en forma de “U”) de este y se sujeta con la misma mano que sujetaba la cola. • Se inician los estímulos a mínima intensidad y rítmicamente se incrementa, de acuerdo con la reacción del animal, cada estímulo debe durar menos de un segundo y se deben aplicar entre cinco y 10 estímulos por cada grado de intensidad.
	Extracción del semen
	<ul style="list-style-type: none"> • Los animales deben estar parados libremente y la manga debe tener un buen piso. • Se recomienda tener una manga de 76 cm de ancho que puede albergar a la mayoría de los animales grandes. • Se debe colocar detrás del individuo un poste fuerte a una altura ideal entre 71 y 76 cm y otro a 30 cm del suelo como corrector durante el procedimiento, dado que es posible que los animales pierdan el equilibrio. • Es muy importante destacar que la cantidad de estimulación debe ser estimada a través de las respuestas del animal y no prestando atención al voltaje del equipo.

Continuación de la tabla 12-1

- Las estimulaciones sucesivas deben ir siendo incrementadas, con una duración de uno o dos segundos y luego discontinuarse por medio segundo antes de comenzar con la siguiente estimulación.
 - El fluido preseminal no debe recolectarse porque diluye el eyaculado y puede originar falsos resultados
-
- Cuando éste comienza a tornarse más opaco y espeso comienza la colección en el cono o tubo de examinación colocado directamente en
-
- Régimen de colección de semen**
-
- El intervalo de recolección de semen es importante, debido a que una alta frecuencia puede afectar la concentración espermática y la madurez de los espermatozoides, por el contrario, una baja frecuencia afecta la motilidad espermática y su vitalidad.
 - El recolector debe conservar solo segunda fracción que es rica en espermatozoide.
 - Se utiliza un aparato, el cual consiste en un aro de plástico con mango que sostiene un embudo de látex o plástico y un tubo graduado para la recolección del eyaculado, este último se protege con un envase plástico y agua a 37 °C, debe evitarse el contacto con el sol.
 - Se debe tener preparado con anticipación el material a utilizar para la recolección del semen (un embudo colector que conducirá el semen a una bolsa estéril o tubo de ensayo estéril).

Fuente: (Figuerola, et al., 2014).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

1.9.4. Método de masaje transrectal

Aquellos reproductores que han tenido un adecuado descanso sexual, son dóciles y se manejan con calma, son buenos candidatos para esta técnica. También se recomienda en animales que posean lesiones dolorosas en cuartos posteriores, ver tabla 13-1 (Rangel, 2006, p. 46).

Tabla 13-1: Método de masaje transrectal

Método	Procedimiento
Masaje transrectal	<p>Esta técnica requiere dos personas, una para efectuar el masaje rectal y otra para colectar el semen.</p> <p>El toro se ubica y mantiene en una manga o prensa.</p> <p>Remover completamente las heces del recto.</p> <p>Aplicar un masaje longitudinal repetitivo hacia delante y atrás, principalmente sobre la terminación de los canales deferentes, de las vesículas seminales y de la región de la próstata. El masaje deberá continuar en sincronía con las pulsaciones</p> <p style="text-align: center;">Masaje transrectal</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aquellos reproductores que han tenido un adecuado descanso sexual, son dóciles y se manejan con calma, son buenos candidatos para esta técnica. • Se recomienda en animales que posean lesiones dolorosas en cuartos posteriores. <p style="text-align: center;">Técnica</p> <p>Consiste en dar pulsos eléctricos muy leves en la próstata y vesículas seminales para que el animal presente erección y eyaculación. Con la utilización del electroeyaculador, como método para la recolección de semen.</p> <p style="text-align: center;">Extracción del semen</p>

Fuente: (Figuerola, et al., 2014).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

1.9.4.1. Ventajas y desventajas del masaje transrectal

Ventajas

- No requiere tener un equipo costoso
- Evita el dolor potencial ocasionado por técnicas de electroeyaculación.

Desventajas

- Irritación de la mucosa rectal
- Falta de protrusión del pene
- Una segunda persona para la colección de la muestra
- Dificultad de estimular machos excitados o de mal carácter
- Requerir de un operador con gran destreza en palpación por vía rectal
- La libido y la capacidad de apareamiento no son evaluadas con esta técnica
- Las muestras pueden contaminarse
- El volumen y concentración de semen obtenido son muy variables

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Localización y duración del experimento

La fase de campo del trabajo de Integración Curricular, se desarrolló en la estación experimental Pastaza de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicada en la provincia de Pastaza, en el kilómetro 32 de la vía Puyo-Macas, Parroquia Simón Bolívar, comunidad Vencedores. El análisis de genes de interés comercial y genotipificación se realizó en el laboratorio de Biotecnología y Genética (BIOTECGEN S.A), ubicado en la calle 119 No. 49-26, Barrio Batán Malibú, Bogotá-Colombia.

2.1.1. *Tiempo de duración del experimento*

El trabajo de campo tuvo una duración de 180 días, los cuales fueron distribuidos según las necesidades del tiempo de trabajo para cada actividad. Se inició por la evaluación de fertilidad de los reproductores, extracción y congelación de semen, toma de muestra de pelo para el análisis de laboratorio, registro de ejemplares y finalmente se procedió con la elaboración de una ficha técnica de los ejemplares.

Las condiciones meteorológicas en las que se encuentra la Estación Experimental Pastaza se detalla en la tabla 1-2.

Tabla 1-2: Condiciones meteorológicas de la Estación Experimental Pastaza

Parámetros	Valores
Temperatura °C	21
Precipitaciones (mm)	4000
Clima	Cálido húmedo
Altitud	950 msnm

Fuente: (Zambrano, et al., 2019).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

2.2. Unidades experimentales

La población experimental de estudio fue constituida por dos ejemplares de la raza Charoláis, los cuales se encuentran en la Estación Experimental Pastaza.

2.3. Materiales, equipos y reactivos

Los materiales, equipos y reactivos que fueron utilizados se detallan a continuación.

2.3.1. Materiales

2.3.1.1. Materiales de campo

- Overol
- Botas de caucho
- Mascarilla
- Guantes
- Manga para inseminación
- Hielera
- Hojas de registro
- Aretes Nacionales para identificación de ganado
- Chip de identificación
- Areteadora para bovinos
- Cabos
- Cámara fotográfica
- Mangas
- Cinta métrica
- Termo (Financiado)

2.3.1.2. Materiales de laboratorio

- Mandil
- Guantes
- Mascarillas
- Gradillas
- Esferas de acero para sellar pajuelas
- Pajillas para envasar semen de 0.5 ml
- Cooler
- Tijeras y pinzas
- Tubos de ensayo estériles
- Vasos de precipitación

- Probetas
- Porta y cubre objetos
- Puntas de micro pipeta
- Cámara Neubauer
- Tanque de nitrógeno líquido

2.3.2. Equipos

- Electroeyaculador
- Microscopio
- Laptop
- Platina térmica
- Baño maría
- Micro pipetas

2.3.3. Reactivos

- Diluyente de semen bovino
- Colorante eosina nigrosina

2.4. Tratamiento y diseño experimental

El presente estudio, se consideró como una investigación experimental debido a que no se va a aplicar ningún tratamiento antes de realizar las mediciones de las variables para la evaluación de la fertilidad de los especímenes. Para la evaluación de la fertilidad de los reproductores se hizo uso de las medias y desviaciones estándar (medidas de tendencia) que permitieron determinar la calidad genética.

2.5. Mediciones experimentales

En los análisis de genotipificación y análisis de genes de interés comercial no se tendrán tratamientos ni repeticiones por lo que no se plantea ningún diseño experimental y se trabajarán con los datos directos emitidos por la empresa encargada de realizar los análisis.

Las variables que emitirá la empresa se especifican a continuación:

2.5.1. Genotipificación y genes de interés comercial

- Índice de producción igenity
- Índice Maternal igenity
- Peso al Nacer (lbs)
- Facilidad de Parto Directa (%)
- Facilidad de Parto Materna (%)
- Docilidad (%)
- Tasa de Preñez en Novillas (%)
- Leche (lbs)
- Longevidad (%)
- Ganancia Diaria de Peso (lbs)
- Eficiencia Alimentaria (libras de alimento al día*)
- Peso al destete (lbs)
- Peso al Año (lbs)
- Peso canal caliente (lbs)
- Espesor de Grasa (pulgadas)
- Área de Ojo del lomo (pulgadas²)
- Terneza (libras de fuerza de corte, WBSF^{**})
- Marmóreo (unidades de marmóreo USDA)
- Gen miostatina

Evaluación de fertilidad

- Volumen de eyaculado (ml)
- Color de eyaculado
- Olor de eyaculado
- Ph del eyaculado
- Motilidad masal (%)
- Motilidad individual progresica (%)
- Viabilidad espermática (%)
- Morfoanomalías (%)
- Daño en el ADN (%)

2.6. Análisis estadístico y pruebas de significancia

Para la evaluación de la fertilidad de los reproductores se utilizó estadística descriptiva para la determinación de parámetros. Además, se consideró gráficos e histogramas para el análisis.

2.7. Procedimiento experimental

En la presente investigación, se procedió a la toma de muestras de dos ejemplares, los cuales son: dos machos de la raza Charolais identificados como: FCP Samuel 0616 y FCP Teo 0617, que se encuentra en la Estación Experimental Pastaza de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.7.1. Toma de muestra de pelo para análisis de laboratorio

Se procedió a la identificación de los dos ejemplares sujetos de estudio, se los ingresó a la manga, para luego realizar la limpieza de la zona con un cepillo para eliminar los residuos que puedan contaminar la muestra. Se extrajo un mechón de pelo del extremo inferior de la cola, arrancándolo desde la raíz y se verificó la presencia de folículos necesarios para el análisis, finalmente las muestras fueron etiquetadas con los datos de cada ejemplar en un sobre.

2.7.2. Identificación animal

Para la inscripción de un animal de la raza Charolais se aplicó las recomendaciones de la Asociación Charolais del Ecuador.

Para la identificación de los ejemplares, se tomó en consideración la declaración de nacimientos, los cuales quedaron inscritos en el libro genealógico, quienes portaron el arete Oficial de AGROCALIDAD, que se considera un requisito para el registro. Los animales se identificaron por los tatuajes en el pabellón interno de las orejas, a continuación se detalla en la tabla 2-2 los siguientes parámetros:

Tabla 2-2: Parámetros de identificación animal

Parámetros	Descripción
Prefijo de la finca o propietario	FCP
N.º individual:	(0616, 0617): 2 últimos dígitos del año de nacimiento.
Pabellón interno de la oreja izquierda:	Prefijo y número de la madre o ET si es resultado de transferencia de embriones.

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

2.7.3. *Inspección del técnico de la Asociación Charolais del Ecuador*

La Inspección del Técnico de la asociación Charolais del Ecuador fue favorable, debido a que se cumplió con los requerimientos del ejemplar, el patrón racial y no presentó defectos que le impidan una futura utilización como reproductor; se constató que la cría sea legítima. La inspección se realizó dentro de los 180 días luego de la solicitud de registro.

2.7.4. *Descripción del patrón racial de la raza Charolais*

La coloración del pelaje es blanca, blanco cremoso o pajizo claro (trigo) extendiéndose uniformemente por todo el cuerpo. En la tabla 3-2 se describe el patrón racial de la raza Charolais.

Tabla 3-2: Patrón racial de la raza Charolais

Características	Descripción
Mucosas	Color rosado uniforme, sin manchas.
Los cuernos	Color blanco cremoso, la atrofia no es causa
Pezuñas	Color blanco cremoso.
Cabeza	Moderadamente corta y pequeña.
Frente	Espaciosa, plana o algo cóncava,
Hocico	Ancho, ojos grandes y salientes.
Orejas	No muy grandes, delgadas y poco guarnecidas de pelo.
Cuello	Corto y grueso bien unido a la cruz.
Pecho	Profundo y redondeado que se funde armoniosamente con el hombro
Dorso	Muy musculoso y grueso en el lomo;
Cadera	Muy amplia, grupa redondeada y descendida en relación al fileón
Conformación general	Compacta y simétrica y de contornos bien dibujados, presentando la línea superior e inferior del cuerpo recto y paralelo a manera de paralelepípedo
La piel	Suave y flexible

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

- Como características generales se puede mencionar que: la raza Charolais tienen la cola bien unida al cuerpo sin sobresalir mucho en su nacimiento. Muslos Amplios y anchos, nalgas descendidas, largas, anchas, convexas y muy desarrolladas. Extremidades con buenos aplomos.

2.7.5. Registro funcional o inicial

Se registraron hembras charoláis madres de los dos ejemplares sujetos de este estudio, que cumplieron el patrón racial descrito en el Capítulo II del Herd Book Charolais. En la tabla 4-2 se determina la caracterización de animales en el libro PUREBREED.

Tabla 4-2: Caracterización de animales en el libro PUREBREED

Categoría	Fracciones	% Charolais Certificado	Descripción
I	0	0	Madre y Padre no reconocido oficialmente, pero con patrón racial aprobado por el comité técnico.
R1	1/2	50	Madre inicial x Macho puro 100% o Fracción 31/32
R2	3/4	75	Madre R1 x Macho Puro 100% o Fracción 31/32
R3	7/8	87.5	Madre R2 x Macho Puro 100% o Fracción 31/32
R4	15/16	93.7	Madre R3 x Macho Puro 100% o Fracción 31/32

Fuente: (Charolais , 2020).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

2.7.6. Sobre los machos nacidos del libro Purebred

Los especímenes luego de la inspección fenotípica y aprobados por el técnico, los cuales son provenientes de hembras registradas en el libro Purebred, se emitirá un certificado de nacimiento con historial genealógico. El número de registro tendrá una secuencia numérica precedida por las siglas HGR y la categoría correspondiente.

2.7.7. Registro de las montas, inseminaciones y transferencia de embriones

Los registros de montas e inseminaciones quedaron registrados por el técnico encargado de la administración de la Estación Experimental Pastaza de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Los reportes de inseminación artificial se entregaron en las oficinas de la Asociación Charolais de Morona Santiago, dentro de los 60 días posteriores al evento sin costo.

La Asociación aceptó el reporte de IA, entre 60 hasta 120 días y tuvo un costo reglamentado de 40 USD.

2.7.8. *Sobre la Base de datos de los registros*

La base de datos de la Asociación se manejó a través de su software especializado INTERTRACE HERD BOOK y los respaldos de la información deberán ser renovados mensualmente con una copia para cada uno de los miembros del comité técnico.

2.7.9. *Registro de fincas o predios*

Se inscribió el Nombre del Predio donde se realizan trabajos de investigación y se asignó un código la finca de hasta 15 dígitos y también se registró la ubicación y unidad administrativa correspondiente a la situación geográfica.

2.7.10. *Registro de propietarios*

Para la Estación Experimental Pastaza de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo se asignó el código de tres dígitos, FCP, que no coincidirá con ningún otro, además, se proporcionó los datos del contacto del personal encargado de la administración de la EE Pastaza y el correo electrónico donde llegarán las notificaciones de la Asociación.

2.8. *Metodología de evaluación*

MÉTODO STRS: Para el análisis de genotipificación los productos amplificados fueron analizados con el marcador de peso molecular \"genescan 500 liz size standard\" y con metodos automatizados de deteccion fluouescente empleando el analizador genetico de electroforesis capilar applied biosystems 3500 de applied biosystems. Para la asignacion del tamaño de los alelos en pares de bases y su nombramiento, se empleó el software genemapper version 3.2 de applied biosystems.4. En la tabla 5-2 se determinan marcadores genéticos.

2.8.1. *Análisis de genes de interés comercial*

Según el protocolo de la empresa Biotecgen para el análisis de genes de interés comercial se utilizó microsatélites, los resultados obtenidos en este análisis fueron comparados tanto con la base de datos del Ecuador, así como los de Estados Unidos, ver tabla 6-2.

Tabla 5-2: Marcadores genéticos

MARCADOR
TGLA227
BM2113
TGLA53
ETH10
SPS115
SPS113
RM067
TGLA126
TGLA122
INRA23
BM1818
ETH3
ETH225
BM1824
MGTG4B
CSSM66
ILSTS006

Fuente: (Biotecgen, 2021).

Tabla 6-2: Análisis de genes de interés comercial

Variables	Metodología	Criterio
Índice de producción igenity	Para la determinación de los índices	
Índice Maternal igenity	se comparó la base de datos histórica	El procedimiento de valoración de
Peso al Nacer (lbs)	con la que cuenta el laboratorio	los Dep's se lleva a cabo por medio
Facilidad de Parto Directa (%)	Biotecgen, tanto de Ecuador y	de cálculos complejos efectuados
Facilidad de Parto Materna (%)	Estados Unidos; con los resultados	por programas de evaluación
Docilidad (%)	obtenidos de los análisis genómicos	internacional del ganado; que en este
Tasa de Preñez en Novillas (%)	de los reproductores objeto de este	caso el laboratorio Biotecgen posee
Leche (lbs)	estudio, en donde se compararon los	una fórmula propia y la base de
Longevidad (%)	valores y se logró determinar el	datos de parámetros genéticos para
Ganancia Diaria de Peso (lbs)	efecto genético sobre la expresión de	determinar los valores óptimos que
Eficiencia Alimentaria (libras de	la característica mediante la	corrigen la superioridad e
alimento al día*)	metodología de Diferencia estimada	inferioridad del error de los entores
Peso al destete (lbs)	en la progenie(Dep's).	selectivos que poseen los ejemplares
Peso al Año (lbs)		y además consideran los cambios
Peso canal caliente (lbs)		genéticos de la raza en el tiempo.
Espesor de Grasa (pulgadas)		
Área de Ojo del lomo (pulgadas ²)		
Terneza (libras de fuerza de corte,		
WBSF**)		
Marmóreo (unidades de marmóreo		
USDA)		

Fuente: (Biotecgen, 2021).

2.8.2. *Análisis del Gen Miostatina*

El protocolo utilizado por la empresa Biotecgen para el análisis del Gen Miostatina menciona que se utilizaron microsátélites.

2.8.3. *Recolección de la muestra seminal*

Para la recolección del material biológico de los ejemplares (machos), se procedió de la siguiente manera:

- 1.- Se limpió la zona prepucial eliminando con una tijera los pelos largos que se encontró.
- 2.- En la parte interna se utilizó una jeringa con la cual se introdujo 10 ml de agua fisiológica tres o cuatro veces hasta el momento que al pasar el papel toalla de color blanco para secar y se observe que no existen residuos para evitar la contaminación de la muestra.

Una vez realizado la limpieza corporal se procedió a instalar el equipo de electroeyaculación (electrojac III):

- 1.- Se introdujo al macho en la manga.
- 2.- Con la ayuda de la mano se introdujo en el recto y se extrajo el material fecal a la vez se indujo a la excreción para que no haya taponamiento a la hora de introducir el electroeyaculador.
- 3.- Se colocó el electroeyaculador previamente lubricado y ubicando los electrodos hacia abajo dando movimientos rotatorios hasta que entre toda la sonda por el recto, la cual tiene por función, dar impulsos eléctricos en las paredes del recto de forma secuencial, estimulando la eyaculación del semen.
- 4.- La muestra de semen fue recolectada en un tubo de ensayo graduado y esterilizado para su posterior análisis.

2.8.4. *Análisis del semen*

1. Análisis del semen Macroscópico

Antes de extraer el material genético, se prepararon los equipos y materiales necesarios para la investigación. Se trabajó en un entorno limpio y seco, además que todos los instrumentales fueron debidamente desinfectados. A continuación se detalla el proceso para el análisis del semen:

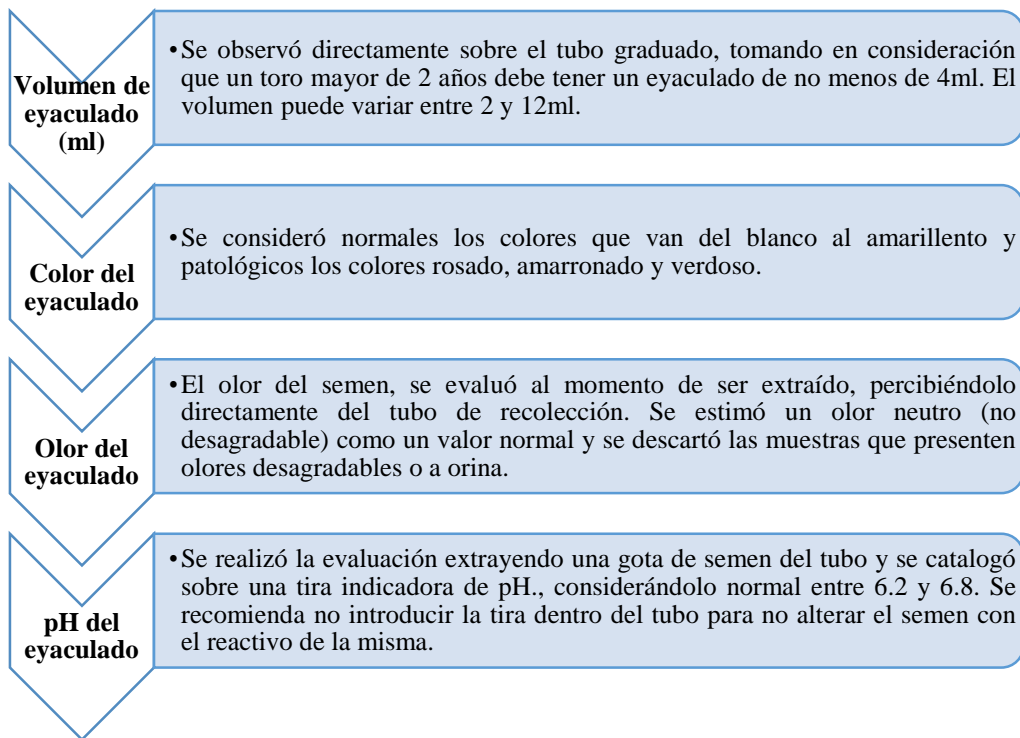


Ilustración 1-2: Análisis del semen

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

2. Análisis del semen microscópico

Para el análisis del semen microscópico se procedió a realizar el siguiente proceso que a continuación se detalla:

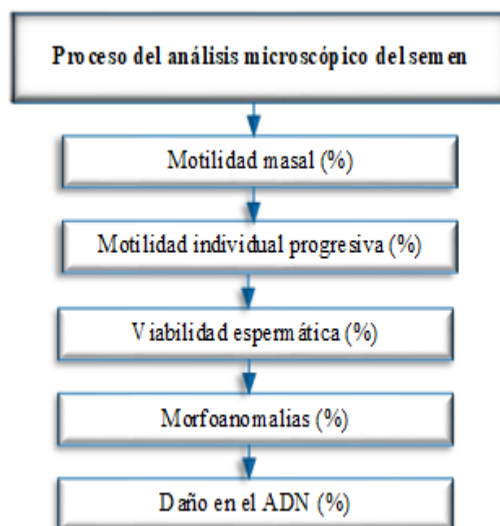


Ilustración 2-2: Proceso del análisis microscopico del semen

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

❖ **Motilidad masal (%)**

Se avaluó tomando una muestra del semen a examinar con una pipeta, colocando una gota sobre un portaobjeto a 37°C y se observó en el campo claro (aumento 10X), sin colocar el cubreobjetos. Según (Rosenberger, 1981), el grado del movimiento en masa o motilidad masal (MM), en la tabla 7-2 se describe según la siguiente escala:

Tabla 7-2: Motilidad masal

Indicador	Descripción
+++ (100%):	Actividad cinética muy buena, remolinos intensos con ondas espermáticas apreciables.
++ (50%):	Actividad cinética buena, remolinos apreciables, aunque menos intensos.
+ (25%):	Actividad cinética regular, pocos remolinos y con menor frecuencia que la anterior.
-	Actividad cinética deficiente, el semen no forma remolinos sino eventualmente y sin ninguna intensidad.

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

En la tabla 8-2 se detalla la clasificación de la motilidad espermática de acuerdo a la sociedad de teriogenología de los Estados Unidos de Norteamérica.

Tabla 8-2: Clasificación de la motilidad espermática de acuerdo a la sociedad de teriogenología de los Estados Unidos de Norteamérica.

Motilidad	Excelente	Buena	Regular	Mala
Masal	100 %	50 %	25 %	-
Individual	≥ 70 %	50 – 70 %	30 – 50 %	≤ 30 %

Fuente: (Rosenberger, 1981).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

❖ **Motilidad individual progresiva (%)**

Se evaluó la muestra, diluyendo el semen en Citrato de Na 2.92%. Colocándose una gota gruesa de semen de aproximadamente de 30 a 40 microlitros en un tubo con unos 2 ml. de la solución de Citrato que debe estar a la misma temperatura del semen ya en el baño María. Una vez diluido el semen se extrajo una gota de la dilución y se colocó sobre un portaobjetos a temperatura de entre 36 a 37°C, posterior a ello se colocó sobre ésta un cubreobjetos que se encuentra a la misma temperatura. Se trasladó al microscopio, siempre sobre la platina térmica, a 40 aumentos, y se observó un campo y valorándolo subjetivamente los espermatozoides que se movían en forma rectilínea progresiva.

❖ **Viabilidad espermática (%)**

Para medir la viabilidad de una muestra de semen, se utilizó colorantes vitales como: el colorante eosina-nigrosina con el cual los espermatozoides muertos fueron teñidos de color rojo o en rosa, mientras que los vivos quedaron sin teñir.

❖ **Morfoanomalias (%)**

La morfología se evaluó de la siguiente manera:

- Se colocó una gota de aproximadamente 20 μ L de semen diluido sobre un portaobjetos limpio y desengrasado
- Se agregó con una cantidad similar de colorante,
- Se realizó el frotis en forma firme y pareja. Luego de esperar por lo menos 10 minutos para el secado del frotis.
- Se colocó en el microscopio y se procedió a contar los espermatozoides.

❖ **Daño en el ADN (%)**

Se evaluó mediante la integridad de la cromatina para lo cual se preparó una muestra que contenía 2 μ L del fluorocromo Naranja de Acridina y 18 μ L de semen descongelado, a continuación, se procedió a homogenizar la muestra para tomar con una micropipeta la cantidad de 10 μ L y colocarlos en la placa del contador digital de células Luna FI, el cual se encontraba calibrado y en modo de fluorescencia con naranja de acridina. Las cabezas de los espermatozoides con ADN en estado nativo (intacto) emiten fluorescencia verde, mientras que aquellos con el ADN que se encuentra desnaturalizado se observa de color rojizo.

Los resultados de este análisis fueron emitidos en porcentaje por el contador digital de células.

2.8.5. Pre dilución del semen

Una vez obtenida la muestra seminal y realizar el análisis macroscópico de la misma, se diluyó en una relación de 1:1 lo que significa que por cada parte de eyaculado; se utilizó una parte de diluyente previamente preparado, y antes de la pre dilución se tomó una muestra de 0.5 ml de semen puro en un tubo eppendorf precalentado a 37 °C y colocado en un baño maría para realizar las pruebas microscópicas del mismo. En el desarrollo de la investigación se utilizó el diluyente comercial AndroMed ®. La muestra pre diluida se transportó de inmediato al laboratorio.

2.8.5.1. Diluyente AndroMed®

El diluyente AndroMed®, fue diluido en relación 1:4 con agua bidestilada estéril previamente temperada a +32 °C, es decir que por cada parte de diluyente concentrado fueron necesarias 4 partes de agua bidestilada estéril. Para lograr las propiedades óptimas de conservación de AndroMed®, la cantidad requerida de agua fue agregado al concentrado y no viceversa. El diluyente preparado AndroMed® fue temperado antes de su uso en un baño-maría entre +30 °C y +32 °C.

2.8.5.2. Cálculo de espermatozoides viables, número de dosis y dilución final

Una vez determinada la concentración espermática y morfología normal se determinó el número de espermatozoides viables del total del eyaculado, el cual sirvió para el posterior cálculo del número de dosis y dilución final, con la siguiente fórmula:

Donde:

$$Ev = Ve * Ce * Mn * Mi$$

- **Ev** = *Espermatozoides viables*
- **Ve** = *Volumen de eyaculado*; Cantidad (ml) de semen que quedan después de realizado las pruebas de evaluación microscópica.
- **Ce** = *Concentración espermática*; Concentración espermática/ml: Número de espermatozoides por ml de semen.
- **Mn** = % *Morfología normal*; Total de espermatozoides normales encontrados en un conteo de 100 espermatozoides y transformado a porcentaje. El valor que se coloca en la fórmula irá expresado como un número entero, por ejemplo 90% = 0.9.
- **Mi** = % *Motilidad individual*; Total de espermatozoides que presentan movimiento lineal progresivo. El valor que se coloca en la fórmula irá expresado como un número entero, por ejemplo 90% = 0.9

Obtenido este valor se procedió a realizar el cálculo del número de dosis a obtenerse tomando en cuenta que cada una será de 0.5 ml y contendrá 50×10^6 espermatozoides, para lo cual se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Número de dosis} = \frac{\text{Total de espermatozoides viables}}{\text{Concentración deseada/dosis}}$$

Para el cálculo de la dilución final se usó las siguientes fórmulas:

Volumen final para pajillas de 0.5 ml = (Número de dosis) / 2

Volumen final de diluyente = *Volumen final para pajillas de 0.5 ml* – (Volumen de eyaculado +
+Volumen de diluyente en la predilución)

2.8.5.3. Envasado y sellado de pajillas

Una vez que se diluyo completamente el semen procedí a envasarlo en pajillas de 0.5 ml, el envasado se realizó con la ayuda de una jeringa de insulina para posteriormente con la ayuda de otra jeringa sacar un poco de semen de la pajilla con la finalidad de dejar una burbuja de aire que evitará que esta explote al momento de la descongelación y fueron selladas con alcohol polivinilo. Esta actividad se la realizó a temperatura ambiente que oscilará entre los 14 y 20 °C.

2.8.5.4. Curva de temperatura

La curva de temperatura tuvo como finalidad estabilizar a los espermatozoides en el diluyente para que puedan resistir al proceso de congelación, dicha curva inició reduciendo la temperatura de 20 °C a 5 °C en 30 minutos (velocidad: -0.5 °C/min) mediante la adición de hielo en un cooler con agua. Una vez alcanzada esta temperatura se introdujo las pajillas en una cámara de refrigeración por un lapso de 4 horas a una temperatura de 4 °C para el periodo de equilibrado.

2.8.6. Congelación

La congelación se realizó mediante vapores de nitrógeno en donde se colocaron las pajillas en un rack con capacidad para 50 y se colocó en un cooler, el cual posee 2 cm de nitrógeno líquido. El descenso de temperatura se realizó en relación a los siguientes valores y tiempos:

- Primer descenso de 4 °C a -6 °C durante 10 minutos (velocidad -1 °C/min), esto se logró colocando el rack a 6 cm del nitrógeno líquido.
- Segundo descenso de -6 °C a -196 °C en 4 minutos (velocidad -47.50 °C/min), esto se logró colocando el rack a 2 cm del nitrógeno líquido.
- Realizado este descenso se sumergió las pajillas en el nitrógeno líquido del cooler para terminar con su congelación.

2.8.7. Almacenamiento de dosis seminales

Una vez realizada la congelación las pajillas se almacenaron en un tanque de nitrógeno líquido en canastillas identificadas según la fecha de la extracción.

2.9. Elaboración de la ficha técnica

Para la elaboración de la ficha técnica se recopiló y organizó la información acorde a los parámetros internacionales requeridos.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1. Calidad genética de los reproductores bovinos Charolais la estación experimental Pastaza de la ESPOCH.

Para el presente estudio se consideraron dos machos bovinos identificados como: FCP Teo 0617 y FCP Samuel 0616; de los cuales realizo un análisis de Genotipificación con 17 marcadores genéticos en los que se obtuvo los siguientes resultados, ver tabla 1-3.

Tabla 1-3: Informe final de resultado de genotipificación del toro FCP Samuel 616

INFORME FINAL RESULTADOS GENOTIPIFICACIÓN		
Fecha de ingreso: 2021-07-22	Dirigido a: Asociación Charolais de Morona Santiago	
Fecha de dictamen: 2021-09-22	Dirección: Calle Tarqui y 24 de mayo - Macas Ecuador Telefono: 59372703802	
Fecha de toma de la muestra: 2021-06-16	Responsable de toma de muestras: Dr. José Luis Lema	
Procesamiento en el laboratorio: 2021-09-22	Lugar de toma de muestras: Estación experimental Pastaza	
IDENTIFICACIÓN		
EJEMPLAR NOMBRE: FCP SAMUEL 0616		
REGISTRO: EN TRAMITE ID: FCP SAMUEL 0616 SEXO: MACHO		
PROPIETARIO: ESPOCH		
RESULTADOS		
MARCADOR	ALELO 1	ALELO 2
TGLA227	83	89
BM2113	131	139
TGLA53	164	166
ETH10	217	217
SPS115	248	256
SPS113	135	151
RM067	90	90
TGLA126	119	119
TGLA122	143	149
INRA23	202	206
BM1818	264	266
ETH3	117	119
ETH225	140	150
BM1824	178	182
MGTG4B	135	135
CSSM66	181	191
ILSTS006	288	288

Fuente: (Biotecgen, 2021).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

Como se observa en la tabla 2-3, en referencia a los resultados de genotipificación del animal FCP Samuel 616, cinco pares de alelos correspondiente al 29.41% mostraron ser homocigóticos, los marcadores genéticos que mostraron homocigosis fueron: ETH10, RM067, TGLA126, MGTG4B, ILSTS006; mientras que, el 70,59% 12 pares de alelos, mostraron un resultado heterocigótico.

Tabla 2-3: Informe final de resultado de genotipificación del toro FCP Teo 617

INFORME FINAL RESULTADOS GENOTIPIFICACIÓN	
Fecha de ingreso: 2021-07-22	Dirigido a: Asociación Charolais de Morona Santiago
Fecha de dictamen: 2021-09-22	Dirección: Calle Tarqui y 24 de mayo - Macas Ecuador Telefono: 59372703802
Fecha de toma de la muestra: 2021-06-16	Responsable de toma de muestras: Dr. José Luis Lema
Procesamiento en el laboratorio: 2021-09-22	Lugar de toma de muestras: Estación experimental Pastaza
IDENTIFICACIÓN	
EJEMPLAR NOMBRE: FCP TEO 617	
REGISTRO: EN TRAMITE ID: FCP TEO 617 SEXO: MACHO	
PROPIETARIO: ESPOCH	

IDENTIFICACIÓN		
Ejemplar Nombre: FCP Teo 0617		
Registro: CH EC HGR - 00862 Id: FCP Teo 0617 Sexo: Macho		
Propietario: ESPOCH		
RESULTADOS		
MARCADOR	ALELO 1	ALELO 2
TGLA227	77	83
BM2113	139	139
TGLA53	164	166
ETH10	217	217
SPS115	248	248
SPS113	141	151
RM067	90	90
TGLA126	119	123
TGLA122	149	157
INRA23	206	206
BM1818	266	266
ETH3	119	123
ETH225	140	148
BM1824	178	182
MGTG4B	135	147
CSSM66	181	199
ILSTS006	288	292

Fuente: (Biotecgen, 2021).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

La tabla muestra los resultados correspondientes a la genotipificación del toro FCP Teo 617 en donde se observa que 6 pares de alelos correspondiente al 35,29% mostraron ser homocigóticos, los marcadores para estos alelos fueron BM2113, ETH10, SPS115, RM067, INRA23, BM1818; mientras que, el 64,71% correspondiente a 11 pares de alelos son heterocigóticos.

Al analizar los registros históricos de animales de la Asociación Charolais del Ecuador, se observa un comportamiento similar en cuanto a los porcentajes de alelos homocigóticos teniendo en promedio 6 pares de alelos que tienen este comportamiento, el cual, concuerda con el obtenido en el presente estudio, lo que demuestra la variabilidad genética que existe en estos animales.

Al respecto, (Novoa, et al., 2017), mencionan que las pruebas de genotipificación utilizan segmentos de ADN que se denominan microsatélites (STRs), los cuales pueden presentar polimorfismos denominados alelos. Para cada microsatélite, cada animal analizado tiene dos alelos, uno heredado del padre y otro de la madre, es así como la determinación de los alelos ubicados en los microsatélites presentes en el ADN de un individuo permite obtener una combinación particular que se denomina genotipo (perfil genético) del ejemplar en análisis.

La diversidad genética, que en sentido amplio es el componente más básico de la biodiversidad, se refiere a las variantes heredables que ocurren en cada organismo, entre los individuos de una población y entre las poblaciones dentro de una especie, en condiciones naturales más o menos estables. En ese contexto la genética de poblaciones y la evolución son las disciplinas que se ocupan de entender, describir y dar las pautas para que la biodiversidad se comprenda, se proteja y se conserve (La diversidad genética y la variabilidad genética: dos conceptos diferentes asociados al germoplasma y al mejoramiento genético vegetal, 2017), Como se pueden observar en los resultados obtenidos de la genotipificación realizada a los machos objeto de este estudio se muestra una alta variabilidad en los genes lo que los hace más fáciles de usar en cruzamientos para mejoramiento genético.

Hablando de mejoramiento genético (Bejarano, et al., 2012), mencionan que la diversidad genética se considera clave en la conservación de los recursos genéticos y constituye la base de procesos de selección y mejoramiento genético, observando en los resultados mostrados una rica fuente de variabilidad y diversidad en la presencia de alelos de los reproductores.

3.1.1. Análisis de genes de interés comercial

Los análisis de genes de interés comercial realizados a los bovinos charolais de la Estación Experimental Pastaza de la ESPOCH muestran aspectos relacionados con características maternas, de crecimiento, producción y reproducción, los cuales fueron comparados con la base

de datos histórica existente en animales de la misma raza en el Ecuador. Fueron analizados los índices ingénty de producción y maternal, índices maternales, índices de crecimiento e índices de canal. En la Ilustración 1-3: se muestran los resultados obtenidos en este análisis.

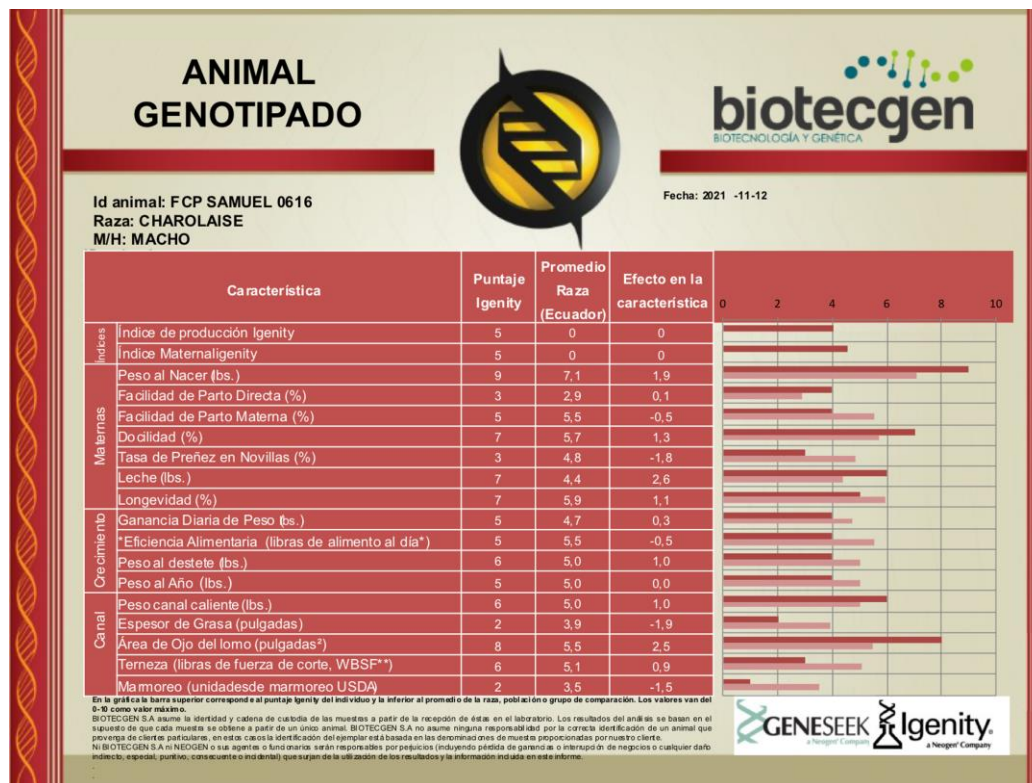


Ilustración 1-3: Resultados del análisis de genes de interés comercial del toro FCP Samuel 0616

Fuente: (Biotecgen, 2021).

Como se observa en la **Ilustración 1-3**. El puntaje ingenty del individuo FCP Samuel 0616, muestra valores superiores al promedio de la raza en el Ecuador en la mayoría de los ítems. Refiriéndose al peso al nacer (lbs); se observa que el puntaje del individuo muestra el valor de 9 que claramente es superior al promedio de la raza en el Ecuador 7,1. La producción de leche (lbs) es otro parámetro maternal importante, en donde se observa un puntaje ingenty de 7 en comparación al promedio nacional que es de 4,4. La longevidad muestra también superioridad por parte del individuo el cual obtuvo un puntaje de 7 versus 5,9 del promedio Nacional. Dentro de los rasgos maternales en donde el individuo posee menores valores que el promedio nacional mencionamos a la facilidad de parto materna con un puntaje de 5 versus el promedio nacional que es de 5,5 y la tasa de preñez en novillas (%) con un puntaje de 3 versus 4,8 que denota el promedio en Ecuador.

Al analizar los resultados obtenidos por FCP Teo 0617, se observa que de igual manera presenta valores superiores a los reportados por el promedio de la raza en el Ecuador en la mayoría de los

parámetros. El peso al nacimiento (lbs) muestra un considerable valor superior de 9 sobre 7,1 que describe el promedio, la docilidad (%) también reporta un valor superior al promedio nacional con 7 versus un 5,7. La tasa de preñez de las novillas (%) por el contrario muestra un valor menor sobre el promedio mostrando un valor de 3 versus un 4,8.

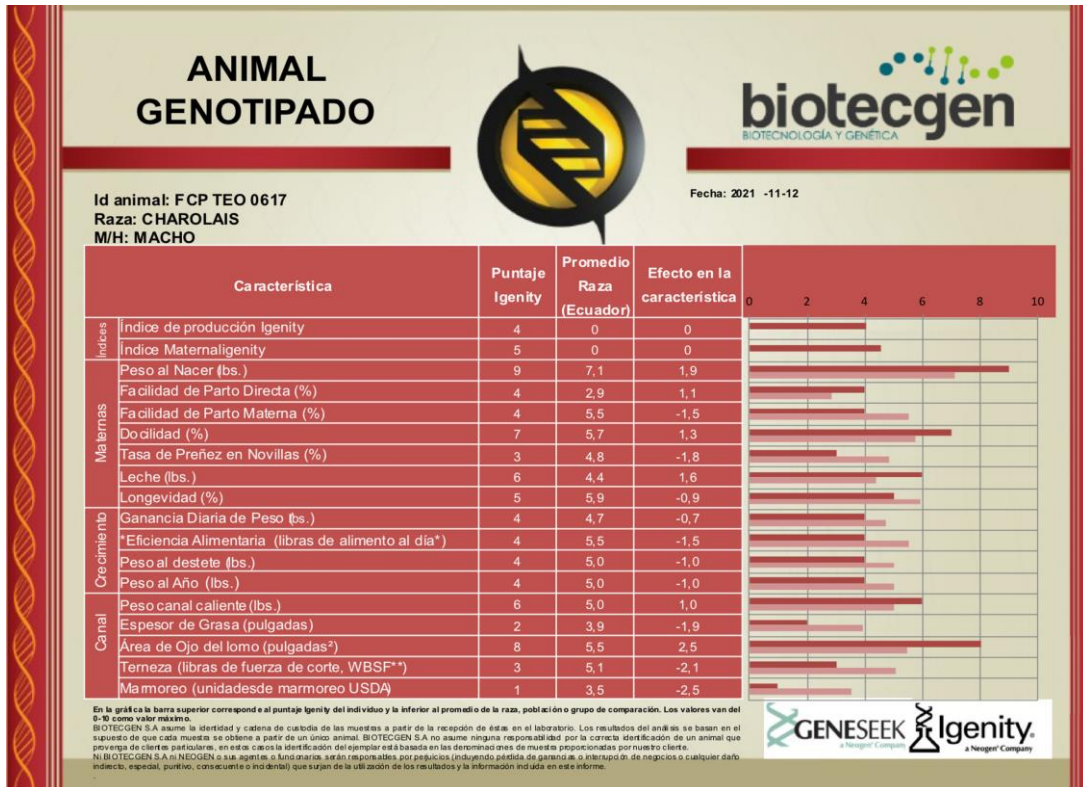


Ilustración 2-3: Resultados del análisis de genes de interés comercial del toro FCP Teo 0617

Fuente: (Biotecgen, 2021).

Con respecto a estos parámetros (Dickerson, G., 1969), cita que, para una correcta utilización de los recursos genéticos en los sistemas de producción de carne, es necesario caracterizar las diferentes razas disponibles en términos de los parámetros genéticos involucrados de origen aditivo (diferencias raciales) y no aditivos (heterosis y pérdidas por recombinación) en relación con las características que afectan la eficiencia biológica de los mismos. Es importante obtener estimaciones locales de los parámetros en las condiciones específicas económicas y productivas en las que se desarrolla la producción.

El autor (Adib, et al., 2019), menciona que la heredabilidad de un carácter cuantitativo en una población es el parámetro genético de mayor importancia, ya que determina la estrategia a ser usada en el mejoramiento de ese carácter. Para Galeano, (2010), en su investigación “Estimación de parámetros genéticos para características productivas y reproductivas en los sistemas doble propósito del trópico bajo colombiano”, reporta valores de heredabilidad de 0,35 +/- 0,06 para el parámetro producción de leche, lo que se considera una heredabilidad alta. Este valor demuestra

la importancia de poseer valores superiores a los promedios nacionales en rasgos maternales y en especial la producción de leche.

Los parámetros genéticos de crecimiento para el toro FCP Samuel 0616 (Ilustración 1-3) muestran valores superiores a los reportados por el promedio nacional en las características ganancia diaria de peso (lbs) y peso al destete (lbs) con valores de 5 y 6 sobre los promedios que reportan 4,7 y 5 respectivamente. En la característica de peso al año no existen diferencia mostrando el mismo valor que el promedio, que en este caso es de 5 y la única característica que presenta un valor inferior al promedio es la eficiencia alimentaria (libras de alimento al día) con un valor de 5 versus el promedio que reporta un valor de 5,5.

Por otra parte, al analizar las características de crecimientos del toro FCP Teo 0617 (Ilustración 2-3), se observa un comportamiento diferente al mostrar valores más bajos en todas las características de crecimiento en relación al promedio nacional, teniendo valores de 4 sobre 4,7 en ganancia diaria de peso (lbs), 4 versus 5,5 en eficiencia alimentaria (libras de alimento al día), 4 versus 5 en peso al destete (lbs) y 4 versus 5 en la característica de peso al año (lbs).

Con lo referente a estas características, (Gonzales, 2016) menciona que los toros Charolais adultos pueden alcanzar pesos de 900 – 1,250 kg, y las hembras de 560 – 900 kg, novillos de engorde pueden tener ganancias de peso diarias de 1.58kg, con conversión alimenticia de 1kg x 7.26 kg, de alimento. El peso al año alcanza los 480 Kg, con ganancias de 1.175 gramos al día y ganancias medias en concurso entre 1.300 y 1.600 g/día. Esto ratifica la importancia de poseer características de crecimiento superiores a las mostradas en los promedios nacionales, con esto se pueden diseñar programas de mejora animal y sobre todo obtener mejores rendimientos de los animales en la fase de crecimiento.

Según (Adib, et al., 2019), indica valores de heredabilidad para características de crecimiento que son relativamente altas, teniendo valores en ganancia de peso de 0,35 a 0,40 y eficiencia en ganancia de peso de 0,30 a 0,40. (Crecimiento y características de la canal de bovinos Charolais y Beefmaster alimentados con dos fuentes de proteína y dos niveles de grasa sobrepasante, 2002), en su estudio acerca del “Crecimiento y características de la canal de bovinos Charolais y Beefmaster alimentados con dos fuentes de proteína y dos niveles de grasa sobrepasante” se muestran resultados en cuanto a la variable ganancia diaria de peso (kg) de 1,35 +/- 0,03 Kg/día en la raza Charolais, mientras que (Bolaños, et al., 2010) en su estudio de “Evaluación de ganancia de peso en toretes Charolais mediante la aplicación de dos anabólicos (Revalor g y Boldenona) frente a animales castrados en la provincia de Morona Santiago” muestran ganancias de peso (kg) de 0,626 kg/día en animales que fueron sometidos a un tratamiento con anabólicos.

Datos oficiales de la Asociación Charolais del Ecuador muestran valores y comportamientos similares en las genotipificaciones de animales, especialmente la característica de ganancia diaria de peso (kg) muestra valores superiores en la mayoría de los animales genotipificados.

La Ilustración 1-3, muestra las características de canal del toro FCP Samuel 0616 en donde se observa que el peso a la canal caliente (lbs) muestra un valor superior al promedio con 6 sobre 5, el área de ojo de lomo (pulgadas²) también muestra un valor superior al promedio con 8 sobre 5,5 y la terneza con un valor de 6 versus 5,1 del promedio. Las características de espesor de la grasa (pulgadas) y marmoreo (unidades marmoreo USDA) muestran valores inferiores a los promedios nacionales con 2 versus 3,9 y 2 versus 3,5 respectivamente.

De la misma manera, en la Ilustración 2-3, se observa las características de canal del toro FCP Teo 0617 en donde las características que sobrepasan el promedio nacional son el peso a la canal caliente (lbs) y el área de ojo de lomo (pulgadas²) con 6 versus 5 y 8 versus 5,5 respectivamente. Las características que muestran valores más bajos al promedio son el espesor de la grasa (pulgadas) con un valor de 2 versus 3,9; la terneza (libras de fuerza de corte) con un valor de 3 versus 5,1 y el marmoreo (unidades de marmoreo USDA) con un valor de 1 versus 3,5 que reporta el promedio nacional.

Al respecto, (Adib, et al., 2019), menciona que la heredabilidad en los rasgos de canal muestra valores de 0,50 – 0,70 en el área del ojo de bife, la clasificación de la canal del 0,25 – 0,30 y la terneza de la carne una heredabilidad del 0,50 – 0,60. Por otra parte, (Jiménez, et al., 2010), en su estudio “Parámetros y valores genéticos para características de composición corporal, área de ojo de lomo y grasa dorsal medidos mediante ultrasonido en la raza Brahman” reportan valores de heredabilidad de 0,37 +/- 0,11; 0,29 +/- 0,10; 0,26 +/- 0,10 y 0,11 +/- 0,09 para las características de área de ojo de lomo, grasa dorsal, profundidad del músculo glúteo medio y grasa del anca respectivamente.

Según (Montoya, et al., 2020), en el estudio denominado “Indicadores genómicos y fenotípicos para calidad de la carne en bovinos Charolais de México” muestran valores del área de ojo de lomo de 10,6 +/- 1,96 pulgadas² y un valor promedio de 0,17 +/- 0,06 pulgadas para la grasa dorsal. (Jiménez, et al., 2006), por otro lado, en su estudio acerca de “Correlación entre espesor de la grasa dorsal, grasa en la décimo segunda costilla y área de lomo con parámetros reproductivos en ganado Brahman comercial” reportan valores de 17,42 +/- 3,69 pulgadas² en la medida del área de ojo de lomo de bovinos Brahman. Este parámetro es uno de los más importantes al momento de valorar el precio de comercialización de la carne.

Gen de miostatina

En la tabla 3-3 se muestra el análisis del gen miostatina en bovinos Charolais

Tabla 3-3: Análisis del gen miostatina en bovinos Charolais de la Estación Experimental Pastaza de la ESPOCH

ID ANIMAL	Código de la muestra	ID del ejemplar	Sexo	Raza	Variante del gen
FCP SAMUEL 0616	Bv4926401G	EC006070616	MACHO	Charolais	0
FCP TEO 0617	Bv4926501G	EC006070617	MACHO	Charolais	1:F94L

Fuente: (Biotecgen, 2021).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

3.2. Evaluación de la fertilidad

Al realizar la evaluación de fertilidad de los principales parámetros seminales de toros de la Estación Experimental Pastaza de la ESPOCH se obtuvieron los valores reportados en la tabla 4-3 y tabla 5-3, como se observa a continuación:

Tabla 4-3: Evaluación de parámetros de fertilidad del toro FCP Samuel 0616

ID ANIMAL	VARIABLE	n	MEDIA	D.E.*	E.E.*	C.V.*	MÍN*	MÁX*
FCP 616	Volumen (ml)	5	9	1,58	0,71	17,57	7	11
FCP 616	pH	5	6,84	0,05	0,02	0,8	6,8	6,9
FCP 616	Motilidad masal (%)	5	86	4,18	1,87	4,86	80	90
FCP 616	Motilidad individual (%)	5	86	4,18	1,87	4,86	80	90
FCP 616	Viabilidad espermática (%)	5	89	2,24	1	2,51	85	90
FCP 616	Morfoanomalías (%)	5	7,4	0,55	0,24	7,4	7	8
FCP 616	Daño en ADN (%)	5	0,94	1,28	0,57	135,95	0	3,1
FCP 616	Concentración espermática	5	944	94,5	42,26	10,01	850	1100

DE: Desviación estándar; E.E: Error estándar; C.V: Coeficiente de variación; Mín: Mínimo; Máx: Máximo.

Fuente: (Biotecgen, 2021).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

Tabla 5-3: Evaluación de parámetros de fertilidad del toro FCP Teo 0617

ID ANIMAL	VARIABLE	n	MEDIA	D.E	E.E.	C.V	MÍN	MÁX
FCP 617	Volumen (ml)	5	7,6	1,14	0,51	15	6	9
FCP 617	pH	5	6,82	0,04	0,02	0,66	6,8	6,9
FCP 617	Motilidad masal (%)	5	79	4,18	1,87	5,3	75	85
FCP 617	Motilidad individual (%)	5	84	4,18	1,87	4,98	80	90
FCP 617	Viabilidad espermática (%)	5	88	2,74	1,22	3,11	85	90
FCP 617	Morfoanomalías (%)	5	9,8	1,3	0,58	13,3	8	11
FCP 617	Daño en ADN (%)	5	5,6	5,19	2,32	92,72	0,9	13,1
FCP 617	Concentración espermática	5	760	74,2	33,17	9,76	650	850

DE: Desviación estándar; E.E: Error estándar; C.V: Coeficiente de variación; Mín: Mínimo; Máx: Máximo.

Fuente: (Biotecgen, 2021).

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

Al analizar los resultados fertilidad de los machos bovinos de la Estación Experimental Pastaza de la ESPOCH los eyaculados mostraron un color blanco cremoso para el animal FCP Samuel 0616 y blanco lechoso para el animal FCP Teo 0617. Al respecto (Gómez, et al., 2016), menciona que se consideran normales los colores que van del blanco al amarillento, siendo patológicos, los colores rosado, amarronado y verdoso. (Tamargo, et al., 2019) añade que debe desecharse el semen con fragmentos de algún tipo de material, pues esto indica alguna infección del aparato reproductor, así como la presencia de coloraciones rojas o marrones que son indicativas de sangre hemolizada. Los colores obtenidos en los eyaculados de los reproductores analizados corresponden por tanto a colores normales.

El olor de los eyaculados de los bovinos analizados presentó una característica neutra, descartando la presencia de orina o algún tipo de infección en el tracto reproductor. Este indicativo está relacionado directamente con lo mencionado en el apartado anterior.

En cuanto al volumen de eyaculado, el toro FCP Samuel 0616 tuvo un valor promedio de 9 +/- 1,58 ml; mientras que el toro FCP Teo 0617 reportó un valor promedio de 7,6 +/- 1,14. Con referencia a estos valores, (Valoración de la calidad seminal en toros charoláis de la provincia de Morona Santiago, 2020) en su estudio denominado “Valoración de la calidad seminal en toros charoláis de la provincia de Morona Santiago” reporta valores de volumen de eyaculado de 8,8 ml en promedio. Por otro lado, (Gómez, et al., 2016) menciona que el volumen se observa directamente sobre el tubo graduado, teniendo en cuenta que un toro mayor de 2 años debe tener un eyaculado de no menos de 4ml. El volumen puede variar entre 2 y 12ml. Los valores encontrados en este estudio se encuentran dentro de los rangos y valores sugeridos y obtenidos por otros autores.

Al observar los resultados del pH de los eyaculados, se puede apreciar en la Tabla 3-3 y Tabla 4-3, que el toro FCP Samuel 0616 reportó en promedio un valor de 6,84 +/- 0,05 mientras que el toro FCP Teo 0617 un valor de 6,82 +/- 0,04. (Gómez, et al., 2016) mencionan que el pH se evalúa extrayendo una gota de semen del tubo y colocándola sobre una tira indicadora de pH. Se considera un pH normal, entre 6.2 y 6.8. (Valoración de la calidad seminal en toros charoláis de la provincia de Morona Santiago, 2020) en su estudio denominado “Valoración de la calidad seminal en toros charoláis de la provincia de Morona Santiago” reportó valores de pH entre 6,5 a 6,5 mientras que (Carpio, V. 2014) en su estudio “Evaluación de dos diluyentes para la criopreservación de semen bovino: yema de huevo vs leche descremada” muestra un resultado de 7,13 para el pH de semen bovino. Estos resultados suelen variar por la subjetividad en la lectura de las tiras medidoras de pH debido a la percepción del color.

La motilidad masal (%) y motilidad individual (%) reportaron valores para el toro FCP Samuel 0616 de 86 +/- 4,18 para ambos casos mientras que el toro FCP Teo 0617 reportó valores de 79 +/- 4,18 para motilidad masal y 84 +/- 4,18 para motilidad individual. La motilidad es uno de los parámetros más importantes de la analítica seminal. Estos métodos evalúan el porcentaje de espermatozoides móviles, así como el tipo de movimiento que presentaba la media de una población espermática. Estas medidas ofrecen una descripción general de la motilidad espermática, pero la exactitud y precisión están limitadas por las condiciones del sistema de medida y por la destreza del observador. A pesar de ello, la valoración subjetiva de la motilidad hecha por personas experimentadas es de gran valor, debido a que la información se presenta de forma inmediata, al tiempo que es un método económico y de fácil ejecución (Hidalgo, et al., 2020). Al respecto de estas variables (Calle, C., 2020), reporta valores para la motilidad individual que van entre 59 y 80%, mientras que (Carpio, V., 2014) reporta un 80% de motilidad masal en su trabajo. Estos valores se encuentran dentro del rango recomendado y además concuerdan con las investigaciones realizadas en el análisis de semen bovino.

La variable viabilidad espermática reporta un valor de 89 +/- 2,24 para FCP Samuel 0616 mientras que FCP Teo 0617 88 +/- 2,74. (Hidalgo, et al., 2020), al respecto cita que la rotura de la membrana plasmática está claramente asociada con la pérdida de viabilidad celular, pero una membrana plasmática intacta no siempre indica que la célula sea viable. (Carpio, V., 2014), reporta un 82,5% en su estudio; mientras que, (Montoya, et al., 2020) en su estudio “Evaluación de tres concentraciones de yema de huevo centrifugada en la criopreservación de semen bovino” reporta un valor de 83 +/- 15,55 para la variable vitalidad espermática. Al comparar estos valores con los de la presente investigación se puede observar que la viabilidad espermática es superior al 80% en todos los casos lo que denotan una buena condición de los reproductores y hacen que el material seminal pueda ser usado para su procesamiento y conservación.

Al observar las morfoanomalías que presenta el eyaculados de ambos reproductores se puede observar que para el caso de FCP Samuel 0616 presenta un $7,4 \pm 0,55$ mientras que FCP Teo 0617 reporta un $9,8 \pm 1,3$ para esta variable. Al respecto. (Valoración de la calidad seminal en toros charoláis de la provincia de Morona Santiago, 2020) reporta que las morfoanomalías de toros Charolais de la Provincia de Morona Santiago no superó el 20%; mientras que, (Calle, C., 2020) en su estudio reporta un 2,5% de anormalidades en forma de los espermatozoides. (Vejarano, et al., 2005) por otro lado, reporta un 14% de anormalidades en su estudio “Diagnóstico de la capacidad reproductiva de toros en ganaderías de tres municipios del Alto Magdalena”. Los datos presentan variabilidad debido a que todos los análisis de morfoanomalías se realizaron de una manera subjetivo con el método de tinción Eosina – Nigrosina.

Al analizar la variable de daño en ADN de los reproductores FCP Samuel 0616 y FCP Teo 0617 se observa un daño de $0,94 \pm 1,28$ y $5,6 \pm 5,19$ respectivamente. Acerca de este punto, (Álvarez, et al., 2015), menciona que el estudio sobre el daño al ADN ocasionado por factores químicos, físicos y biológicos en células somáticas y germinales, que permite entender los procesos de mutagénesis, teratogénesis y carcinogénesis, entre otros, es de especial interés para la producción animal. (Espermatozoides con cromatina dañada e inmadura en semen criopreservado de toros Brahman, 2016), en su estudio “Espermatozoides con cromatina dañada e inmadura en semen criopreservado de toros Brahman” reporta un daño en el ADN $7 \pm 3,71$. Por otra parte, (Mancheno, et al., 2022), en su estudio “Recongelación de espermatozoides bovinos como alternativa para mejorar la calidad espermática de semen” reporta un 8,74% de daño en el ADN de espermatozoides descongelados. Como se observa existen variaciones en los diferentes resultados debido a la raza de los animales y sobre todo en las técnicas y equipos utilizados.

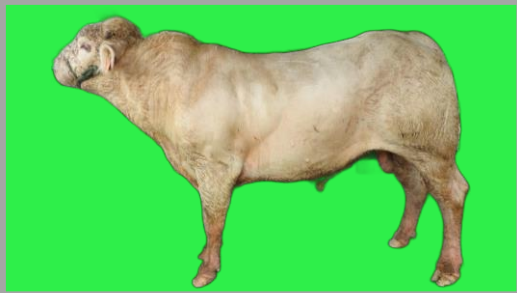
Con referencia a la concentración espermática el toro FCP Samuel 0616 presentó una concentración de $944 \times 10^6 \pm 94,5$ espermatozoides/ml mientras que FCP Teo 0617 reportó un valor de $760 \times 10^6 \pm 74,2$ espermatozoides/ml. (Hidalgo, et al., 2020), menciona que existe una correlación significativa entre el número de espermatozoides y la fertilidad del toro. La presencia de un mayor número de espermatozoides, siempre y cuando sus características sean normales, incrementa la posibilidad de fertilización. (Vejarano, et al., 2005) reporta una concentración espermática de $661,5 \pm 582,8 \times 10^6$ mientras que (Valoración de la calidad seminal en toros charoláis de la provincia de Morona Santiago, 2020), en su estudio reporta una concentración espermática de 715×10^6 espermatozoides/ml. La variación en los datos corresponde al método de análisis y a la subjetividad del evaluador. En la tabla 5-3 se detalla el análisis de gen miostatina en bovinos Charolais de la Estación Experimental Pastaza de la ESPOCH.

Como se observa en la Tabla 5-3: El toro FCP Samuel 0616 no presentó ninguna variante del gen miostatina, mientras que FCP Teo 0617 presentó la variante del gen F94L. Al respecto, (Biotecgen, 2021), menciona que Variantes “perjudiciales”: C313Y, nt419, E226X, nt821, E291X, Q204x son clasificadas como "perjudiciales" porque a pesar de que están asociadas con un aumento de la terneza de la carne, causan doble musculatura, altos pesos al nacimiento e incrementos de la distocia (dificultad en el parto). Variantes "missense": D182N, F94L, S105C están relacionadas con el incremento en la musculatura y reducción en la grasa intra e intermuscular, sin cambiar el peso al nacimiento.


3.3. Ficha técnica con la de los reproductores bovinos de la Estación Experimental Pastaza de la ESPOCH.

A continuación, en la Ilustración 3-3, se puede apreciar características del reproductor bovinos de la estación experimental Pastaza de ejemplar considerad para el estudio:

FCP TEO 0617



Estación Experimental Pastaza



Raza: CHAROLAIS	
Sexo: MACHO	
Propietario: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo	

Análisis de miostatina	
Variante del gen: 1:	F94L

Crecimiento	
Ganancia Diaria de Peso (lbs.)	4
Eficiencia Alimentaria (lib. de aliM.l día)	4
Peso al destete (lbs.)	4
Peso al Año (lbs.)	4

Índice	
Índice de producción Ingenuity	4
Índice de maternal Ingenuity	5

Maternas	
Peso al Nacer (lbs.)	9
Facilidad de Parto Directa (%)	4
Facilidad de Parto Materna (%)	4
Docilidad (%)	7
Tasa de Preñez en Novillas (%)	3
Leche (lbs.)	6
Longevidad (%)	5

↓


Canal	
Peso canal caliente (lbs.)	6
Espesor de Grasa (pulgadas)	2
Área de Ojo del lomo (pulgadas ²)	8
Terneza (libras de fuerza de corte, WBSF**) 3	
Marmoreo (unidades de marmoreo USDA)	1

Ilustración 3-3: Ficha técnica FCP TEO 0617 de la Estación Experimental Pastaza de la ESPOCH.


Fuente: (Biotecgen, 2021).

A continuación, se dispone de la ficha técnica del segundo ejemplar que ha sido objeto de la investigación en el presente estudio.

FCP SAMUEL 0616



Estación Experimental Pastaza



Raza: CHAROLAIS
Sexo: MACHO
Propietario: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Análisis de miostatina
 Variante del gen: 0

Crecimiento	
Ganancia Diaria de Peso (lbs.)	5
Eficiencia Alimentaria (lib. de aliM.l día)	5
Peso al destete (lbs.)	6
Peso al Año (lbs.)	5

Índice	
Índice de producción Ingenuity	5
Índice de maternal Ingenuity	5

Maternas	
Peso al Nacer (lbs.)	9
Facilidad de Parto Directa (%)	3
Facilidad de Parto Materna (%)	5
Docilidad (%)	7
Tasa de Preñez en Novillas (%)	3
Leche (lbs.)	7
Longevidad (%)	7

Canal	
Peso canal caliente (lbs.)	6
Espesor de Grasa (pulgadas)	2
Área de Ojo del lomo (pulgadas ²)	8
Terneza (libras de fuerza de corte, WBSF**)	6
Marmoreo (unidades de marmoreo USDA)	2

Ilustración 4-3: Ficha técnica FCP SAMUEL 0616 de la Estación Experimental Pastaza de la ESPOCH.

Fuente: (Biotecgen, 2021).

3.4. Análisis de costos de las técnicas y tecnologías aplicadas

Para la investigación se ha considerado los materiales necesarios para el procesamiento y congelación del semen bobino de los dos ejemplares de raza Charolais. En la tabla 6-3 se definen los costos de la tecnología aplicada en la investigación.

65

Tabla 6-3: Costos de la tecnología aplicada en la investigación.

MATERIALES PARA EL PROCESAMIENTO Y CONGELACIÓN DE SEMEN BOVINO			
DETALLE	CANTIDAD	COSTO UNITARIO	COSTO TOTAL
Tubos falcon de 15 ml	10	0,4	4
Papel aluminio (rollo)	1	2,5	2,5
Guantes de inseminación	5	0,4	2
Guantes de examinación	10	0,25	2,5
Toallas de cocina (rollo)	2	4	8
Agua inyectable veterinaria (Frasco 500 ml)	1	3,8	3,8
Jeringas de 10 ml	15	0,3	4,5
Jeringas de 20 ml	15	0,4	6
Agujas descartables 18 x 1	20	0,15	3
Placas porta objetos (caja x 50)	2	4,5	9
Placas cubre objetos (caja X 100)	2	3,5	7
Tiras de papel ph - tornasol (paquete)	1	4,5	4,5
Diluyente de semen Andromed	1	110	110
Nitrógeno líquido	10	3,5	35
Pajillas de semen (0,5 ml)	200	0,098	19,6
Alcohol polivinílico	1	3,5	3,5
Goblets	40	1,6	64
Canastillas	20	1	20
Análisis de ADN, Transporte de las muestras y aretes oficiales de Agrocalidad	1	1	463,60
		Total	772,5

Realizado por: Quilambaqui Prado, Diego, 2023.

CONCLUSIONES

- Al realizar los análisis de genotipificación y genes de interés comercial de los reproductores bovinos de la Estación Experimental Pastaza de la ESPOCH se determinó que la calidad genética de los reproductores es elevada debido a la variabilidad genética que mostraron en sus resultados de genotipificación lo que permite elaborar programas de mejoramiento. El toro FCP Samuel 0616 mostró características de interés comercial más adecuadas teniendo superioridad en base al promedio nacional en las características de peso al nacimiento, facilidad de parto directa, docilidad, leche, longevidad, ganancia de peso, peso al destete, peso canal caliente, área de ojo de lomo y terneza.
- Mediante la evaluación de la fertilidad de los reproductores bovinos se determinó que ambos animales presentan características adecuadas para su críoconservación, notando promedios elevados en las variables como concentración espermática, y volumen y valores adecuados en variables como motilidad individual y daño en el ADN.
- En base al presente trabajo de investigación se lograron elaborar fichas técnicas de los animales en estudio, lo cual permitirá que mediante esta información sirva de herramienta de consulta intacta para ganaderos que se encuentren interesados en mejorar sus hatos.

RECOMENDACIONES

- Seleccionar un nuevo grupo de reproductores bovinos de la Estación Experimental Pastaza para realizar los mismos análisis y construir una base de datos histórica que servirá para futuros estudios.
- Incrementar análisis de filiación biológica de los animales que serán objeto de estudio posteriormente.
- Generar programas de vinculación para promover el mejoramiento genético de la Amazonía mediante la información y material recabado del presente estudio.

BIBLIOGRAFÍA

ÁLVAREZ, C. "Técnicas de estudio para la evaluación del daño al ADN y su aplicación en la producción animal". Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria [en línea], 2015, (Argentina).(7), p. 1-17. [Consulta: 17 febrero 2022]. ISSN 2314-2901. Disponible en: https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/8073/CONICET_Digital_Nro.10648_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y

ARCILA, V. "Bío-informática un campo por conocer". *Electrónica de Veterinaria* N°11 (2006), (España). p. 2. [Consulta: 15 abril 2022]. ISSN: 1695-7504. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63612653028.pdf>

BAVERA, G. "*Razas Bovinas Continentales*" *Producción animal* [en línea] Argentina, 2014. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/a_curso_produccion_bovina_de_carne/7B-09-Capitulo-IX-Razas-Continetales.pdf

BEJARANO, D; el al. "*Bovinos*" *Corpoica* [en línea] España, 2012. [Consulta: 03 mayo 2022]. Disponible en: <http://www.corpoica.org.co/sitioweb/Archivos/Revista/RevistaCientificaCorpoicaCapitulo12.pdf>.

BETHANCOURT, H & MARTÍNEZ, R. *Uso de la prueba molecular Igenity para seleccionar bovinos mestizos con genes que favorecen la ternera de la carne APF* [en línea] Santo Domingo, 2017 [Consulta: 07 mayo 2022]. Disponible en: https://www.sodiaf.org.do/revista/sodiaf/vol6_n1_2017/articulo/04%20articulo.pdf

BOLAÑOS CHACHA, Tatiana del Pilar, & INGA GUAMÁN, Roberth Willans. Evaluación de ganancia de peso en toretes Charolais mediante la aplicación de dos anabólicos (Revalor G y Boldenona) frente a animales castrados en la provincia de Morona Santiago. [En línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador. 2010. pp. 7-8. [Consulta: 08-01-2022]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/1089/14/UPS-CT001999.pdf>

BRAVO, M *Genotipificación bovina, la huella de ADN de sus animales* [en línea], Bogota-Colombia, Ergonomix, 2011 [Consulta: 26 febrero 2022]. Disponible en: <http://www.agro.unc.edu.ar/~wpweb/mejoramientoanimal/wp-content/uploads/sites/13/2017/09/Genotipificaci%C3%B3n-bovina-Engormix.pdf>

CHAROLAIS. *Herd Book Charolais, libro genealógico de la raza Charolais.* [blog] [Consulta: 08 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.charolais.org.mx/>

CHENOWETH, P. *Impulso sexual del toro y comportamiento reproductivo* [en línea], , Kansas, USA, Large Animal Clinical Sciences, 2003. [Consulta: 08 mayo 2022]. Disponible en: https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/cria_toros/15-impulso_sexual_del_toro_y_comportamiento_reproductivo.pdf

DAHMANI, Y. *Reproducción animal* [Blog] [Consulta: 19 abril 2022] . Disponible en: https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/186-reprod_compendio.pdf

FIGUEROA, J & MENCHACA, J. "Métodos de extracción de semen bovino". Revista Electrónica de Veterinaria [En línea], 2014, (España) Vol. 15. pp. 3-8. [Consulta: 19 abril 2022]. ISSN: 1695-7504. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63633881001.pdf>

FINEGOLD, D. *Genes y cromosomas.* [Blog] [Consulta: 9 de noviembre de 2022]. Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es/hogar/fundamentos/gen%C3%A9tica/genes-y-cromosomas>.

FRENCH. *Razas Europeas de ganado bovino.* [en línea], Roma-Italia, FAO, 2017 [Consulta: 26 febrero 2022]. Disponible en: <https://www.fao.org/3/an473s/an473s.pdf>

GALVÁN, PEDRO OCHA. *Mejoramiento Genético del ganado bovino productor de leche.* [en línea], México D.F.- México, Ciencia Veterinaria, 1991 [Consulta: 26 febrero 2022]. Disponible en: <https://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CvVol5/CVv5c4.pdf>

GANADERIA. *Charolais.* [blog] [Consulta: 4 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.ganaderia.com/raza/charolais>.

GANZÁBAL, A. *Guía práctica de producción ovina en pequeña escala en Iberoamérica.* [en línea], Montevideo.- Uruguay, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, 2015 [Consulta: 26 febrero 2022]. Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta-produccionovina_inta.pdf

GARCÍA, P; et al. *Transferencia de embriones en bovinos.* [Blog] [Consulta: 12 junio 2022] Disponible en: <https://www.portalveterinaria.com/rumiantes/articulos/14123/la-transferencia-de-embryones-en-bovinos.html>.

GÓMEZ, M & MIGLIORISI, L. *Sitio Argentino de Producción animal*. [en línea], Bogota.- Colombia, Instituto de Investigación TADEO, 2017 [Consulta: 15 febrero 2022]. Disponible en: https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/cria_toros/49-ProtocoloEvalSemen.pdf.

GONZALES, K. *Raza bovina Charolais*. [blog] [Consulta: 05 junio 2022]. Disponible en: <https://zoovetesmpasion.com/ganaderia/razas-bovina/raza-bovina-charolais>.

HIDALGO, C; et al. Serida. *Análisis de semen bovino*. [blog] [Consulta: 09 julio 2022] 2020. Disponible en: <https://ria.asturias.es/RIA/bitstream/123456789/192/1/Archivo.pdf>.

JARAMILLO CHUQUI, Angel Paúl. Caracterización Geométrica de la raza Charoláis en el cantón Morona [En línea] (Trabajo de Titulación). (Pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Morona Santiago - Ecuador. 2014. pp. 8-9. [Consulta: 2022-05-03]. Disponible el: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4289/1/20T00568.pdf>

JIMÉNEZ, A; et al. "Parámetros y valores genéticos para características de composición corporal, área de ojo de lomo y grasa dorsal medidos mediante ultrasonido en la raza Brahman" *Redalyc* [en línea], 2010, (Colombia) 57(3) pp. 178 - 190. [Consulta: 2022-05-03]. ISSN: 0120-2952. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remezvez/article/view/18236/19837>

JIMÉNEZ BERNAL, Elkin Julián, & TORRES VASQUEZ, Myriam Patricia. Correlación entre espesor de la grasa dorsal, grasa en la décimo segunda costilla y área de lomo con los parámetros reproductivos en ganado Brahman comercial. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad de La Salle, Bogotá-Colombia. 2006. pp 27-30 [Consulta: 2022-05-03]. Disponible en: https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1117&context=medicina_veterinaria.

LEÓN, G. *Sistema de producción Animal I*. [en línea], Caldas - Colombia, Alfa, 2011 [Consulta: 26 febrero 2022]. Disponible en: https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/productos/4782/sistemas_produccion_animal_i.pdf

MANCHENO, A ANDINO, P. "Recongelación de espermatozoides bovinos como alternativa para mejorar la calidad espermática del semen" *Sathiri* [en línea], 2008, (España), 17 (2) p. 103 117. [Consulta: 19 julio 2022] Disponible en: <https://revistasdigitales.upec.edu.ec/index.php/sathiri/article/view/1133#:~:text=Se%20determin%C3%B3%20as%C3%AD%20que%20en,8%2C74%25%20de%20da%C3%B1o>.

MARÍN, A. "Genómica en la producción Animal" *Colombiana Ciencias Administrativas*. [en línea], 2013, (Colombia) p. 4. [Consulta: 2022-07-03]. Disponible en: https://www.produccion-animal.com.ar/genetica_seleccion_cruzamientos/bovinos_en_general/29-genetica_genomica.pdf

MARTÍNEZ, A. *Conservación de las razas en peligro de extinción*. Córdoba, 2014. p. 45.

MARTÍNEZ ROJERO, Rubén Darío. Caracterización Genética y Morfológica del bovino criollo Argentino de origen patagónico. [En línea] (Trabajo de titulación).(Doctorado) Universidad Politécnica de Valencia, España. 2008. pp. 20-25. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=18231>

MERCHÁNI, M & TORRES A. Molecular Biology Techniques for research development. A literature review. *Scielo* [en línea], 2017, (Colombia), 16 (5) p. 796-807. [Consulta: 20 noviembre 2022]. ISSN 1729-519X. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v16n5/rhcm12517.pdf>

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA. *Diagnostico Territorial* [en línea]. Quito, Ecuador: Lexis, 2022. [Consulta:20 agosto 2022]. Disponible en: https://www.agricultura.gob.ec/wp-content/uploads/2020/08/Resumen-Ejecutivo-Diagn%C3%B3sticos-Territoriales-del-Sector-Agrario_14-08-2020-1_compressed.pdf

MONTOYA, J; et al. "Evaluación de tres concentraciones de yema de huevo centrifugada en la criopreservación de semen bovino". *Investigación Veterinaria Perú* [en línea], 2020, (Perú) pp. 10-20. [Consulta: 18 mayo 2022]. ISSN 7818 Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v31n2/1609-9117-rivep-31-02-e17818.pdf>

NAVA, T; et al. *Genotipificación bovina, la huella de ADN de sus animales*. [blog] [Consulta: 01 septiembre 2022]. Disponible en: <http://www.agro.unc.edu.ar/~wpweb/mejoramientoanimal/wp-content/uploads/sites/13/2017/09/Genotipificaci%C3%B3n-bovina-Engormix.pdf>.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA. *Crecimiento y alimentación del bovino charolais*. [blog] [Consulta: 01 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.fao.org/home/es>

ORTEGA, J & GARCÍA L. "El genoma bovino, métodos y resultados de su análisis". *Revista MVZ Córdoba*. [en línea], 2020, (Perú) 16 (1) pp. 2410-2424. [Consulta: 05 mayo 2022]. ISSN 7818 Disponible en: [Dialnet-ElGenomaBovinoMetodosYResultadosDeSuAnalisis-3682355](https://dialnet-elgenomabovino-metodos-y-resultados-de-su-analisis-3682355) (1)

PAPALEO, J; et al. "Ultrasonografía y composición Corporal". *INTA*. [En línea], 2006, (Argentina) [Consulta: 07 agosto 2022]. Disponible en: https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/ecografia_ultrasonido/86-usos_ultrasonografia_vr109-12.pdf

PECUARIAS. "Uso del empadre contro de ganado bovino de carne". *Inifap*. [En línea], 2013, (México) [Consulta: 09 marzo 2022]. Disponible en: <http://www.inifapcirne.gob.mx/Biblioteca/Publicaciones/970.pdf>

PINOS LEÓN, Andrea Janeth. Análisis de paternidad de *Oenocarpus bataua* (Arecaceae) en el Parque Yasuní (PNY) (Trabajo de titulación). (Pregrado) Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador. 2013. p. 14. [Consulta: 08 abril 2022]. Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/5821>

ROMERO, A; et al. *Herramientas moleculares aplicadas en ecología.* México 2014. p. 27.

ROSENBERGER, G. *Exploración clínica de los bovinos.* Buenos Aires: Hemisferio Sur, 1981.p.54.

TAMARGO, C; et al. *Obtención y evaluación del semen bovino.* [Blog] [Consulta: 03 mayo 2022] 2019. Disponible en: https://issuu.com/editorialservet/docs/albeitar253_mr/s/15009048.

VEJARANO, O; et al. "Diagnóstico de la capacidad reproductiva de toros en ganaderías de tres municipios del Alto Magdalena" *Revista MVZ Córdoba*. [En línea], 2005, pp. 64-66. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0122-02682005000200007&lng=e&nrm=iso&tlng=es

ZAMBRANO, M; et al. *Atlas geográfico provincial de Pastaza Cultura y Naturaleza.* [en línea] Puyo-Ecuador, 2019. [Consulta: 10 julio 2022]. Disponible en: https://pastaza.gob.ec/downloads/atlas/atlas_provincia_de_pastaza_cultura_y_naturaleza.pdf



ANEXOS

ANEXO A: RESULTADO DEL ANÁLISIS DE LABORATORIO DE LOS EJEMPLARES

ID Animal	Muestra	Color	Olor	ID ANIMAL	Volumen (ml)	pH	Motilidad masal (%)	Motilidad individual (%)	Viabilidad espermática (%)	Morfoanomalías (%)	Daño en ADN (%)	Concentración espermática (spz/ml)
FCP SAMUEL 0616	1	Blanco cremoso	Neutro	616	9	6,8	85	80	90	7	0	920
	2	Blanco cremoso	Neutro	616	7	6,9	90	85	90	8	1,1	850
	3	Blanco cremoso	Neutro	616	10	6,8	80	90	85	7	0,2	950
	4	Blanco cremoso	Neutro	616	8	6,8	85	90	90	8	3,1	1100
	5	Blanco cremoso	Neutro	616	11	6,9	90	85	90	7	0,3	900
FCP TEO 0617	1	Blanco lechoso	Neutro	617	8	6,8	80	80	85	11	2,6	750
	2	Blanco lechoso	Neutro	617	7	6,8	75	90	90	10	0,9	800
	3	Blanco lechoso	Neutro	617	8	6,8	80	85	90	8	2,5	850
	4	Blanco lechoso	Neutro	617	6	6,8	85	85	85	9	8,9	750
	5	Blanco lechoso	Neutro	617	9	6,9	75	80	90	11	13,1	650

ANEXO B: SELECCIÓN DE LOS EJEMPLARES



ANEXO C: EXTRACCIÓN DE MUESTRA DE PELO CON RAÍZ PARA PRUEBA DE GENOTIPIFICACIÓN Y ANÁLISIS DE GENES



ANEXO D: EVALUACIÓN DE FERTILIDAD DE LOS EJEMPLARES



ANEXO E: COLOCACIÓN DE ARETES CERTIFICADOS Y REGISTRADOS ASO CHAROLAIS DEL ECUADOR



ANEXO F: FACTURA



ASOCIACIÓN CHAROLAIS DEL ECUADOR

Dr. Matriz: 5 DE AGOSTO Y 24 DE MAYO

Dr. Sucursal: 5 DE AGOSTO Y 24 DE MAYO

CLAVE DE ACCESO



2204202201149080936400120010020000001380000013813

RUC: 1490809364001

FACTURA

No. 001-002-000000138

Fecha Emisión: 22/abr./2022

NÚMERO DE AUTORIZACIÓN

220420220114908093640012001002000000138000001

FECHA Y HORA AUTORIZACIÓN

AMBIENTE: IPRODUCCIÓN-FUERA DE

EMISIÓN: INORMAL

Obligado a llevar contabilidad: SI

Contribuyente Régimen RMPE Agente de Retención No. 11

Nombre: DIEGO PAUL QUILAMBAGUI PRADO Identificación: 1409555560

Dirección: GABINO RIVADENEIRA Y 24 DE MAYO

Teléfono: 8967840330 Email: diegopap1209@gmail.com

Código	Cantidad	Descripción	Precio Unitario	Desccto.	Precio Total
40101002004	5.00000	Exámenes Adm Genotipificación y Fila	\$70.00	0.00000000	\$420.54
40103004010	1.00000	Transporte por Envío de Muestras	\$33.00	0.00000000	\$33.00
0100011	2.00000	ARETES OFICIALES AGROCALIDAD	\$4.45	0.00000000	\$8.90

Información Adicional			
Forma de Pago:	CREDITO	SUBTOTAL	\$462.53
		DESCUENTO:	\$0.00
		SUBTOTAL 12%:	\$8.33
		SUBTOTAL 0%:	\$463.60
Nota:	Detalle de cobro (2 genotipificación con marcadores STR5, 2 perfil estándar de carne, 2 mutación con gen Mst2d3) envío de muestras a Colombia y compra de 2 aretes oficiales AGROCALIDAD.	SUBTOTAL No objeto de IV	0.00
		SUBTOTAL SIN IMPUESTO	\$462.53
		SUBTOTAL Exento de IVA:	0.00
		ICE	0.00
		IVA	\$1.67
		IRBPNR	0.00
		PROPIVA:	0.00
		VALOR TOTAL	\$463.60

ANEXO G: REPORTE DE LAS PRUEBAS

Cell Count Report 1/2

File name	Date
LAB_REP_ANIM_ESPOCH_FCP_1_1	16 Jun., 2021, 12:35

Cell count results	Protocol
Total cell concentration: 5.01×10^6 cells/mL	Protocol name: New Protocol1
Live cell concentration: 5.01×10^6 cells/mL	Dilution factor: 2.50
Dead cell concentration: 0.00×10^6 cells/mL	Min. cell size: $3 \mu\text{m}$
Viability: 100.0 %	Max. cell size: $90 \mu\text{m}$
Average cell size: $5.7 \mu\text{m}$	Size gating: $3 \sim 90 \mu\text{m}$
Total cell number: 938	Green fluorescence threshold: 10
Live cell number: 938	Red fluorescence threshold: 5
Dead cell number: 0	Green exposure: 18
	Red exposure: 6
	Green calibrated value: 0x358D
	Red calibrated value: 0x4000

Cell image (Average intensity: 109)





Producción
www.logobio.com

SN: LIP-1405717
SW version: 3.3.1

Cell Count Report

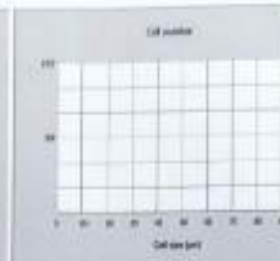
2/2

Cell size histogram expressed by cell number

Total cells

Live cells

Dead cells

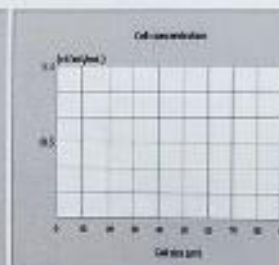
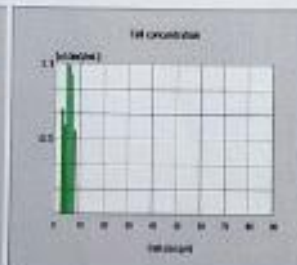


Cell size histogram expressed by cell concentration

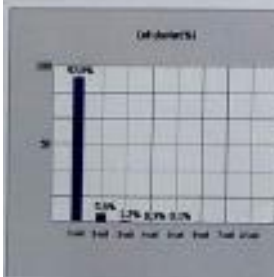
Total cells

Live cells

Dead cells



Cell cluster graph



Cell Count Report

1/2

File name

LAB_REP_ANIM_ESPOCH_FCP_1_2

Date

16 Jun., 2021, 12:43

Cell count results

Total cell concentration: 1.07×10^7 cells/mL

Live cell concentration: 1.06×10^7 cells/mL

Dead cell concentration: 1.12×10^6 cells/mL

Viability: 98.9 %

Average cell size: 6.3 μm

Total cell number: 1996

Live cell number: 1975

Dead cell number: 21

Protocol

Protocol name: New Protocol1

Dilution factor: 2.50

Min. cell size: 3 μm

Max. cell size: 90 μm

Size gating: 3 - 90 μm

Green fluorescence threshold: 10

Red fluorescence threshold: 5

Green exposure: 18

Red exposure: 8

Green calibrated value: 0x35BD

Red calibrated value: 0x4000

Cell image (Average intensity: 111)



SN: LIF-14-00777
SW version: 3.0.1



Cell Count Report

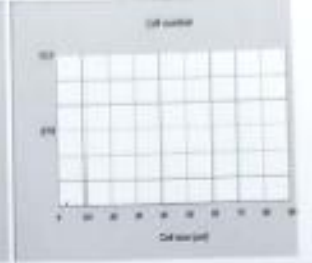
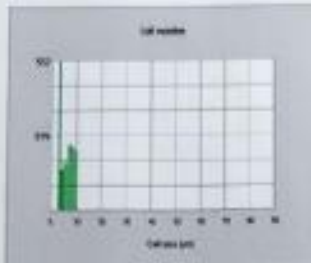
2/2

Cell size histogram expressed by cell number

Total cells _____

Live cells _____

Dead cells _____

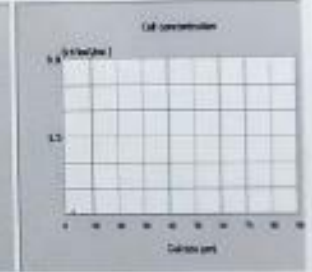
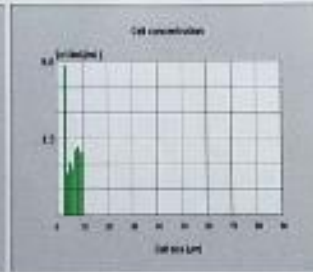
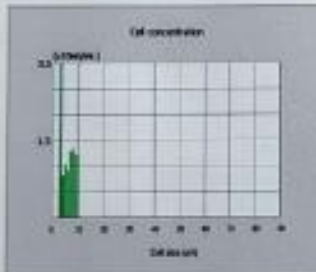


Cell size histogram expressed by cell concentration

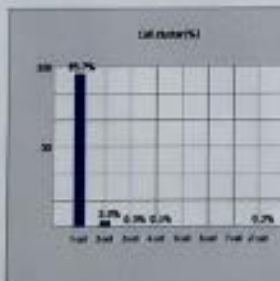
Total cells _____

Live cells _____

Dead cells _____



Cell cluster graph



Cell Count Report

1/2

File name

LAB_REP_ANIM_ESPOCH_FCP_1_3

Date

16 Jun., 2021, 12:50

Cell count results

Total cell concentration: 6.89×10^6 cells/mL

Live cell concentration: 6.88×10^6 cells/mL

Dead cell concentration: 1.60×10^4 cells/mL

Viability: 99.8 %

Average cell size: 6.2 μ m

Total cell number: 1290

Live cell number: 1287

Dead cell number: 3

Protocol

Protocol name: New Protocol1

Dilution factor: 2.50

Min. cell size: 3 μ m

Max. cell size: 90 μ m

Size gating: 3 - 90 μ m

Green fluorescence threshold: 10

Red fluorescence threshold: 5

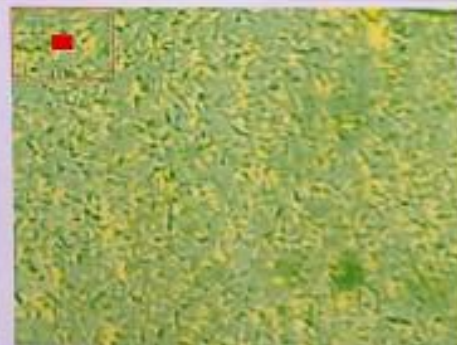
Green exposure: 18

Red exposure: 8

Green calibrated value: 0x35BD

Red calibrated value: 0x4000

Cell Image (Average intensity: 115)



[Handwritten signature]

Cell Count Report

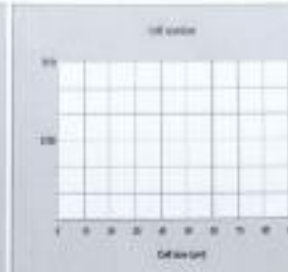
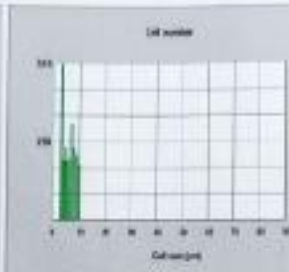
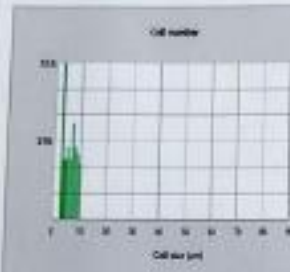
2/2

Cell size histogram expressed by cell number

Total cells

Live cells

Dead cells

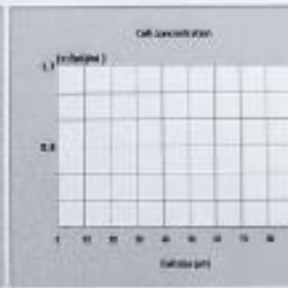
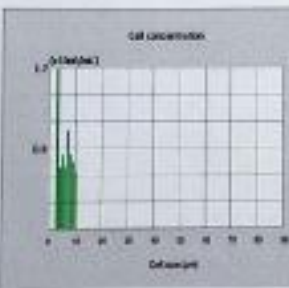
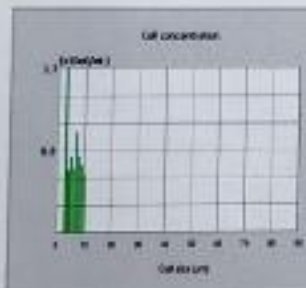


Cell size histogram expressed by cell concentration

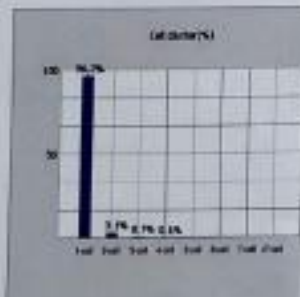
Total cells

Live cells

Dead cells



Cell cluster graph



Cell Count Report

1/2

File name

LAB_REP_ANIM_ESPOCH_FCP_1_4

Date

16 Jun., 2021, 13:03

Cell count results

Total cell concentration: 6.30×10^6 cells/mL

Live cell concentration: 6.11×10^6 cells/mL

Dead cell concentration: 1.92×10^6 cells/mL

Viability: 96.9 %

Average cell size: 4.5 μ m

Total cell number: 1179

Live cell number: 1143

Dead cell number: 36

Protocol

Protocol name: New Protocol1

Dilution factor: 2.50

Min. cell size: 3 μ m

Max. cell size: 90 μ m

Size gating: 3 ~ 90 μ m

Green fluorescence threshold: 10

Red fluorescence threshold: 5

Green exposure: 18

Red exposure: 8

Green calibrated value: 0x35BD

Red calibrated value: 0x4000

Cell image (Average intensity: 115)



Cell Count Report

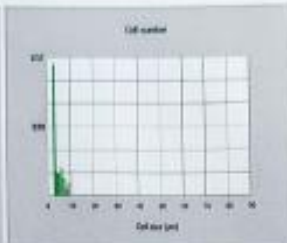
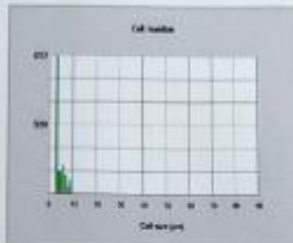
2/2

Cell size histogram expressed by cell number

Total cells

Live cells

Dead cells

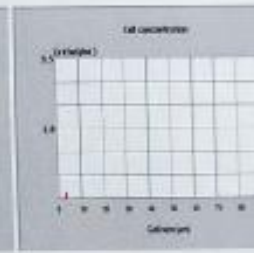
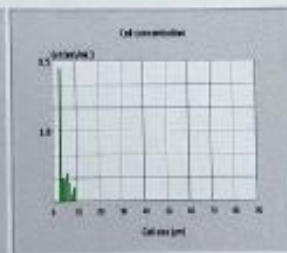


Cell size histogram expressed by cell concentration

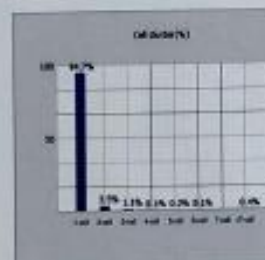
Total cells

Live cells

Dead cells



Cell cluster graph



A handwritten signature in blue ink, located to the right of the laboratory seal.

Cell Count Report

1/2

File name

LAB_REP_ANIM_ESPOCH_FCP_1_5

Date

16 Jun., 2021, 13:11

Cell count results

Total cell concentration: 3.19×10^6 cells/mL
Live cell concentration: 3.18×10^6 cells/mL
Dead cell concentration: 1.07×10^4 cells/mL
Viability: 99.7 %
Average cell size: 4.7 μ m
Total cell number: 598
Live cell number: 596
Dead cell number: 2

Protocol

Protocol name: New Protocol1
Dilution factor: 2.50
Min. cell size: 3 μ m
Max. cell size: 90 μ m
Size gating: 3 ~ 90 μ m
Green fluorescence threshold: 10
Red fluorescence threshold: 5
Green exposure: 18
Red exposure: 8
Green calibrated value: 0x35BD
Red calibrated value: 0x4000

Cell image (Average intensity: 114)



Cell Count Report

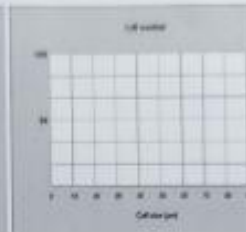
2/2

Cell size histogram expressed by cell number

Total cells

Live cells

Dead cells

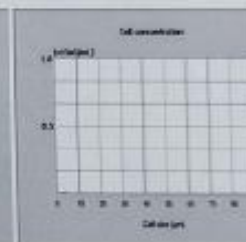
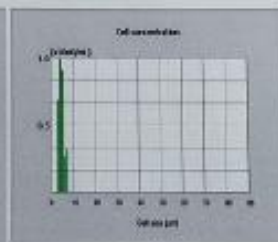
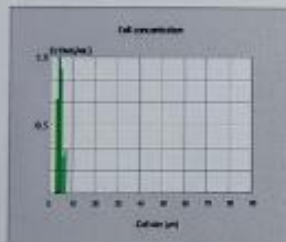


Cell size histogram expressed by cell concentration

Total cells

Live cells

Dead cells



Cell cluster graph



Cell Count Report

1/2

File name

LAB_REP_ANIM_ESPOCH_FCP_2_1

Date

16 Jun., 2021, 13:17

Cell count results

Total cell concentration: 2.09×10^7 cells/mL
Live cell concentration: 2.03×10^7 cells/mL
Dead cell concentration: 5.45×10^4 cells/mL
Viability: 97.4 %
Average cell size: 7.4 μ m
Total cell number: 3910
Live cell number: 3808
Dead cell number: 102

Protocol

Protocol name: New Protocol1
Dilution factor: 2.50
Min. cell size: 3 μ m
Max. cell size: 90 μ m
Size gating: 3 - 90 μ m
Green fluorescence threshold: 10
Red fluorescence threshold: 5
Green exposure: 16
Red exposure: 8
Green calibrated value: 0x35BD
Red calibrated value: 0x4000

Cell Image (Average intensity: 106)



Cell Count Report

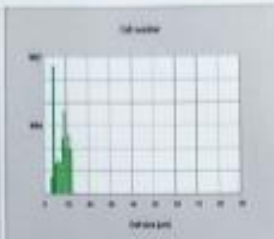
2/2

Cell size histogram expressed by cell number

Total cells

Live cells

Dead cells

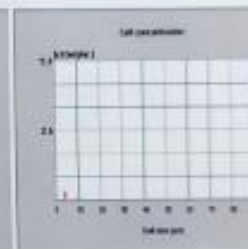
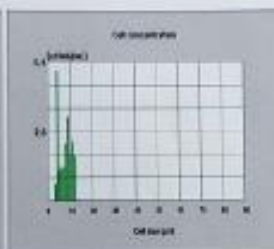
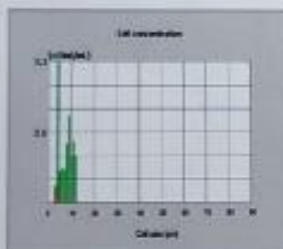


Cell size histogram expressed by cell concentration

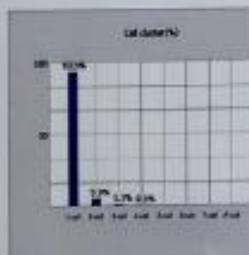
Total cells

Live cells

Dead cells



Cell cluster graph



[Handwritten signature]

Cell Count Report

1/2

File name

LAB_REP_ANIM_ESPOCH_FCP_2_2

Date

16 Jun., 2021, 13:26

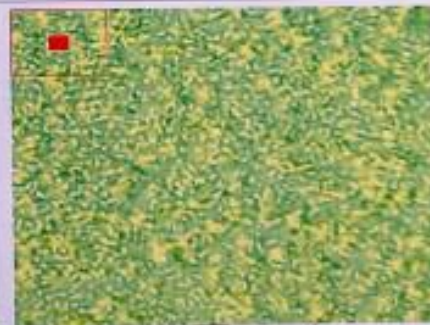
Cell count results

Total cell concentration: 8.28×10^7 cells/mL
Live cell concentration: 8.21×10^6 cells/mL
Dead cell concentration: 7.48×10^4 cells/mL
Viability: 99.1 %
Average cell size: 5.6 μ m
Total cell number: 1550
Live cell number: 1536
Dead cell number: 14

Protocol

Protocol name: New Protocol1
Dilution factor: 2.50
Min. cell size: 3 μ m
Max. cell size: 90 μ m
Size gating: 3 ~ 90 μ m
Green fluorescence threshold: 10
Red fluorescence threshold: 5
Green exposure: 18
Red exposure: 7
Green calibrated value: 0x35BD
Red calibrated value: 0x4000

Cell image (Average intensity: 109)



Cell Count Report

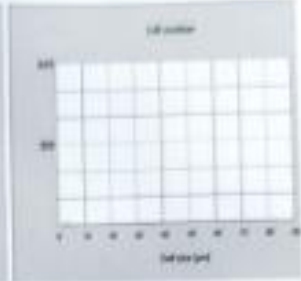
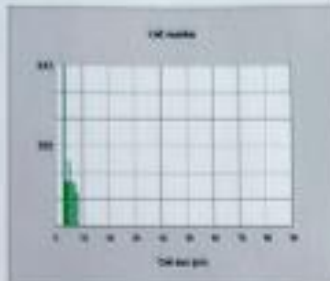
2/2

Cell size histogram expressed by cell number

Total cells

Live cells

Dead cells

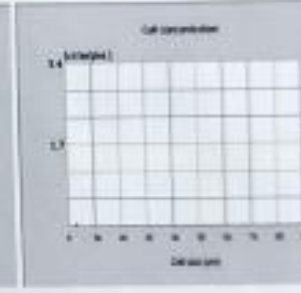
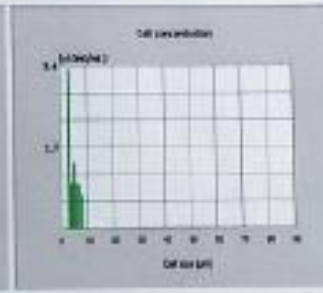
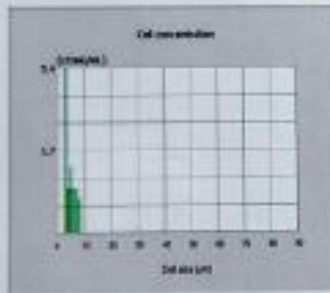


Cell size histogram expressed by cell concentration

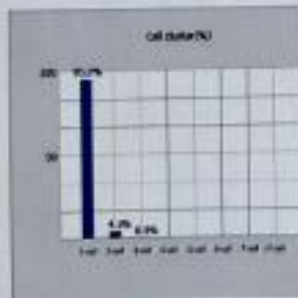
Total cells

Live cells

Dead cells



Cell cluster graph



Handwritten signature or initials.

Cell Count Report

1/2

File name

LAB_REP_ANIM_ESPOCH_FCP_2_3

Date

16 Jun., 2021, 13:40

Cell count results

Total cell concentration: 6.59×10^6 cells/mL

Live cell concentration: 6.43×10^6 cells/mL

Dead cell concentration: 1.66×10^6 cells/mL

Viability: 97.5 %

Average cell size: 6.4 μ m

Total cell number: 1234

Live cell number: 1203

Dead cell number: 31

Protocol

Protocol name: New Protocol1

Dilution factor: 2.50

Min. cell size: 3 μ m

Max. cell size: 90 μ m

Size gating: 3 ~ 90 μ m

Green fluorescence threshold: 10

Red fluorescence threshold: 5

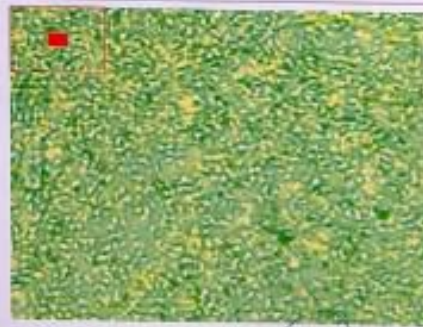
Green exposure: 18

Red exposure: 6

Green calibrated value: 0x35BD

Red calibrated value: 0x4000

Cell image (Average intensity: 109)



Cell Count Report

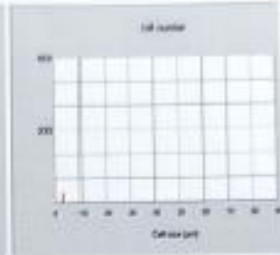
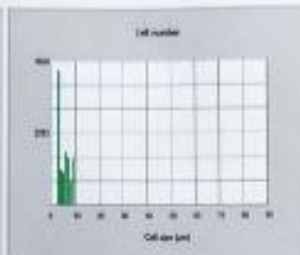
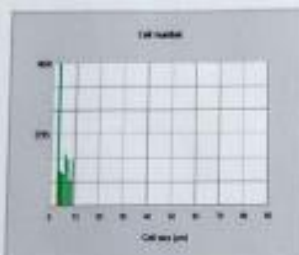
2/2

Cell size histogram expressed by cell number

Total cells

Live cells

Dead cells

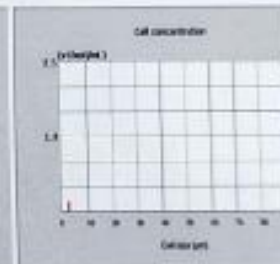
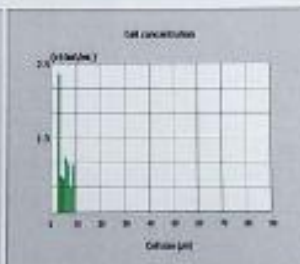
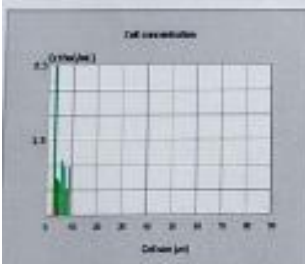


Cell size histogram expressed by cell concentration

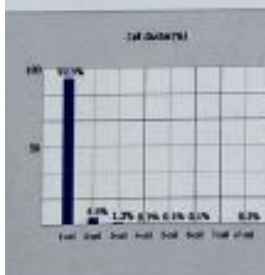
Total cells

Live cells

Dead cells



Cell cluster graph



Cell Count Report

1/2

File name

LAB_REP_ANIM_ESPOCH_FCP_2_4

Date

18 Jun., 2021, 13:49

Cell count results

Total cell concentration: 1.69×10^7 cells/mL
Live cell concentration: 1.54×10^7 cells/mL
Dead cell concentration: 1.50×10^6 cells/mL
Viability: 91.1 %
Average cell size: 6.3 μ m
Total cell number: 3156
Live cell number: 2875
Dead cell number: 281

Protocol

Protocol name: New Protocol1
Dilution factor: 2.50
Min. cell size: 3 μ m
Max. cell size: 90 μ m
Size gating: 3 - 90 μ m
Green fluorescence threshold: 10
Red fluorescence threshold: 5
Green exposure: 18
Red exposure: 11
Green calibrated value: 0x35BD
Red calibrated value: 0x4000

Cell image (Average intensity: 109)



Cell Count Report

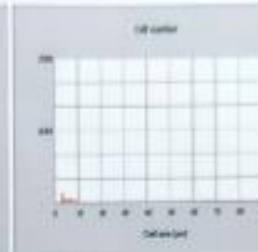
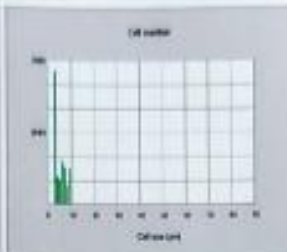
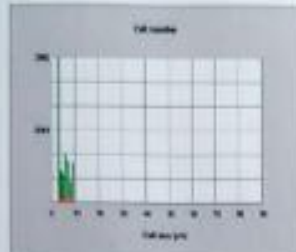
2/2

Cell size histogram expressed by cell number

Total cells

Live cells

Dead cells

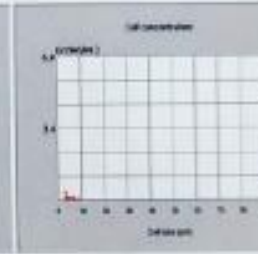
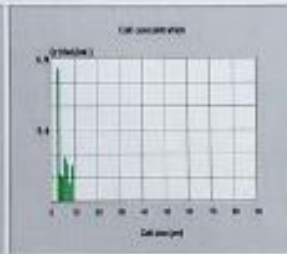


Cell size histogram expressed by cell concentration

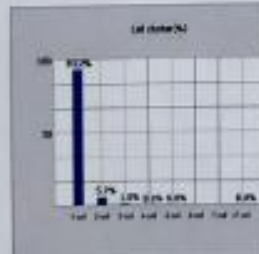
Total cells

Live cells

Dead cells



Cell cluster graph



Cell Count Report

1/2

File name

LAB_REP_ANIM_ESPOCH_FCP_2_5

Date

16 Jun., 2021, 13:57

Cell count results

Total cell concentration: 1.55×10^7 cells/mL

Live cell concentration: 1.35×10^7 cells/mL

Dead cell concentration: 2.03×10^6 cells/mL

Viability: 86.9 %

Average cell size: 7.5 μ m

Total cell number: 2905

Live cell number: 2525

Dead cell number: 380

Protocol

Protocol name: New Protocol1

Dilution factor: 2.50

Min. cell size: 3 μ m

Max. cell size: 90 μ m

Size gating: 3 ~ 90 μ m

Green fluorescence threshold: 10

Red fluorescence threshold: 5

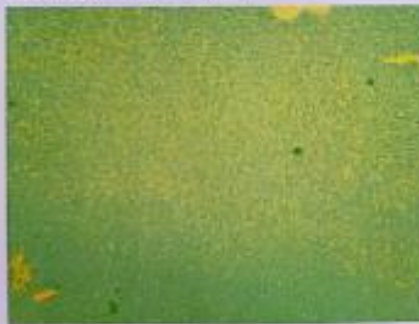
Green exposure: 18

Red exposure: 11

Green calibrated value: 0x35BD

Red calibrated value: 0x4000

Cell image (Average intensity: 114)



Cell Count Report

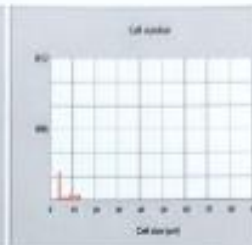
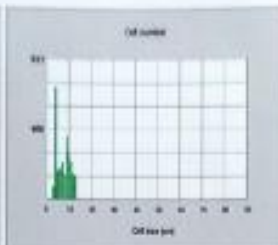
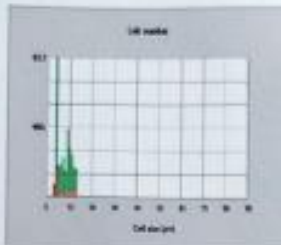
2/2

Cell size histogram expressed by cell number

Total cells

Live cells

Dead cells

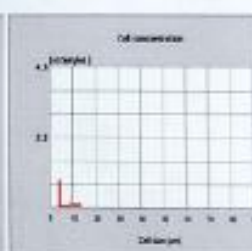
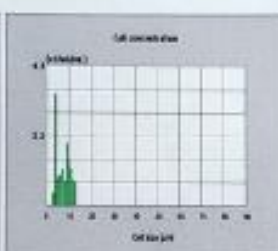
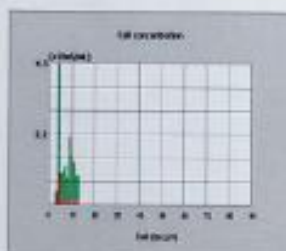


Cell size histogram expressed by cell concentration

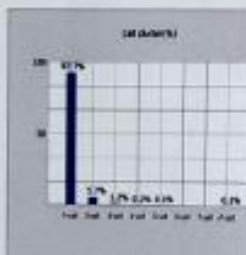
Total cells

Live cells

Dead cells



Cell cluster graph



SN: LUF-14-00771
SW version: 3.0.1

logos
www.logos.com



esPOCH

**Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje**

**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL**

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 22 / 02 / 2023

INFORMACIÓN DEL AUTOR
Nombres – Apellidos: DIEGO PAÚL QUILAMBAQUIPRADO
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: CIENCIAS PECUARIAS
Carrera: ZOOTECNIA
Título a optar: INGENIERO ZOOTECNISTA
f. responsable: Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz


Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz



0326-DBRA-UTP-2023