

Revista Electrónica Nova Scientia

Calidad seminal en ovinos pelibuey con
inclusión de *Hibiscus rosa-sinensis* en la dieta
Semen quality in Pelibuey Rams supplemented
with *Hibiscus rosa-sinensis*

**José Maza Gamboa, Luis Fernando Navarrete Sierra,
Alfonso Aguiar Loría, Roberto Zamora Bustillos,
Héctor Magaña Sevilla**

Instituto Tecnológico de Conkal, Yucatán

México

Héctor Magaña Sevilla. E-mail: hectorms68@hotmail.com

Resumen

Introducción: la alimentación de los ovinos en el trópico representa del 48 a 90 % de los costos de producción, además, el uso de granos hace dependientes a los ovinocultores del mercado internacional. Ganancias de peso moderadas se han obtenido con follaje de plantas arbustivas, sin embargo, algunas plantas como el Tulipán (*Hibiscus rosa-sinensis*) presentan compuestos que pueden actuar como fito-estrógenos, lo que puede comprometer el uso potencial en la alimentación de sementales ovinos pelibuey.

Método: doce sementales ovinos Pelibuey, de 24 ± 3 meses de edad, con un peso de 44 ± 5 kg y una condición corporal de 2.3 ± 0.3 en una escala de 1 a 5 fueron asignados a 2 tratamientos ($n=6$) durante 45 días. En dietas con base en pasto de corte (*Pennisetum purpureum* x *P. Typhoides* var. *CT-115*), para el tratamiento 1 (T1), se utilizó alimento comercial (500 g d^{-1} por ovino) con 16% de PC; y para el tratamiento 2 (T2), 20% de Tulipán (451 g MS/ kg MV , $\sim 1.6 \text{ kg d}^{-1}$ por ovino). Al finalizar la prueba se evaluó la calidad seminal, las variables de respuesta fueron: volumen del eyaculado (Vol, ml) y a través del Análisis de Semen Asistido por Computadora (CASA) la concentración espermática (CE, Millones por ml) y ocho parámetros de motilidad individual: velocidad curvilínea (VCL, μ/s), velocidad rectilínea (VSL, μ/s), velocidad promedio (VAP, μ/s), índice de linealidad (LIN, %), índice de rectitud (STR, %), índice de oscilación (WOB, %), amplitud media del desplazamiento lateral de la cabeza (ALH, μ) y frecuencia de batido de cola (BCF, Hz). Para determinar las diferencias entre las medias para tratamientos para Vol y CE, VCL, VSL y VAP se utilizó una t de Student; para los parámetros de motilidad individual se realizó una reducción de factores y una clasificación en dos fases de los índices obtenidos para caracterizar las subpoblaciones espermáticas por motilidad. Los análisis fueron realizados con el software SPSS 15.0 para Windows

Resultados: no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$, T1 vs T2, Media \pm DE) para volumen del eyaculado (0.79 ± 0.31 vs 0.81 ± 0.32 ml), o Concentración Espermática/ml (4051 ± 729.5 vs 4860 ± 598.6 millones/ml). Para motilidad espermática se encontraron diferencias ($P < 0.01$) en VCL (90.18 ± 39.16 vs 131.26 ± 63.16 μ/s), VSL (52.94 ± 36.72 vs 71.64 ± 54.44 μ/s), VAP (70.42 ± 36.23 vs 101.41 ± 59.87 μ/s), LIN (55.14 ± 27.02 vs 50.88 ± 26.64 %), STR (69.16 ± 24.93 vs 65.68 ± 24.52 %), WOB (75.94 ± 16.81 vs 73.47 ± 18.94 %), ALH (2.99 ± 1.26 vs 3.96 ± 1.74 μ) y BCF (7.33 ± 3.12 vs 7.71 ± 3.25 Hz). La reducción de factores llevó a

dos índices, las subpoblaciones espermáticas por motilidad derivadas de éstos tuvieron mayores valores en los animales alimentados con *H. rosa-sinensis*.

Conclusión: La alimentación de sementales ovinos Pelibuey, con *H. rosa-sinensis* no afecta el volumen o concentración espermática del eyaculado, pero si presenta índices mayores de motilidad individual (Velocidad promedio, Velocidad rectilínea y Velocidad curvilínea). El análisis de subpoblaciones evidencia las diferencias en motilidad individual entre tratamientos presentando diferentes estructuras de subpoblaciones según el tratamiento. El *H. rosa-sinensis* es una alternativa en la alimentación de sementales ovinos Pelibuey en los trópicos, ya que no afecta la calidad seminal.

Palabras clave: *Hibiscus rosa-sinensis*, concentración espermática, motilidad espermática, subpoblaciones espermáticas, análisis de semen asistido por computadora

Recepción: 07-11-2014

Aceptación: 11-07-2015

Abstract

Introduction: feeding for sheep production in the tropics accounts from 48 to 90% of total production cost; additionally, the use of grains also makes producers dependent on the international market. Moderate weight gains in rams could be obtained with foliage from tropical trees; however, some plants such as *Hibiscus Rosa-sinensis* have compounds that could act as phytoestrogens, which could compromise its potential use as animal feed.

Method: twelve Pelibuey rams, aged 24±3 months old, 45±6 kg live weight and a body condition score of 2.3±0.3 in a scale from 1 to 5, were assigned to one of two treatments for 45 days. T1 (n = 12), commercial feed (500 g d⁻¹ by sheep) with 16% CP, and T2 (n = 12), 20% of *H.rosa-sinensis* (451 g DM kg MV ~ 1.6 kg d⁻¹ per animal). Both treatments were supplemented with (*Pennisetum purpureum* x *P. Typhoides* var. CT-115) grass. Parameters of semen quality were evaluated: ejaculate volume (Vol, mL) and concentration (EC, millions per mL) and eight individual motility parameters were used: curvilinear speed (VCL, μ/s), straight line velocity

(VSL, μ/s), mean velocity (VAP, μ/s), linearity index (LIN, %), straightness index (STR, %), oscillation index (WOB, %), mean amplitude of lateral head displacement (ALH, μ) and beat frequency to tail (BCF, Hz). Student's t test was used to determine differences between treatments for VOL and CE and VCL, VSL and VAP. A factor reduction, followed by a two-step clustering procedure of individual motility parameters allowed determining the structure of subpopulations by sperm motility. Analyses were performed using SPSS 15.0 software for Windows.

Results: no statistical differences ($P>0.05$, T1 vs T2, Mean \pm SD) were found in ejaculate volume (0.79 ± 0.31 vs 0.81 ± 0.32 ml), Sperm concentration / ml (4051 ± 729.5 vs 4860 ± 598.6 million/ml). For individual sperm motility, we found differences ($P<0.01$) for VCL (90.18 ± 39.16 vs 131.26 ± 63.16 μ/s), VSL (52.94 ± 36.72 vs 71.64 ± 54.44 μ/s), VAP (70.42 ± 36.23 vs 101.41 ± 59.87 μ/s), LIN (55.14 ± 27.02 vs 50.88 ± 26.64 %), STR (69.16 ± 24.93 vs 65.68 ± 24.52 %), WOB (75.94 ± 16.81 vs 73.47 ± 18.94 %), ALH (2.99 ± 1.26 vs 3.96 ± 1.74 μ) and BCF (7.33 ± 3.12 vs 7.71 ± 3.25 Hz). The obtained subpopulations by two step procedure, indicate that the highest motility-derived indexes occur in animals fed with *H. rosa-sinensis*.

Conclusion: inclusion of *H. rosa-sinensis* in feed for Pelibuey rams, did not alter the semen volume or concentration, but individual motility parameters (VCL, VSL and VAP) are different. The analysis of subpopulations highlighted differences in individual motility between treatments, thus showing the structure of motility in the ejaculated. Since no deleterious effect was observed in this trial, *H. rosa-sinensis* could be considered as an alternative to feed Pelibuey rams in the tropics.

Keywords: *Hibiscus rosa-sinensis*, sperm concentration, sperm motility, sperm subpopulations, CASA

Introducción

El análisis básico de semen incluye la determinación del volumen y concentración del eyaculado y motilidad espermática: masal o individual (Núñez *et al.*, 2006). La alimentación afecta estos parámetros (Graaf *et al.*, 2007) y la rentabilidad de los ovinocultores, ya los costos de alimentación varían según los costos de los insumos, la conversión alimenticia y la ganancia diaria de peso (Albright *et al.*, 1994). González *et al.*, (2013) establecen de 48 %, a 90% los costos de producción ovina. El uso de alternativas forrajeras puede modificar el consumo de insumos mas caros y así disminuir este costo.

El *Hibiscus rosa-sinensis* es una arbustiva consumida por vacunos, ovinos y caprinos, capaz de sustituir al concentrado comercial en dietas de ovinos de pelo en crecimiento con un nivel de inclusión de 1% del peso vivo (Espinosa *et al.*, 2006), resultado de la combinación de nutrientes, digestibilidad y preferencia de los ovinos hacia este forraje. Ruiz *et al.*, (2006) reportaron la mejor ganancia de peso con consumos de 40 a 60% de *H. rosa-sinensis* en la dieta. Sin embargo, se ha reportado efectos anti-espermáticos y anti-androgénicos (Unny *et al.*, 2003) que podrían condicionar el uso de este forraje en machos reproductores. Dado que la literatura donde se estudió el consumo de *H. rosa-sinensis* con los parámetros de calidad seminal en ovinos es escasa, el objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de la inclusión del follaje del *H. rosa-sinensis* en la dieta, en los parámetros de calidad seminal en ovinos de pelo en el trópico.

Método

El presente trabajo se realizó en Yucatán, México, en las coordenadas 21°04'30" N, 89°30'19" O, con un clima AW0, el más seco de los climas cálidos húmedos tropicales, con lluvias en verano. Doce sementales ovinos Pelibuey, con experiencia en colección de semen con vagina artificial, fueron utilizados. La edad fue de 24±5 meses, con un peso de 42.04±5.24 kg, y condición corporal de 2.3±0.3 (escala 1-5, según Rusell, 1969). Con fines de adaptación, los animales fueron divididos de manera aleatoria en dos grupos (n=6), realizando una evaluación control de su calidad seminal. Posteriormente fueron asignados a dos tratamientos, en un diseño experimental completamente al azar con seis repeticiones: T1 , los animales recibieron una dieta con base en alimento comercial con 16 % de PC 500 g d⁻¹ ovino⁻¹; los animales del tratamiento 2: T2 (n=12), recibieron una dieta con base en 20% de Tulipán (225.5 g MS/kg MV, ~1.6 kg d⁻¹

animal⁻¹). Ambas dietas complementadas con pasto de corte (*Pennisetum purpureum* x *P. Typhoides* var. CT-115). Las dietas fueron isoprotéicas e isoenergéticas (~ 98 g de PC y 10 MJ), según el modelo AFRC (1993) se calculó una ganancia de peso (~ 40-60 g d⁻¹) con el fin de asegurar que la alimentación no fuera limitante.

Al final del periodo del tratamiento (45 d) se eyacularon a los sementales con el método de vagina artificial y se obtuvo el volumen del eyaculado directamente del tubo colector. Se evaluó la Motilidad masal del 1 al 5, según Guerrero *et al.* (2009), como parte de un procedimiento control. Se realizó un Análisis de Semen Asistido por Computadora (CASA) obteniendo los parámetros: concentración espermática (CE/ml) en una dilución 1:1000 de semen fresco en Glutaraldehído al 2% en una cámara Neübauer; y las variables de motilidad individual (MI): velocidad curvilínea (VCL μ /s), velocidad rectilínea (VSL μ /s), velocidad promedio (VAP, μ /s), índice de linealidad (LIN, %), índice de rectitud (STR, %), índice de oscilación (WOB, %), amplitud media del desplazamiento lateral de la cabeza (ALH, μ) y frecuencia de batido de la cola (BCF, Hz); con una dilución de semen fresco en triladyl, agua tridestilada y yema de huevo en una cámara Makler utilizando de 10 a 20 x 10⁶ espermatozoides por mL (Álvarez *et al.*, 2012). El volumen del eyaculado en ml, la concentración espermática por mililitro y por eyaculado, la velocidad curvilínea (VCL), velocidad rectilínea (VSL) y la velocidad promedio (VAP) para T1 y T2 se analizaron con la prueba t de Student. Para determinar las subpoblaciones espermáticas, las ocho variables de motilidad obtenidas mediante el CASA de cada uno de los 20,223 espermatozoides obtenidos, fueron analizados como describe Núñez Martínez *et al.*, (2006). Brevemente, los datos fueron sometidos a una reducción de factores, con el método VARIMAX, y los índices se aplicaron a los valores de los parámetros de los espermatozoides individuales, y los valores obtenidos por la aplicación de los índices fueron clasificados en un proceso en dos fases, utilizando el tratamiento como variable categórica. Los datos fueron analizados con el software SPSS 15.0.1 (SPSS for Windows, Version 15.0.1. Chicago, SPSS Inc.).

Resultados

No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$, T1 vs T2 Media \pm DE) en volumen para volumen de eyaculado (0.73 ± 0.13 vs 0.87 ± 0.12 ml), concentración espermática /ml (4051 ± 729.5 vs 4860 ± 598.6 millones/ml). En los índices de velocidad y movimiento se presentaron diferencias estadísticas para los ocho parámetros de motilidad (Cuadro 1) demostrando mayor motilidad espermática en los animales ($P < 0.01$) que recibieron *Hibiscus rosa-sinensis*.

Cuadro 1. Parámetros de motilidad individual de espermatozoides de ovinos pelibuey alimentados con dietas isoprotéicas e isoenergéticas conteniendo tulipán (*Hibiscus rosa-sinensis*) o concentrado (control).

		VCL (μ /s)	VSL (μ /s)	VAP (μ /s)	LIN (%)	STR (%)	WOB (%)	ALH (μ)	BCF (Hz)
H. rosa-sinensis n=7836	Media	131.26	71.64	101.41	50.88	65.68	73.47	3.96	7.71
	DE	63.16	54.44	59.87	26.64	24.52	17.94	1.74	3.25
Control n=12387	Media	90.18	52.94	70.42	55.14	69.16	75.94	2.99	7.33
	DE	39.16	36.72	36.23	27.02	24.93	16.81	1.26	3.12
	Sig	**	**	**	**	**	**	**	**

VCL = velocidad curvilínea, VSL = velocidad rectilínea, VAP = velocidad promedio, LIN = índice de linealidad, STR = índice de rectitud, WOB = índice de oscilación, ALH = amplitud media del desplazamiento lateral de la cabeza, y BCF = frecuencia de batido de la cola.

** $P < 0.01$.

Cuadro 2. Índices de motilidad individual (en unidades arbitrarias, (Nuñez Martínez *et al.*, 2006)) (Media+Desviación Estándar) para las subpoblaciones de espermatozoides de ovinos pelibuey alimentados con dietas isoprotéicas e isoenergéticas conteniendo tulipán (*Hibiscus rosa-sinensis*) o concentrado (control).

Índices de motilidad individual

	Índice 1	Índice 2
Subpoblaciones	Media+ DE	Media+ DE
1	0.24+ 0.17	57.63 + 43.79
2	0.18 + 0.17	36.9 + 31.96
3	0.58 + 0.24	154.53 + 47.91
4	0.75 + 0.14	103.62 + 31.98
Combinados	0.47 + 0.29	93.03 + 58.75

Con los índices obtenidos, Se definieron cuatro subpoblaciones espermáticas. Las combinaciones de mayores índices, pertenecieron a las poblaciones 4 y 3, y las menores fueron la 1 y 2, respectivamente. Es el resultado del proceso de formación del número mínimo de nodos, a lo que llega el procedimiento Two Step Clustering, agrupando entonces a los registros mas próximos entre sí. Las subpoblaciones espermáticas mostraron un mayor porcentaje de motilidad con el tratamiento de tulipán (Cuadro 3). Las subpoblaciones presentan una estructura diferente, ya que para el tratamiento con *H. rosa-sinensis* se encontraron la 2 y la 3, y en el control la 1 y la 4. Sin embargo, en porcentaje, mas espermatozoides se encontraron en una de las poblaciones de mayores índices de motilidad en el tratamiento de *H. rosa-sinensis* (Subpoblación 3, 66.1%) que en el control (subpoblación 4, 47.2%).

Cuadro 3. Subpoblaciones espermáticas de ovinos pelibuey alimentados con dietas isoprotéicas e isoenergéticas en animales alimentados con *Hibiscus rosa-sinensis* o alimento concentrado (control).

Subpoblaciones	Tratamientos			
	<i>H. rosa-sinensis</i>		Control	
	Frecuencia	%	Frecuencia	%
1	0	0	6,536	52.8
2	2,657	33.9	0	0
3	5,179	66.1	0	0
4	0	0	5,851	47.2
Combinados	7,836	100	12,387	100

Ambas pruebas estadísticas indican diferencias entre los tratamientos. La t de Student indica que los parámetros de motilidad individual son mayores en los animales que recibieron follaje de *H. rosa-sinensis*, y los datos de los espermatozoides, al agruparse por índices obtenidos de los parámetros de motilidad, indican que cada uno de los tratamientos tiene subpoblaciones diferentes, y también presentan proporciones diferentes, ya que mientras en el tratamiento de *H. rosa-sinensis* la población 3 (mayores índices) tiene una relación 1.95:1 con la población 2 (menores índices), en el control, la relación entre las dos subpoblaciones (4 y 1) es de 0.9:1.

Discusión

Los resultados para volumen y concentración espermática obtenidos indican que no hay efecto del consumo de forraje de *Hibiscus rosa-sinensis*, en las condiciones de este experimento. Los efectos en la fertilidad del *Hibiscus rosa-sinensis* han sido relacionados con la disminución de la espermatogénesis y la función endocrina del testículo, así como de los pesos del testículo y glándulas sexuales accesorias (Vasudeva y Sharma, 2008). García Contreras *et al.*, (2009) encontraron que la función reproductora en conejas alimentadas con *H. rosa-sinensis* fué comparable a la obtenida con balanceado comercial, mientras que la morfología del tracto reproductor del conejo no se ve afectada con niveles de inclusión de hasta el 60% (Ramos *et al.*, 2011).

En otras pruebas, se ha reportado disminución del volumen eyaculado y menores conteos de espermatozoides en epidídimo de ratas con dietas altas en fitoestrógenos (Assinder *et al.*, 2007). Esto ha sido relacionado con un aumento de la apoptosis en células germinales, lo que lleva a una reducción significativa del número de elementos espermatogénicos como espermatogonias, espermatoцитos, espermátides y espermatozoides de la cola del epidídimo (Reddy *et al.*, 1997). En el presente trabajo no se observó una diferencia en el volumen de eyaculado o concentración espermática, por lo que se pueden descartar estos procesos con el consumo de *H. rosa-sinensis*.

Los estudios existentes de efectos del *H. rosa-sinensis* son de extractos acuosos, de benceno, cloroformo o etanol, utilizando la flor, originando concentraciones altas, difíciles de alcanzar con el uso del follaje en la alimentación.

En la alimentación de rumiantes con *H. rosa-sinensis*, no ha afectado la función reproductora en machos (Aguilar-Urquiza *et al.*, 2013). Los fitoestrógenos son reducidos en el rumen a Daidzein y finalmente a Equol, sufriendo una considerable degradación. Sin embargo, niveles altos (20 mmol/L) pueden ser alcanzados en el plasma de las ovejas (Retana-Márquez *et al.*, 2011).

Khokute (1977) reporta una reducción de fructosa prostática, fosfatasa alcalina en la próstata, y de ácido cítrico en vesículas seminales y se relacionan negativamente con la motilidad, lo cual es congruente con el aumento de motilidad encontrado en este estudio.

En otros estudios se demostró el efecto del consumo de plantas del género *Hibiscus* en la calidad seminal en otros mamíferos. Aunque Orisakwe *et al.*, (2004), al evaluar el efecto del extracto de *H. sabdariffa* encontraron una disminución significativa ($P < 0.05$) del recuento espermático en el epidídimo, Amin y Hamza (2006), señalan una disminución de anomalías inducida por el

cisplatino en el espermatozoides y aumento de la movilidad ($P < 0.05$). En ratas con Diabetes + *H. sabdariffa*, concentraciones significativamente más altas ($P < 0.05$) y mayor motilidad del espermatozoides ($P < 0.001$) se encontró en comparación con el grupo de ratas diabéticas (Idris *et al.*, 2012). Victor *et al.* (2014) evaluaron la eficacia de *Hibiscus sabdariffa* y *Telfairia occidentalis* en la atenuación del estrés oxidativo en ratas adultas, reportando un incremento ($P < 0.05$) en la concentración y motilidad espermática. La respuesta al Hibiscus puede ser dosis-dependiente, en concentraciones bajas muestran efectos favorables en la calidad seminal en ovinos pelibuey, como reportan Erasmus *et al.*, (2012), cuando evaluaron los efectos del extracto de *Eurycoma longifolia* en las diversas funciones del espermatozoides humano.

Especies que también presentan Coumarinas, como *Mucuna pruriens* Linn, disminuyen los efectos negativos de la edad en conteos de espermatozoides y aumentan la motilidad (Suresh *et al.*, 2010) como en el presente trabajo.

Los fitoestrógenos de los diferentes grupos son estructuralmente similares a los estrógenos naturales, y por el anillo fenólico y la distancia entre los grupos hidroxilo pueden ligarse a los receptores de estrógenos, por lo que los resultados del presente trabajo se comparan con otras especies vegetales que contienen fitoestrógenos, de manera similar a lo presentado por Dinithi *et al.*, (2015). En cabritos alimentados con *Trifolium pratense* en la dieta, Gunnarsson *et al.* (2009), encontraron que los fitoestrógenos pueden estimular la síntesis de testosterona a la pubertad, precedido de un incremento de la hormona Triiodotironina (T3). En ratas machos expuestas (3 días) a una dieta con genisteína, daidzeína, y gliciteína, se reduce la fertilidad, al incrementarse la lipoperoxidación de los espermatozoides en el epidídimo (Glover y Assinder, 2006). Dada la relación entre ésta, y la pérdida de motilidad espermática (utilizada como medida de lipoperoxidación), el efecto del consumo de *H. rosa-sinensis* en ovinos pelibuey es contrario al de los fitoestrógenos mencionados.

A diferencia de lo encontrado en el presente trabajo, Henkel *et al.* (2012) indican que el extracto de *Typha capensis* disminuye la motilidad espermática ($P < 0.0001$) y Ahangarpour *et al.* (2014) al evaluar los efectos de los extractos acuosos e hidro-alcohólicos de semilla de *Lactuca sativa* en el nivel de testosterona y la espermatogénesis en ratas adultas señalan una decadencia ($P < 0.05$) en la viabilidad (directamente relacionada con la movilidad) y el conteo espermático. Lembe *et al.*, (2014) evaluaron los efectos de la combinación de *Lepidium meyenii* y *Fagara tessmannii*

observaron que en dosis altas se observa un aumento significativo ($P < 0.05$) del conteo espermático

El efecto observado del *H. rosasinensis* en la motilidad individual y las subpoblaciones espermáticas podría estar mediado a través de cambios en la concentración de calcio, que es inversamente proporcional al movimiento. Los iones de bicarbonato activan la cAMP, lo que ha llevado a la protein Kinase C a ser uno de los reguladores del movimiento espermático (Mortimer, 1997), y cambios en la composición o el pH del plasma seminal pueden ser la causa de las diferencias en motilidad individual.

Robayo *et al.*, (2008) indican que VCL y VAP se correlacionan de manera positiva con la habilidad de migrar en el moco cervical de la oveja, y VAP con la eficiencia de ésta migración, pero encontraron un efecto negativo entre el desplazamiento lateral de la cabeza y la migración. En el presente estudio, los valores de VCL y VAP fueron mayores ($P < 0.001$), los espermatozoides provenientes de ovinos pelibuey alimentados con *H. rosa-sinensis*. Siendo parámetros asociados con la habilidad migratoria y la eficiencia de la misma, se puede esperar un mayor potencial de migración para los que procedan de animales alimentados con esta planta.

Los efectos nocivos del consumo de los fitoestrógenos, se han relacionado con el conteo espermático (Chavarro *et al.*, 2008). Sin embargo, machos ovinos intactos en praderas con especies ricas en fitoestrógenos no muestran evidencia de morbilidad reproductiva, mientras los machos castrados muestran desarrollo de glándulas mamarias y metaplasia de la próstata y otras glándulas accesorias (Bennetts *et al.*, 1946). Los trabajos con parámetros de motilidad obtenidos por CASA en animales alimentados con follaje de *H. rosa-sinensis* son escasos. Sharawi e Ibrahim (2014) observaron una mayor motilidad ($p < 0.01$) en semen de ratas que recibieron extractos de cloroformo o menor en extractos de etil-acetato, aplicándolos vía subcutánea por 3 días. Kumar *et al.*, (2014) Dieron 200 mg/kg peso corporal de extracto de benceno de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* encontrando una reducción significativa de la motilidad masal. Empero, una parte de los flavonoides de las hojas pueden ser reducidos en el rumen a AGV a través de la formación de intermediarios como el ácido p-hidroxi-fenilacético y ácido 3,4 dihidro fenilacético (Sharma *et al.*, 1981)

En el *H. rosa-sinensis* se encuentran flavonoides, glicosidos de flavonoides, hibiscetin, cyanidin, glucósidos de cyanidin, acetato de taraxeryl, b-sitosterol, campesterol, stigmasterol, ergosterol, y

ácidos cítrico, tartárico and oxálico, ciclopropenoides y pigmentos de antocianinas (Maganha *et al.*, 2010), lo que le confiere actividad antioxidante.

Utilizando una fuente de antioxidantes agregada al semen de toros, Sapanidou *et al.*, (2014) no encontraron cambios en los parámetros VSL, VCL o VAP como en el presente trabajo, pero encontraron una mayor proporción de espermatozoides de movimiento rápido.

Las subpoblaciones espermáticas conforman la manera correcta de estudiar un eyaculado (Nuñez Martínez *et al.*, 2006), pero analizar los datos suponiendo distribución normal, es frecuente (Hoflak *et al.*, 2007). En el presente trabajo es evidente una mayor motilidad de los animales que recibieron el *H. rosa-sinensis*. Según el análisis de subpoblaciones, las diferentes proporciones presentadas en los tratamientos, determinan las diferencias en motilidad entre tratamientos, y la mayor proporción de la población de alta motilidad (66% de la subpoblación 3, en el tratamiento de *H. rosa-sinensis*) Esta composición de las subpoblaciones explica las diferencias encontradas en la prueba paramétrica.

El enfoque de subpoblaciones puede ser aplicado para explicar de mejor manera fenómenos biológicos que afecten la motilidad. La motilidad puede ser considerada como una prueba funcional, y los sistemas CASA pueden proveer de miles de datos de los parámetros de velocidad y movimiento. Restringir esta información al análisis estadístico univariado, parámetro por parámetro, disminuye el valor de la información total y puede llevar a conclusiones erróneas (Contri *et al.*, 2012).

Conclusiones

Los ovinos pelibuey alimentados con inclusión de 20% de *Hibiscus rosa-sinensis* en la dieta presentaron un volumen del eyaculado y una concentración espermática similar a los ovinos alimentados con concentrado comercial, y difieren en los parámetros de motilidad individual y composición de las subpoblaciones espermáticas: ovinos pelibuey alimentados con *Hibiscus rosa-sinensis* muestran tener mejor motilidad.

El *H. rosa-sinensis* es una opción para incluir en la dieta de sementales ovinos de pelo en el trópico.

Referencias

AFRC. (1993). Energy and protein requirements for ruminants. Compiled by G. Alderman and B.R.Cottrill. CAB International. Wallingford, UK.

Aguilar-Urquizo E., Sanginés-García J. R., Delgadillo J. A., Capetillo-Leal C. and Torres-Acosta J. F. J. (2013). The onset of puberty of pelibuey male hair sheep is not delayed by the short term consumption of *Morus alba* or *Hibiscus rosa-sinensis* foliage. *Livestock Science*, 157: 378-383.

Ahangarpour A., Oroojan A. A. and Radan M. (2014). Effect of aqueous and hydro-alcoholic extracts of lettuce (*lactuca sativa*) seed on testosterone level and spermatogenesis in NMRI mice. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 12: 65-72.

Albright M. L., Schroeder T. C., and Langemeier M. R. (1994). Determinants of cattle feeding cost-of-gain variability. *Journal of Production Agriculture*, 7: 206-210.

Álvarez M., Tamayo C.J., Martínez R.C., López U.E., Gomes A.S., Anel, L., Martínez P. P. (2012). Specificity of the extender used for freezing ram sperm depends of the spermatozoa source (ejaculate, electroejaculate or epididymis). *Animal Reproduction Science*, 132: 145-154.

Amin A. and Hamza A. (2006). Effects of roselle and ginger on cisplatin-induced reproductive toxicity in rats. *Asian Journal of Andrology*, 8: 607-612.

Assinder S., Davis R., Fenwick M. and Glover A. (2007). Adult-only exposure of male rats to a diet of high phytoestrogen content increases apoptosis of meiotic and post-meiotic germ cells. *Reproduction*, 133:11-19.

Bennetts H.W., Underwood E.J., and Shier F.L. (1946). A specific breeding problem on sheep on subterranean clover pasture in western Australia. *Aust. Vet. J.* 22:2-12.

Contri A., Zambelli D., Faustini M., Cunto M., Gloria A. and Carluccio A. (2012). Artificial neural networks for the definition of kinetic subpopulations in electroejaculated and epididymal spermatozoa in the domestic cat. *Reproduction*, 144: 339-347.

Chavarro J.E., Thot T.L., Sadio S.M. and Hauser R. (2008). Soy and isoflavone intake in relation to semen quality parameters among man from an infertility clinic. *Human reproduction*, 23: 2584-2590.

Dinithi L., Peiris C., Dhanushka M.A.T. and Jayathilake T.A. (2015). Evaluation of aqueous leaf extract of *Cardiospermum halicacabum* (L.) on fertility of male rats. *BioMed Re-search International*, 2015:6 pp.

Erasmus N., Solomon M. C., Fortuin K. A. and Henkel R. R. (2012). Effect of *Eurycoma longifolia* jack (tongkat ali) extract on human spermatozoa in vitro. *Andrologia*, 44: 308-314.

Espinosa M., Sánchez D., Peralta M., Cerrilla M. Martínez, G. and Arcos-García, J. (2006). Productive lambs performance and ruminal fermentation using cocoite (*Gliricidia sepium*), morera (*Morus alba*) and tulipan (*Hibiscus rosa-sinensis*) meal as supplement. *Revista Científica-Facultad De Ciencias Veterinarias*, 16: 249-256.

García Contreras D.R., Lara y Lara, P. E., Magaña-Sevilla H., Aguilar Urquiza, E., y Sanginés J.R. (2009). Parámetros reproductivos en conejas alimentadas con morera (*Morus alba*) ó tulipán (*hibiscus rosa-sinensis*). *Revista Verde de agroecología y desarrollo sustentable*, 4: 90-98.

Glover A. and Assinder S. J. (2006). Acute exposure of adult male rats to dietary phytoestrogens reduces fecundity and alters epididymal steroid hormone receptor expression. *Journal of Endocrinology*, 189: 565–573.

González G. R., Blardony R. K., Ramos J.A., Ramírez H. B., Sosa R. y Gaona P. M. (2013). Rentabilidad de la producción de carne de ovinos katahdin x pelibuey con tres tipos de alimentación. *Avances En Investigación Agropecuaria*, 17: 135-148.

Graaf S. P., Peake K., Maxwell W. M. C., O'Brien J. K. and Evans G., (2007). Influence of supplementing diet with Oleic and Linoleic acid on the freezing ability and sexsorting parameters of ram semen. *Livestock Science*, 110: 166-173.

Guerrero V. H., Huanca L.W., Raymundo T.F., Huerta O.S. y Ramos D.D. (2009). Uso de dilutores hipertónicos en la criopreservación de semen ovino. *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Peru (RIVEP)*, 20: 41.

Gunnarsson D., Selstam G., Ridderstrale Y., Holm L., Ekstedt E. and Madej. A. (2009). Effects of dietary phytoestrogens on plasma testosterone and triiodothyronine (T3) levels in male goat kids. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 51:51.

Henkel R., Fransman W., Hipler U., Wiegand C., Schreiber G., Menkveld R., Weitz F. and Fisher D. (2012). *Typha capensis* (rohrb.) N.E.br. (bulrush) extract scavenges free radicals, inhibits collagenase activity and affects human sperm motility and mitochondrial membrane potential in vitro: A pilot study. *Andrologia*, 44 (Suppl 1): 287-294.

Idris M., Budin S., Osman M., and Mohamed J. (2012). Protective role of *Hhibiscus sabdariffa* calyx extract against streptozotocin induced sperm damage in diabetic rats. *Excli Journal*, 11: 659-669.

Kholkute S.D. (1977): Effect of *Hibiscus rosa-sinensis* on spermatogenesis and accessory reproductive organs in rats. *Planta Med.* 31: 127–135.

Kumar D., Agrawal P.C., Mishra D.D. and Singh, V. (2014). Antifertility effect of Benzene extract of flowers of *Hibiscus rosa sinensis* L. on reproductive system in male albino rats. *Indian J. Applied & Pure Bio*, 29: 215-217.

Lembe D. M., Gasco M., Gonzáles G. F. (2014). Synergistic effect of the hydroalcoholic extract from *Lepidium meyenii* (brassicaceae) and *Fagara tessmannii* (rutaceae) on male sexual organs and hormone level in rats. *Pharmacognosy Research*, 6: 80.

Maganha E.G., Halmenschlager R., Moreira R., Pegas J.A., Ramos A.L. and Saffi, J. (2010). Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus *Hibiscus*. *Food Chemistry*, 118: 1–10.

Mortimer S.T. (1997) A critical review of the physiological importance and analysis of sperm movement in mammals. *Human Reproduction Update*, 3: 403–439

Núñez Martínez I., Moran J., Peña F. (2006). Two-step cluster procedure after principal component analysis identifies sperm subpopulations in canine ejaculates and its relation to cryoresistance. *Journal of Andrology*, 27(4): 596-603.

Orisakwe O. E., Husaini D. C. and Afonne O. J. (2004). Testicular effects of sub-chronic administration of *hibiscus sabdariffa* calyx aqueous extract in rats. *Reproductive Toxicology*, 18: 295-298.

Ramos C. M. E., Aguilar U. E., Lara P. E., Magaña M. M., Torres L. M. A. and Sanginés G, J. R. (2011). Alimentación de conejos con morera (*Morus alba*) o cayena (*Hisbicus rosa-sinensis*) y su efecto sobre el crecimiento y la morfología del tracto reproductor. *Revista Científica*, 21: 509-516.

Reddy C.M., Murthy D.R.K. and Patil S.B. (1997). Antispermato-genic and androgenic activities of various extracts of *Hibiscus rosa-sinensis* in albino mice. *Indian J Exp Biol.* 35: 1170–1174.

Retana-Márquez S., Hernández H., Flores J. A., Muñoz-Gutiérrez M., Duarte G., Vielma J., and Delgadillo J. A. (2011). Effects of phytoestrogens on mammalian reproductive physiology. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 15(S1): 129-145.

Robayo I., Montenegro V., Valdes C. and Cox J.F. (2008). CASA Assessment of Kinematic Parameters of Ram Spermatozoa and their Relationship to Migration Efficiency in Ruminant Cervical Mucus. *Reproduction in Domestic Animals*, 43: 393–399

Ruiz D.L., Lara P.E., Sierra A.C., Aguilar E., Magaña M.A. and Sanginés, J.R., (2006). Evaluación nutritiva y productiva de ovinos alimentados con heno de *Hibiscus rosa-sinensis*. *Zootecnia Tropical*. 24: 467-482.

Russel A.J.F., Doney J.M. and Gunn R.G. (1969). Subjective assessment of fat in live sheep. *J. Agr. Sci.* 72: 451-454.

Sapanidou V.G., Margaritis L., Siahos N., Arsenopoulos K., Dragatidou E., Taitzoglou L.A., Zervos L.A., Theodoridis A. and Tsantarliotou, M.P. (2014). Antioxidant effect of a polyphenol-rich grape pomace extract on motility, viability and lipid peroxidation of thawed bovine spermatozoa. *Journal of Biological Research-Thessaloniki*, 21:19.

Sharawy S. and Ibrahim N.A. (2014). The effects of *Hibiscus rosa-sinensis* flower extracts on spermatogenesis and sperm parameters of Mice. *Global Journal of Biology, Agriculture and Health Science*, 3: 32-35.

Sharma C.P., Kaushal G.P., Sareen V.K., Singh S. and Bathia I.S. (1981). The in vitro metabolism of flavonoids by whole rumen contents and its fractions. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A*, 28: 27-34.

Suresh S., Prithviraj E., Prakash S. (2010). Effect of *Mucuna pruriens* on oxidative stress mediated damage in aged rat sperm. *International Journal of Andrology*, 33: 22-32

Unny R., Chauhan A. K., Joshi Y. C., Dobhal M. P. and Gupta, R. S. (2003). A review on potentiality of medicinal plants as the source of new contraceptive principles. *Phytomedicine*, 10: 233-260.

Vasudeva N. and Sharma S. K. (2008). Biologically active compounds from the genus hibiscus. *Pharmaceutical Biology*, 46: 145-153.

Victor I. E., Ugorji U. O., and Adeyinka A. (2014). Efficacy of *Hibiscus sabdariffa* and *Telfairia occidentalis* in the attenuation of CCl₄-mediated oxidative stress. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7: 321-326.