

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS



Variabilidad de la calidad seminal durante los meses del año en
caballos Cuarto de Milla

Por:

Pamela Rodríguez Rodríguez

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México.
Diciembre 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Variabilidad de la calidad seminal durante los meses del año en caballos

Cuarto de Milla

Por:

Pamela Rodríguez Rodríguez

TESIS

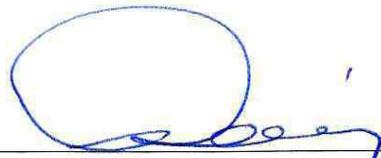
Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito
parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:



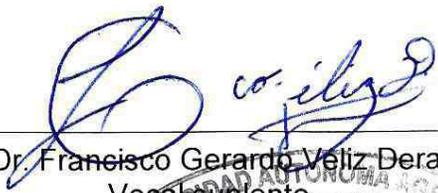
Dr. Oscar Angel García
Presidente



MVZ. Carlos Ramirez Fernandez
Vocal



MC. Edgar Díaz Rojas
Vocal (externo)



Dr. Francisco Gerardo Veliz Deras
Vocal suplente



MC. José Luis Francisco Sandoval Elias
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Diciembre 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Variabilidad de la calidad seminal durante los meses del año en caballos

Cuarto de Milla

Por:

Pamela Rodríguez Rodríguez

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Oscar Angel García
Asesor Principal



MVZ. Carlos Ramirez Fernández
Coasesor



MC. Edgar Díaz Rojas
Coasesor (externo)



MC. José Luis Francisco Sandoval Elías
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Diciembre 2023

AGRADECIMIENTOS

A mi padre,

Quién me inculcó la educación, la nobleza y los valores necesarios para enfrentar esta vida, y que me ha enseñado a ser una persona de bien y de buenos principios.

A mi asesor de tesis

Agradezco al Dr. Oscar Ángel, por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científicos, así como también por darme las herramientas para iniciar con este proyecto y por haberme tenido toda la paciencia del mundo para guiarme en todo el desarrollo de la tesis, y hacerme una que otra bromilla y así hacer más ameno el proceso de titulación.

Al MVZ Edgar Díaz

Por permitirme desde algunos años atrás acompañarlo como practicante en sus consultas con equinos, y darme la oportunidad de aprender de él y empaparme de sus conocimientos.

Por enseñarme y resolver todas mis dudas siempre, y por hacerme reír con sus chistillos malos. Y ahora, por orientarme y apoyarme en este proceso de mi formación profesional.

Al MVZ Carlos Ramírez

A quien le tengo un gran respeto y admiración, ya que, desde mi punto de vista personal y profesional, fue mi mejor docente de todas las materias durante toda la carrera. Y que desde que le conocí dije que sería un honor para mí titularme de su mano, y hoy, lo estoy logrando.

Al MVZ Alberto Chávez

A mi más grande amor.

Gracias a él aprendí la disciplina y constancia que se debe de tener cuando quieres lograr algo. Fue él quien me dio dirección al inicio de mi carrera, y en el transcurso de ella, forjó en mí nuevos y buenos hábitos, me enseñó a creer en mí, y a aconsejar siempre leer, siempre. Fue una de las personas más importantes en mi vida, a quien admiré, respeté y amé profundamente, y que aunque ya no esté más en esta vida, sé que está presente en cada paso que doy.

Al MVZ Elko Aragon

Quien ha sido mi amigo y una persona muy especial durante gran parte de mi carrera y vida, pues me ha compartido su sabiduría, consejos y principalmente ha sabido orientarme en todas las decisiones que tengo que tomar, tanto en la vida personal como en la profesional. Me ha demostrado su apoyo incondicional de una y mil formas, y me ha hecho sentir su cariño y respeto por muy lejos que estemos uno del otro. Ha sido la persona que más me ha enseñado sobre la honestidad, la responsabilidad, la humildad, fortaleza y la nobleza. Gracias Dios por ponerlo en mi camino.

Al MVZ Raúl Medina

A una de las pocas personas que siempre ha creído en mí y en mi potencial, quien ha estado para mí en todo momento que lo necesité, me ayudó a forjar mi carácter, me enseñó a manejar mis emociones y a orientarme en los momentos más importantes de mi vida, me ayudó a tomar decisiones difíciles y no tan difíciles durante mi carrera, y a nunca tener miedo en mis primeras cirugías y ni en cualquier cosa que hiciera. A quien me ha escuchado y me ha aconsejado de la manera más sincera y honesta, y, sobre todo, me ha enseñado a disfrutar cada proceso y etapa de mi vida. Agradezco a una de las personas que más admiro y respeto en esta vida.

Gracias a ti, Alfonso, siempre tendrás un lugar en mi corazón. Qué bueno que te conocí.

A toda mi familia,

Por acompañarme y brindarme su apoyo incondicional en el transcurso de mi carrera, sobre todo a mi tía Gloria quien me abrió las puertas de su hogar y me brindó un plato calentito de comida todos los días y me dio amor y ánimos para culminar este proyecto tan importante.

A mis amigos,

A Cristian Colmenares, Alejandro Palacios, Ulises Baeza, Esteban Parra, Jocelyn Ramos, que aunque nos hicimos amigos en los últimos semestres, aprendí de ustedes más que en toda la carrera, me explicaron cada cosa que no entendía, que ayudaron a estudiar para los exámenes, me motivaron a estudiar más y a ser más responsable en las clases, gracias a todos ustedes, por cada risa, cada broma y cada plática que hacía más amena la estancia en esta escuela, porque fueron los responsables de realizar un gran aporte que el día de hoy se vería reflejado en la culminación de mi paso por la universidad.

Y en especial a Aracely Figueroa, mi primera amiga de toda la carrera, por siempre apoyarme en todas mis ocurrencias, por acompañarme en cada momento de felicidad y de tristeza, por escucharme y aconsejarme, y por compartirme una parte especial de su vida, y hasta la fecha, por seguir manteniendo esta amistad que espero y dure muchos años más.

A mi Alma Mater,

Por haberme permitido formarme en ella y por hacerme sentir siempre como en casa, por ser mi hogar.

Y un agradecimiento por todos los profesores que dejaron huella en mí en el transcurso de la carrera, a quienes admiro y respeto, y a todas las personas que en algún momento pasaron por mi vida y que ahora ya no están más, pero dejaron en mí enseñanzas para toda la vida

DEDICATORIAS

A mi madre,

Dedico con gran admiración, respeto y mucho amor a mi mamá, pues fue el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional, sentó en mí las bases de responsabilidad y deseos de superación, de fortaleza, tenacidad y decisión, me enseñó a forjar mi carácter y a siempre creer en mí. En ella tengo el espejo en el cual me quiero reflejar, pues son sus virtudes infinitas y gran corazón me llevan a admirarla cada día más. Agradezco con todo mí ser todo el sacrificio y esfuerzo que ha hecho durante toda su vida para que yo pueda ser alguien en la vida.

Gracias por ser la mejor mamá de todo el mundo, y por convertirte también en mi mejor amiga, y por siempre confiar en mí, y acompañarme en cada paso que doy, que, aunque para mí sea pequeño, tú me haces sentir grande.

Este logro es suyo.

A mi hermano,

Él, creo que no lo sabe, porque nunca se lo digo, pero ha sido uno de mis pilares más grandes, ya que ha sido mi compañero de vida desde que nací, siempre he querido ser como él, desde que tengo uso de memoria, me gustaban las mismas canciones, las mismas caricaturas, los mismos artistas, los mismos personajes, y hoy que estamos grandes, también quiero ser como él, ya que por muchos años ha sido mi inspiración y mi ejemplo por seguir. A él le debo tanto, por apoyarme, aconsejarme, orientarme y escucharme siempre. Gracias, Pabe, por tu amor y tus consejos y por reparar cosas en mi vida que tú no rompiste.

A mis abuelos,

A mis segundos padres, quienes me criaron y amaron desde el día que nací

Gracias a mi panzón, por enseñarme tantas cosas de la vida, por hacerme fuerte, por hacerme capaz, por hacerme valiente, y por ser un padre para mí. Por

esforzarse en que yo aprendiera a hacer cosas no tan fáciles para que nunca dependa de nadie, gracias por prepararme para el día en el que ya no estés más a mi lado. Por no saber cómo darme amor pero al menos intentarlo con un empujón o un pellizco. Gracias también por enseñarme lo que es la honestidad, la nobleza y por enseñarme que el trabajo duro es la fortaleza del mañana

Gracias a mi gorito, mi abuelita, mi bolita, por darme tanto amor, tantos besos y abrazos y por repararme el corazón con un huevito y un café. Por enseñarme a ser una buena hija, a respetar a mi mamá, por curar mis penas, limpiarme las lágrimas y hacerme a una mujer fuerte y de buenos principios. Gracias por curar mis migrañas con solo escuchar tu voz, y por darme ánimos cuando estaba estresada durante mis tareas.

Este logro también es suyo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIAS	iv
Lista de figuras	viii
Lista de Abreviaturas.....	ix
RESUMEN	x
Palabras clave: Concentración espermática, Volumen del eyaculado, Motilidad, Cuarto de Milla	x
I.-INTRODUCCIÓN	1
1.1 Hipótesis.....	2
1.2 Objetivo	2
II.-REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Comportamiento reproductivo del semental equino	3
2.2 Fisiología del Eje Hipotálamo-Hipófisis-Testicular.....	3
2.3 Desarrollo del espermatozoide	4
2.4 Estructura del espermatozoide	5
2.5 Espermatogénesis.....	6
2.6 Etapas de la espermatogénesis	8
2.6.1 Espermatocitogénesis	8
2.6.2 Espermatogénesis	8
2.6.3 Espermiogénesis.....	8
2.6.4 Espermiación	9
2.7 Factores que influyen en la calidad espermática.....	10
2.7.1 Medio ambiente.....	10
2.7.2 Razas.....	11
2.7.3 Edad.....	11
2.7.4 Nutricionales	11
2.8 Evaluación del semen	12
2.8.1 Evaluación macroscópica	12
2.8.2 Volumen	13
2.8.3 pH	13
2.8.4 Olor	14

2.8.5 Color	14
2.8.6 Aspecto.....	14
2.8.7 Evaluación microscópica	14
2.8.8 Motilidad espermática	15
2.8.9 Concentración espermática	16
2.8.10 Morfología Espermática	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS	18
2.9 Lugar de estudio.....	18
2.9.1 Animales y manejo	18
2.9.2 Recolección de semen	19
3.1 Evaluación seminal	23
3.1.1 Determinación de volúmenes eyaculatorios libres de gel	23
3.1.2 Determinación de la concentración espermática	24
3.1.3 Determinación de la motilidad espermática.....	24
3.1.4 Análisis estadístico	25
IV RESULTADOS.....	26
V DISCUSIÓN	28
V CONCLUSIÓN	29
VI LITERATURA CITADA.....	30

Lista de figuras

Figura 1. Retroalimentación positiva (+) y Negativa (-) de la producción y liberación hormonal en el potro. VNO, Organo Vomeronasal; GnRh, Hormona Liberadora de Gonadotrofinas; LH, Hormona Luteinizante; Hormona PRL, Prolactina; FSH, Hormona foliculoestimulante; T, Testosterona; E, Estrogenos; I, Inhibina; Activina. Se presentan también las potenciales influencias externas en el control del eje (Bustos y Torres, 2012).	4
Figura 2. Diagramas de un espermatozoide del semental modificado	6
Figura 3. Fases de la espermatogénesis: espermacitogénesis, espermatidogénesis, Espermiogénesis, espermiación (Reyes -Luna , 2019).	10
Figura 4 Yegua en celo posicionada en el chut para estimular al semental	19
Figura 5. Semental olfateando a la yegua	19
Figura 6 Lavado y secado del pene del semental	20
Figura 7. Semental montado en el dummy y operario colectando con Vagina artificial tipo Missouri.	21
Figura 8. Vagina artificial tipo Missouri	22
Figura 9. Filtrado del eyaculado para la eliminación del gel e impurezas y medición del volumen.	23
FIGURE 10. Fotómetro SDM 1 para análisis de la concentración de semen.	24
Figure 11. Evaluación de la motilidad espermática, utilizando una termoplatina para mantener las laminillas temperadas a 37°C.	25
Figura 12. Promedios del volumen seminal durante los meses evaluados	26
Figura 13. Promedios de motilidad seminal durante los meses evaluados	27
Figura 14. Promedios de concentracion espermatica durante los meses evaluados.	27

Lista de Abreviaturas

ONUAA	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
CASA	Análisis de Semen asistido por Computadora
LH	Hormona Luteinizante
FSH	Hormona Foliculoestimulante
GnRH	Hormona liberadora de Gonadotropina
VCL	Velocidad Curvilínea
VSL	Velocidad Lineal
BCF	Frecuencia de Desplazamiento de la Cabeza
STR	Coeficiente de Rectitud
INAFED	Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal
ANOVA	Análisis de Varianza
IA	Inseminación Artificial
PIVE	Producción In Vitro de Embriones

CAPÍTULO I

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue comparar la variabilidad de la calidad seminal durante los meses del año en caballos Cuarto de Milla. La investigación se llevó a cabo en el norte de México, (28° LN). Se utilizaron 5 sementales de raza cuarto de Milla a los que se les determinó la calidad seminal (volumen, concentración y motilidad) en base a registros del año 2020 al 2022. La concentración espermática general fue mayor en los meses (155x10⁶/mL) de julio y agosto (P<0,05), comparado con los meses (106x10⁶/mL) de marzo y abril. El promedio general para el volumen seminal fue mayor (47.7mL) en los meses de febrero y junio (P<0.05), en comparación (31.5 mL) con lo meses de julio y agosto. Mientras que la motilidad seminal (84.5%) fue mayor en agosto y septiembre (P<0.05). Los resultados demuestran que existe una variabilidad en cuanto a la concentración, motilidad y volumen seminal de caballos cuarto de milla respecto a los meses del año. En conclusión, y bajo las condiciones de este estudio, existe un efecto del mes del año en la variabilidad de la calidad seminal de caballos Cuarto de Milla respecto al mes del año.

Palabras clave: Concentración espermática, Volumen del eyaculado, Motilidad, Cuarto de Milla

I.-INTRODUCCIÓN

En la producción equina a nivel mundial, México se caracteriza por ocupar el segundo lugar con un total de 6 millones 300 mil ejemplares (ONUAA). Los cuales se utilizan para realizar diferentes actividades agrícolas o de recreación, en tal sentido los sementales son seleccionados por sus rendimientos deportivos

La reproducción equina es una biotecnología de gran relevancia debido a que permite seleccionar y reunir características múltiples que estén vinculadas a las variaciones genéticas del animal y así, lograr un aumento de la eficiencia reproductiva, resistencia y velocidad, así como también agregar las características fenotípicas y de desempeño, entre otras cualidades. (Andrade S., 2011).

En el semental, la estacionalidad está menos marcada que la de la yegua, teniendo así la capacidad de reproducirse durante todo el año; no obstante, se ve afectado el volumen seminal, la concentración espermática en la fracción libre de gel, número de montas y la reacción para montar a las yeguas; añadiendo también que la producción de células espermáticas es continua durante todo el año sin ninguna regulación hormonal (Bustos y Torres., 2012).

De esta forma, la eficiencia reproductiva del criadero depende de la fertilidad del garañón ya sea a través de monta natural o por la inseminación artificial (IA) con semen fresco, refrigerado o congelado (Andrade S., 2011).

La evaluación del potencial de fertilidad del macho se basa en el análisis de las características espermáticas básicas (concentración, motilidad y morfología). De este modo, el estudio de la morfología espermática es un elemento fundamental en el análisis seminal. (Gacem et al., 2021).

Actualmente, se han desarrollado diversos métodos para llevar a cabo el análisis de la calidad seminal, esto por medio de nuevos métodos y técnicas, por ejemplo; el sistema de análisis de semen asistido por computadora (CASA, por siglas en inglés), el cual permite que la evaluación espermática de manera objetiva y precisa, incluyendo la determinación de nuevas variables en la motilidad espermática (Betancur y Cadavid, 2013).

1.1 Hipótesis

Los meses del año influirán sobre la variabilidad de la calidad seminal de caballos Cuarto de Milla

1.2 Objetivo

Determinar el efecto de los meses del año en la calidad seminal de caballos Cuarto de Milla

II.-REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Comportamiento reproductivo del semental equino

La estacionalidad es parte del proceso de selección natural, es un mecanismo de adaptación que han desarrollado algunas especies para hacer más eficiente su reproducción y la supervivencia de las crías, de esta forma minimizan el impacto negativo del ambiente, como las bajas temperaturas, la humedad y la disponibilidad de alimento (Blanc, 2003; Boeta, et al., 2018).

A diferencia de la hembra, el macho no presenta alteraciones a causa de los cambios propios de cada época del año, esto se debe a que la función reproductiva del garañón no se ve interrumpida en el transcurso de la época de anestro o bien, de descanso sexual; por otra parte, cabe mencionar que la producción de hormonas reproductivas, el tamaño y el volumen testicular, la libido, las características cualitativas y cuantitativas del eyaculado y la fertilidad de los espermatozoides pueden variar (Boeta, et al., 2018).

Cabe destacar que los efectos del fotoperiodo no deben de vincularse o asociarse con los nutricionales que también varían con la época del año (Boeta, et al., 2018).

2.2 Fisiología del Eje Hipotálamo-Hipófisis-Testicular

Se ha demostrado que la información auditiva, táctil, olfatoria y visual que ha sido capturada por el sistema nervioso central concurre hacia el hipotálamo, una vez ahí es procesada, y transformada a señales hormonales que se transportan a la adenohipófisis, lugar donde es amplificada y retransmitida por medio de la gonadotropinas hacia las gónadas, quienes responden de forma variada, una forma de respuesta es secretando las hormonas sexuales. Las ya mencionadas ejercen función en los tejidos blancos, en los cuales comprende el cerebro y la adenohipófisis, de esta forma se establece una red de información, la cual accede

una propagación e integración de señales en todo el organismo (Bustos y Torres, 2012) (figura 1).

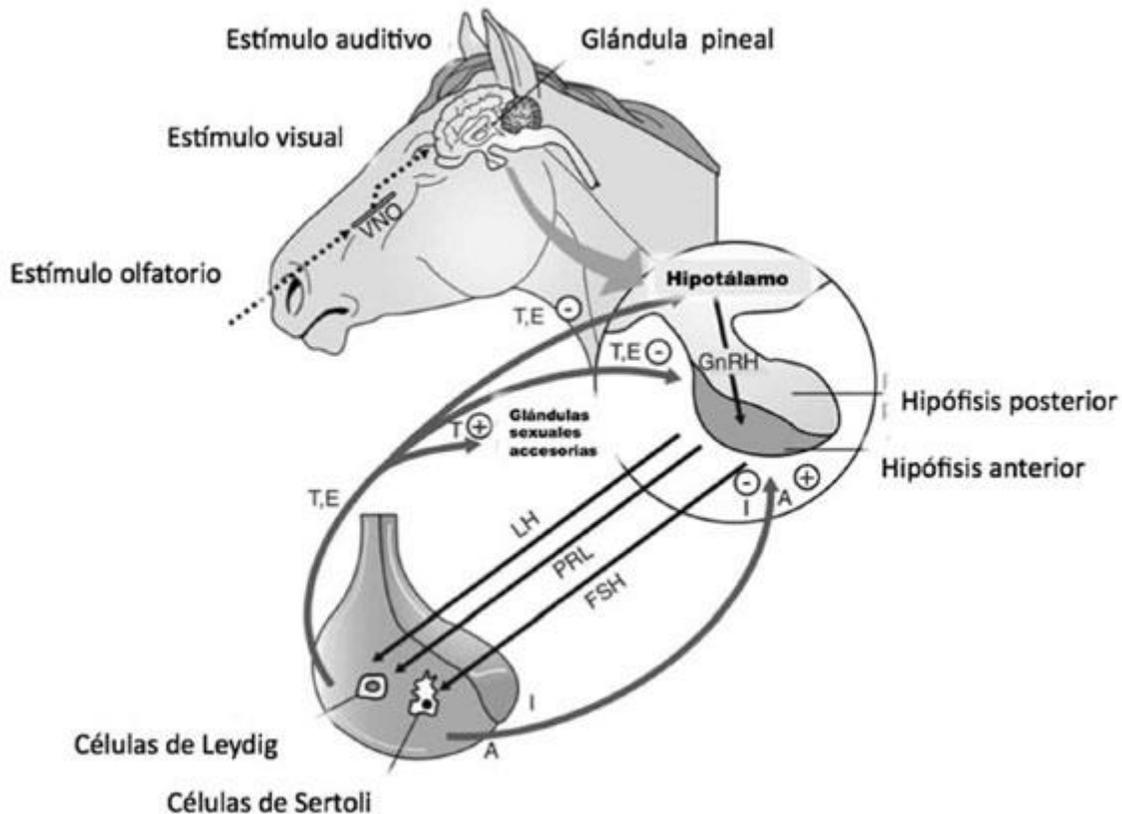


Figura 1. Retroalimentación positiva (+) y Negativa (-) de la producción y liberación hormonal en el potro. VNO, Órgano Vomeronasal; GnRh, Hormona Liberadora de Gonadotrofinas; LH, Hormona Luteinizante; Hormona PRL, Prolactina; FSH, Hormona foliculoestimulante; T, Testosterona; E, Estrógenos; I, Inhibina; Activina. Se presentan también las potenciales influencias externas en el control del eje (Bustos y Torres, 2012).

2.3 Desarrollo del espermatozoide

El espermatozoide (del griego esperma, semilla y zoon, animal), o gameto son células extremadamente especializadas, las cuales presentan cambios genéticos moleculares y fisiológicos que no se muestran en otras células. El espermatozoide

es una célula altamente diferenciada, que tiene como función transportar el material genético del macho y fusionarse con el gameto de la hembra (el ovocito), dando así lugar a un nuevo organismo diploide con la finalidad de propagar la especie (Rodríguez Nuñez, 2018).

Desde la perspectiva de la ciencia evolutiva, los espermatozoides representan un modelo celular con gran singularidad, debido a que se clasifican dentro del grupo de células más divergentes de los seres vivos, exponiéndose con características muy variadas, es decir; sus formas y tamaños pueden ser diferentes (Rodríguez Nuñez, 2018). Esta célula se origina en los túbulos seminíferos de los testículos, a través de un proceso denominado **espermatogénesis**. Los túbulos seminíferos se encuentran tapizados por un gran número de células epiteliales germinales llamadas **espermatogonias**, las cuales son células diploides que proliferan continuamente para mantener su número. Un porcentaje de estas células ya diferenciadas carecen de capacidad fecundante y poseen escasa motilidad. Se necesita, por tanto, de una última fase de maduración durante su tránsito por el epidídimo para desarrollar dichas particularidades (Rodríguez Nuñez, 2018).

2.4 Estructura del espermatozoide

En los mamíferos, el espermatozoide está formado por 5 regiones: cabeza, cuello, pieza intermedia, pieza principal y pieza terminal. Presentan un núcleo condensado, una membrana plasmática sensible a cambios térmicos y osmóticos y las mitocondrias (Boeta, et al., 2018). La cabeza del espermatozoide consta de un núcleo, el acrosoma, estructuras del citoesqueleto y una pequeña cantidad de citoplasma. El cuello es la unión de la cabeza o pieza intermedia, y está formado por capitulum, mitocondrias, centriolo proximal, columnas laminadas que colaboran con la flexibilidad y movimiento. El flagelo está encargado en apoyar con el movimiento y está compuesto por: pieza intermedia, pieza principal y pieza terminal. Todos están formados por el axonema que es la estructura que realiza el movimiento. Este axonema involucra microtúbulos (Vélez, 2016; Rodríguez Nuñez,

2018). La integridad de la membrana plasmática puede ser estimada como un indicador indirecto de la vitalidad de los espermatozoides (Lozano, et al., 2011; Betancur, et al., 2013) (figura 2).

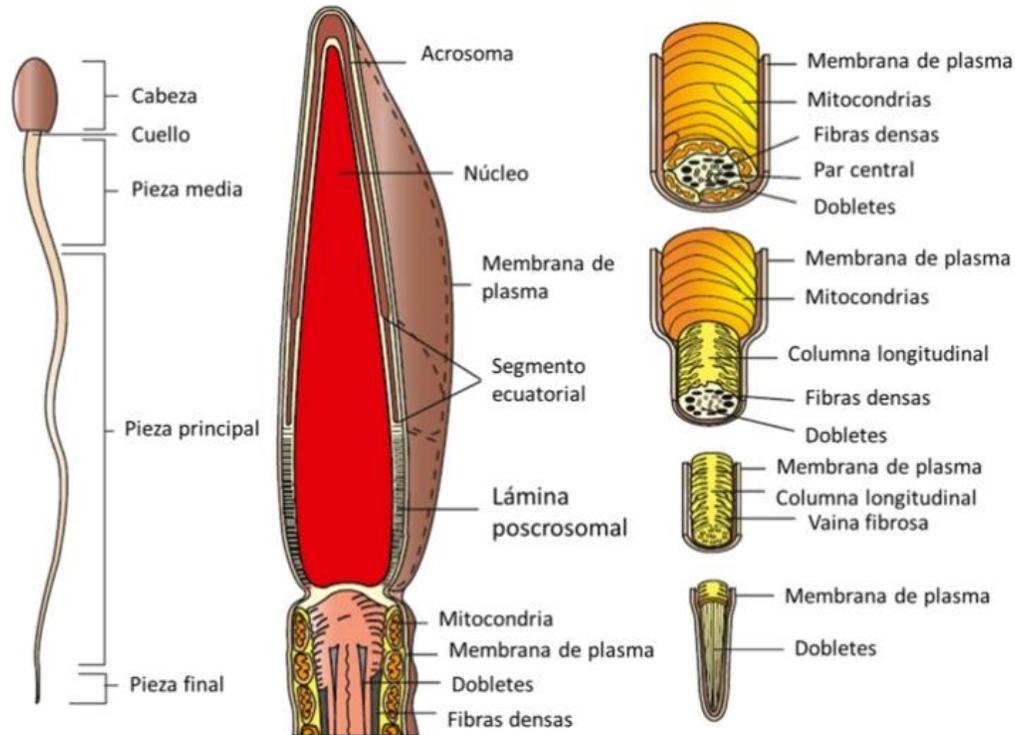


Figura 2. Diagramas de un espermatozoide del semental modificado (Samper, 2009).

2.5 Espermatogénesis

La formación de los gametos masculinos denominada **espermatogénesis**, es el transcurso de proliferación, maduración y diferenciación mediante el cual las espermatogonias se transforman en espermatozoides, dicho proceso se lleva a cabo en los túbulos seminíferos, que son el componente principal del parénquima testicular en los testículos del semental. Esta sucesión consta de tres etapas consecutivas en las cuales, las principales células cambian su morfología, pierden algunas de sus órganos transformándose finalmente en células diferenciadas (Carleton, 2011).

Los túbulos seminíferos están formados por una capa de células mioides que rodea la lámina basal, y a su vez un complejo de células somáticas y germinales. Para cada generación sucesiva de células germinales, existe una célula que cumple un papel estructural y fisiológicamente de apoyo para las ya mencionadas, esta célula es denominada; célula de Sertoli. Cada uno de los espermatozoides junto con sus precursores están físicamente incrustados entre las células de Sertoli o bien, en contacto directo con ellas, de forma que cada célula de Sertoli se comunica con una gran cantidad de células germinales en varias etapas de desarrollo (Dascanio y McCue, 2014).

En los mamíferos, la espermatogénesis se lleva a cabo por medio de señales a través del eje hipotálamo-hipófisis-testículo, esto engloba la acción de las gonadotropinas, el mecanismo de feedback de los esteroides, las proteínas y la modulación paracrina y autocrina de muchas sustancias y factores de crecimiento. Por otra parte, la secreción de la hormona liberadora de gonadotropina, de las hormonas de la glándula pituitaria, LH, FSH y las hormonas testiculares como los andrógenos y la inhibina. Dentro de la clasificación de las hormonas que participan en la espermatogénesis destaca la testosterona, que es de gran relevancia ya que juega un papel muy importante dentro del proceso ya mencionado, porque es la encargada de mantener y restaurar el proceso de espermatogénesis en los testículos de animales adultos, por otro lado, la LH estimula la síntesis androgénica en la células de Leydig de los testículos, dichos andrógenos son encargados de regular localmente la producción espermática y realizar una retroacción hacia el hipotálamo para controlar la liberación de GnRH y así la expansión de la espermatogénesis en la pubertad (Blanc, 2003; Galiana y Valencia, 2012).

El testículo del equino guarda aproximadamente un 100% más de espermatogonias durante el verano que en el invierno y representa un buen modelo para determinar los componentes flexibles de la espermatogénesis que originan los cambios estacionales en la producción diaria del esperma en el garañón, las diferencias estacionales son mayores en el número de espermatogonias que en la producción de esperma (Brinsko, et al., 2011).

2.6 Etapas de la espermatogénesis

La espermatogénesis cuenta con tres fases de desarrollo; estas fases corresponden a una duración alrededor de 19.4 y 18.6 días, respectivamente, lo que arroja una duración total de la espermatogénesis en sementales de aproximadamente 57-58 días (Samper, 2009).

2.6.1 Espermatocitogénesis

La fase proliferativa involucra la parte antes de llegar a la pubertad, aquí los gonocitos germinales se diferencian a espermatogonias. En esta primera etapa, las espermatogonias experimentan una serie de divisiones mitóticas para mantener su número (espermatogonias tipo A) en primer lugar, así como también para producir espermatogonias. Tiene una duración de 19.5 días en el garañón (Galiana y Valencia, 2012).

2.6.2 Espermatogénesis

La segunda fase corresponde al inicio de la primera división meiótica, por medio de la cual el espermatocito primario diploide va a producir dos espermatocitos secundarios suscitando las espermátidas, que son células de menor tamaño y diferenciado. Al final de profase meiótica coincide con la fase 4 del epitelio seminífero, durante la que suceden rápidamente la metafase, anafase y telofase (Hafez y Habez, 2002) (Figura 3).

2.6.3 Espermiogénesis

En esta etapa, la espermatida esférica sufre una serie de cambios morfológicos hasta distinguir la cabeza y la cola; sin presentar ya ninguna alteración en la carga genética, (Amann, 2008). Estos cambios se comienzan a presentar cuando las espermatidas están en contacto con las células de Sertoli, aquí ya no implica divisiones celulares, y tiene una duración de 18.6días (Hafez y Hafez, 2002; Galiana y Valencia, 2012) (Figura3).

2.6.4 Espermiación

Esta es la última fase de la espermatogénesis, en la cual se rompen las uniones de la espermatida ya madura y las células de Sertoli, quedando liberada al lumen de los túbulos seminíferos. Después, la espermatida pierde la mayor parte del citoplasma, su núcleo queda condensado y se produce la maduración del flagelo y acrosoma (Figura 3). Adquieren la habilidad de fertilización, este proceso dura entre 9 y 14 días (Reyes- Luna , 2019; Hafez y Hafez, 2002).

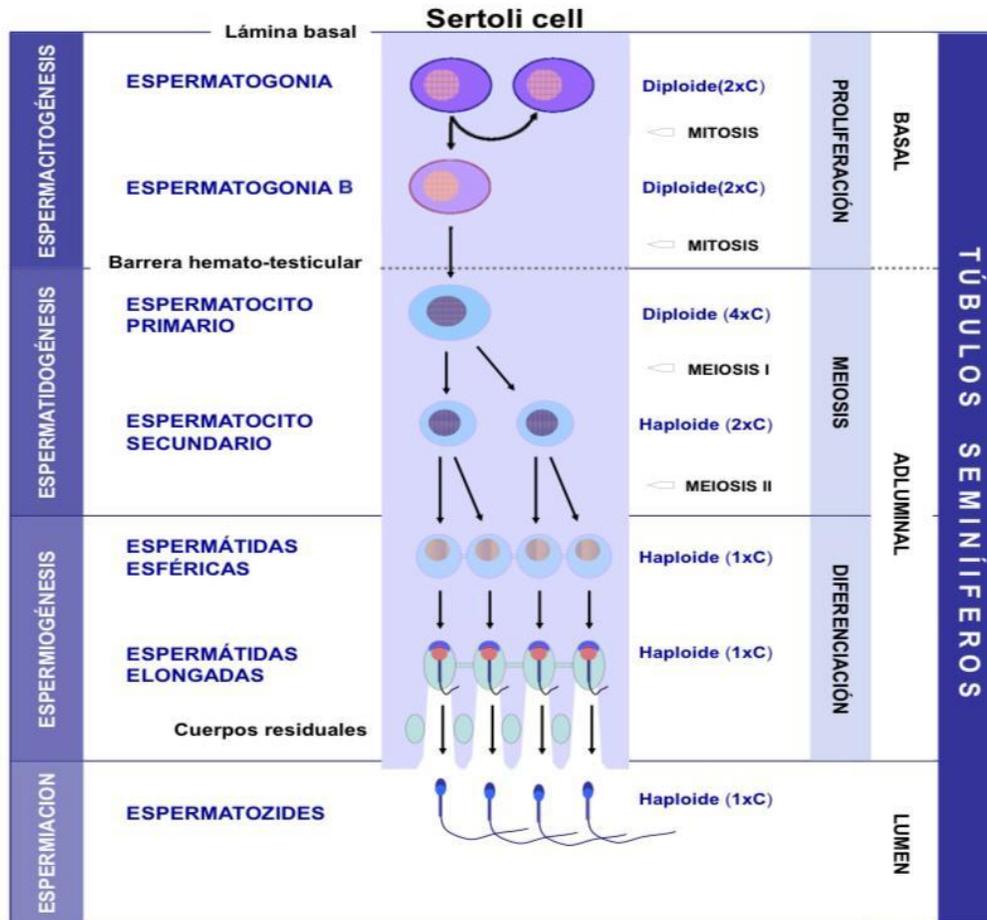


Figura 3. Fases de la espermatogénesis: espermatocitogénesis, espermatidogénesis, espermiogénesis, espermiación (Reyes -Luna , 2019).

2.7 Factores que influyen en la calidad espermática

2.7.1 Medio ambiente

Estudios demuestran que la ejecución del proceso de termo-regulación testicular se ve impedida a causa del estrés calórico, trayendo como consecuencia la alteración directa del proceso de capacitación espermática. Esto se debe a que la temperatura óptima del testículo para alcanzar una capacitación espermática adecuada debe oscilar entre los 34.5°C (Crespo et al., 2020).

2.7.2 Razas

La raza es un punto clave dentro de los factores que influyen en la capacitación espermática, y va ligado directamente al factor medio ambiente, ya que si la raza no es competente para el lugar en donde se lleve a cabo su reproducción, como consecuencia sufrirá más daño espermático (Arias Serrato, et al., 2011).

2.7.3 Edad

Dentro del factor de edad es relevante mencionar la madurez sexual, ya que sementales con edades de menos de tres años a más de catorce años presentan baja calidad seminal, esto se debe a la variación fisiológica en el funcionamiento de los túbulos seminíferos (Chenier T.S. et al., 2007)

La edad en la que los testículos del semental terminan su desarrollo es a los seis años, esta fase coincide con la estabilización de la producción espermática. De esta forma, los garañones de menor edad presentan menos producción de espermatozoides en comparación con los garañones adultos. Sin embargo, los garañones gerontes están predispuestos a presentar una producción mayor de espermatozoides con anormalidades fisiológicas (Plas, et al., 2000).

2.7.4 Nutricionales

La nutrición es un punto clave para prevenir alteraciones en la fertilidad del equino. Autores demuestran que un peso por arriba y por debajo del valor saludable aumenta el riesgo de infertilidad. Los niveles altos de Leptina indican un exceso de tejido adiposo, ocasionando así un aumento en la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-testicular, lo cual disminuye la producción de testosterona por las células de Leydig y aumenta los estrógenos (Lozano, H., 2009).

2.8 Evaluación del semen

La evaluación seminal es la parte principal para la selección de un macho apto para la reproducción (Castro Murillo y González Cruz, 2019). La selección de las características cualitativas y cuantitativas del semen de los animales que se emplean en la reproducción es uno de los aspectos más relevantes y fundamentales al evaluar la capacidad reproductiva de los machos (Castro y Chacón, 2016).

La evaluación debe hacerse inmediatamente después de la colecta (Jaramillo, 2014). Los indicadores de la viabilidad del semen son las tasas de gestación y natalidad, pero ambos son retrospectivos y a su vez están influenciados por factores independientes de la fertilidad del semental, dichos factores son la fertilidad de la hembra y el manejo reproductivo (Gutierrez Cepeda, 2014).

Dentro de la evaluación seminal destacan dos técnicas, la evaluación macroscópica y la microscópica, en la macroscópica se engloban particularidades como la apreciación del volumen, color, el aspecto, olor y el pH; por otro lado, en la evaluación microscópica se determina la concentración, motilidad y morfologías espermáticas. Para llevar a cabo este procedimiento se deben considerar ciertas condiciones para su correcta realización, como lo es la temperatura; que debe de estar entre los 37 y 38°C, así mismo, el material a usarse debe de estar estéril y a la misma temperatura a la que se mantiene el semen (Boeta, et al., 2018).

2.8.1 Evaluación macroscópica

La evaluación macroscópica se realiza inicialmente valorando la calidad seminal mediante el estudio del semen comprendido desde el ojo humano, con la finalidad de identificar aspectos que permitirán evidenciar la condición de la muestra seminal a evaluar (Castro Murillo y González Cruz, 2019).

2.8.2 Volumen

Para la evaluación del volumen es importante principalmente la separación de la porción espermática del gel obtenido, que también es variable, de no presentarse a estar en un volumen muy alto. Esto se realiza por medio de la aspiración con una jeringa o vertiéndolo a través de un filtro. La filtración también tiene como finalidad eliminar elementos extraños, como restos de esmegma, cabello y suciedad. Posteriormente se procede a la evaluación macroscópica, la cual indica información estimada de la concentración y calidad del semen. El volumen; por sí solo no es un valor determinante en la fertilidad, sino es usado en el cálculo del número total de espermatozoides en el eyaculado (Hafez y Hafez, 2002; Brinsko, et al., 2011).

En los equinos, el volumen total de la eyaculación es en un promedio de 60 a 70 ml con un rango de entre 30 y 300 ml.

El volumen de eyaculado varía fisiológicamente en función de varios factores. Dentro de esta enumeración de causas, se enlistan;

- Raza
- Edad
- Preparación sexual
- Tamaño testicular y características individuales
- Frecuencia de extracción
- Método de colección

(Brinsko, *et al.*, 2011).

2.8.3 pH

El pH del semen del caballo tiene un rango de 7.2 a 7.7, y se define usando un potenciómetro preferencialmente dentro de la primera hora después de obtenido el semen (Miró Arias, et al., 2011; Cepeda, 2014).

2.8.4 Olor

Cada especie tiene un olor característico de semen, por ello es complicado definirlo: únicamente la práctica permite distinguir un olor anormal. El examen por medio de la olfacción podría servir para distinguir algunas infecciones (Díaz y Díaz T., 1989).

2.8.5 Color

La coloración que presenta el semen fresco del equino es blanco pálido con apariencia de leche descremada. Es relevante la detección de cambios en el color, ya que estos cambios pueden asociarse a la presencia de dentritos, sangre u orina, que pueden causar alteraciones severas en la calidad seminal y de esta forma, provocar un desorden en el tracto reproductivo o urinario (Jaramillo C. S., 2007)

2.8.6 Aspecto

El material espermático total es básicamente un líquido con aspecto denso, cremoso y con una tonalidad levemente amarillenta, creando así una suspensión de espermatozoides en un medio llamado plasma seminal (Serrano Q., 1982).

El aspecto opaco y relativamente uniforme del semen es un indicativo de una alta concentración de células espermáticas (Hafez y Hafez, 2002).

2.8.7 Evaluación microscópica

El examen microscópico es utilizado para la identificación y evaluación de las características seminales que no pueden ser observadas a simple vista, y se realiza

preferentemente con un microscopio óptico con contraste de fase y una platina térmica a 40 °C (Brass, 2001).

2.8.8 Motilidad espermática

La viabilidad de los espermatozoides se determina mediante su motilidad. Se ha demostrado que en muchas especies existe un vínculo positivo entre la motilidad espermática y la capacidad fertilizante (Brinsko, et al., 2011).

El análisis de este parámetro es un indicativo de gran relevancia dado que tiene un rol esencial para llevar a cabo el transporte de la información genética hasta el sitio de fertilización (Sánchez, 2019).

La evaluación de motilidad se lleva a cabo de manera objetiva midiendo el movimiento de los espermatozoides, dentro de esta serie de medidas se engloban; el porcentaje de motilidad espermática, porcentaje de motilidad espermática progresiva, amplitud de del desplazamiento lateral de la cabeza durante el movimiento hacia delante, la velocidad media de la trayectoria medida en micrómetros por segundo (Brinsko, et al., 2011).

Dentro de la evaluación visual de la motilidad de los espermatozoides debe de analizarse: la motilidad total (porcentaje de espermatozoides que presentan motilidad de cualquier forma), motilidad progresiva (porcentaje de los espermatozoides que muestran un movimiento rápido y lineal), y la velocidad del esperma (que se mide en una escala arbitraria de 0 a 4) (Brinsko, et al., 2011).

En los espermatozoides se clasifican dos patrones unicamente, uno es el movimiento activo, es propio de los espermatozoides eyaculados, cuyo objetivo es emigrar a travez del tracto reproductor de la hembra. (Rodríguez Nuñez, 2018). El modelo de movimiento la motilidad progresiva en el equino no es tan rectilíneo como en otras especies, y generalmente el porcentaje que se presenta dentro de la

motilidad progresiva es de 75%, con un rango de 60 a 95% (Ortega, 2011; Sánchez, 2019).

La evaluación de este parámetro se debe llevar a cabo mediante el empleo de un microscopio óptico de contraste de fase y un ambiente térmico, la muestra se valora en base al porcentaje de células en movimiento. Por otro lado, se presentan diferentes tipos de movimientos en los espermatozoides (P.ej. movimiento vibratorio, circular, oscilatorio, progresivo lento y rápido), cuya clasificación puede emplearse para las diferentes especies (Betancur, et al., 2013).

El sistema llamado CASA (de sus siglas en inglés, Computer Assisted Semen Analysis), que tiene como finalidad de establecer una serie de variabilidades, en las que se incluye el número de espermatozoides en movimiento, su velocidad curvilínea (VCL), velocidad lineal (VSL), coeficiente lineal (LIN), coeficiente de rectitud (STR), frecuencia de desplazamiento de la cabeza (BCF), etc. Las variables cinemáticas que se consiguen mediante el sistema CASA, que no pueden ser adquiridas a través del ojo humano son de gran provecho para fines de investigación, facilitando, por ejemplo la determinación de subpoblaciones de espermatozoides que coexisten en un eyaculado del semental (Morell, 1997).

2.8.9 Concentración espermática

La concentración espermática es la cantidad de espermatozoides por mililitro. Los valores de concentración espermática media fluctúan entre 150 a 300x10⁶/ml, con una concentración total de 1 – 20 billones de espermatozoides en cada eyaculado, con un rango de variación muy amplio (50 a 80 millones/ml) (Davies, 2005).

El cálculo total de espermatozoides es uno de los parámetros más usados para calcular la fertilidad de un semental aunque esté sujeto a diversos factores de variación, por ejemplo: frecuencia de servicios, edad, volumen testicular, actividad ecuestre, factores nutricionales y factores ambientales. Para la determinación de la concentración espermática se puede utilizar el hematocitómetro, también llamado

cámara de Neubauer o de Spencer, el espectrofotómetro, el fotocolorímetro, o bien un contador fotoeléctrico contador de células el densímetro equino (Animal Reproduction systems) o el Spermeceue (Minitube), los cuales son sistemas portátiles y rápidos, que tienen como limitante su alto costo y el hecho de ser precisos solamente con semen fresco (Betancur y Cadavid, 2013).

2.8.10 Morfología Espermática

El análisis de la morfología de los espermatozoides es un factor importante dentro de la evaluación seminal, ya que brinda información invaluable para delimitar la salud del semental, así como también su potencial de fertilidad. El promedio del número de espermatozoides morfológicamente normales que puede tener un semental corresponde a un 50%, aunque esta estimación puede variar considerablemente durante la temporada reproductiva y a su vez en las evaluaciones rutinaria. Se considera un eyaculado de baja calidad cuando dichos porcentajes son superiores al 30% de defectos en la cabeza, un 25% de gotas citoplasmáticas proximales o 40% de espermatozoides anormales (Brito, 2007).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

2.9 Lugar de estudio

El estudio se llevó a cabo en el Centro de Reproducción "Los Potrillos", el cual se ubica en el municipio de Cuauhtémoc, Chihuahua, localizado en la latitud: norte 28° 25"; longitud oeste 106° 52"; con una altitud de 2,060 msn. (INAFED, 2015). En esta ciudad, el clima es determinado semiseco y templado con una precipitación media anual de 530 mm/año, y la temperatura media anual es de 18°C, pero alcanza temperaturas de hasta 30°C en temporadas cálidas (primavera/verano) y 10°C en temporadas frías (otoño/invierno) (CONAGUA, 2015).

2.9.1 Animales y manejo

Para dicho estudio, se usaron 5 sementales de la raza Cuarto de Milla, con edades de entre 7-11 años, los cuales presentan un buen estado de salud y alcanzan los 500-700kg de peso vivo, con una condición corporal de 5 (basándose en la escala del 1 al 9) (Carroll y Huntington, 1988). La alimentación que reciben es a base de alfalfa y concentrado al 14% de PC y agua libre acceso como lo establece la Organización Mundial de Salud Animal (Sánchez, 2019).

2.9.2 Recolección de semen

Se utilizó una yegua la cual fue contenida en un chut de manejo con la finalidad de estimular el comportamiento del semental para lograr la erección del pene y así conseguir que montara el dummy (figura 4) y (figura 5).



Figura 4 Yegua en celo posicionada en el chut para estimular al semental



Figura 5. Semental olfateando a la yegua

Una vez erecto el pene, se realizó el lavado con agua a temperatura de 35°C aproximadamente y el secado con servilletas de papel absorbentes, con la finalidad de retirar suciedad y así obtener un eyaculado libre de impurezas. Para un correcto lavado se debe de hacer énfasis en la fosa uretral para poder retirar el esmegma acumulado ahí, y los microorganismos residentes. Todo esto va justo antes de la extracción (figura 6).

Es de gran relevancia evitar el uso de soluciones bactericidas que puedan alterar la flora bacteriana normal del pene (Alvarenga, et al., 2016)



Figura 6 Lavado y secado del pene del semental

Como siguiente paso, se dirigió al semental al dummy de monta, donde el manejador llevaba al caballo en línea recta y una vez que el semental se montó en el dummy, el operador de la vagina desvió el pene hacia la vagina artificial, se introdujo el pene, dejando la vagina paralela al dummy de monta, se revisaron las pulsaciones uretrales y se confirmó la eyaculación mediante la observación del movimiento de cola del semental (banderilleo), cuya característica es indicadora de

la eyaculación, posteriormente el operador fue cambiando la posición de la vagina conforme se retraía el pene del semental (Damalu, 2012) (figura 7).



Figura 7. Semental montado en el dummy y operario colectando con Vagina artificial tipo Missouri.

Se utilizó una vagina artificial tipo Missouri de liner de látex con válvula, adaptador de válvula, asa de cuero, acondicionador AV y botella de colección (Damalu, 2012) (figura 8).



Figura 8. Vagina artificial tipo Missouri

Una vez que la vagina artificial se armó de la manera correcta, se prosiguió a llenar de agua a una temperatura de 54°C, para posteriormente obtener una temperatura de 45°C- 48°C, o menos. Una vez listos tanto el garañón como la yegua, se le colocó al interior de la vagina gel lubricante no espermicida.

El proceso de recolección de semen requirió de tres personas, un individuo manejando a la yegua, otro al semental y por último el que manipula la vagina artificial.

Una vez obtenido el eyaculado se precede a la evaluación macro y microscópica del semen (motilidad, morfología y concentración) (Castro y Chacón, 2016).

3.1 Evaluación seminal

3.1.1 Determinación de volúmenes eyaculatorios libres de gel

Para la obtención del volumen de gel se realizó un filtrado del eyaculado 2 veces y posteriormente se midió haciendo uso de cilindros de vidrio graduados con capacidad de 250 ml, obteniendo la muestra del vaso recolector y vertiendo el contenido por la pared del probeta graduada en su totalidad y así poder cuantificar el volumen expresado en mililitros (Restrepo, 2013; Duque, 2017) (figura 9).



Figura 9. Filtrado del eyaculado para la eliminación del gel e impurezas y medición del volumen.

3.1.2 Determinación de la concentración espermática

Se evaluó mediante un fotómetro SDM 1 para análisis de la concentración de semen (figura 11), se calibró primero con una microcubeta específica para la especie y una vez calibrado, se depositó semen con una pipeta en la microcubeta, que se absorbió por capilaridad, y se colocó en la rejilla del fotómetro. Los valores arrojados por el fotómetro SDM 1 aparecen directamente como un número de partículas contadas por millón en un mililitro de volumen, los resultados de todas las muestras se anotaron en la bitácora (Minitube, s/f) (figura 10).



FIGURE 10. Fotómetro SDM 1 para análisis de la concentración de semen.

3.1.3 Determinación de la motilidad espermática

Para la evaluación de la motilidad es importante que todos los instrumentos que vayan a tener contacto con el semen estén limpios, estériles, a 37°C. Se hizo uso de un microscopio equipado con óptica de contraste de fase y una placa térmica (38°C) con un aumento de 100x (Tejerina, *et al.*, 2009). Seguido, se depositó una gota de semen en un portaobjetos previamente calentado en una platina a 37 ° C, se colocó un cubreobjetos atemperado y se hizo una valoración inmediata. La valoración de esta motilidad es subjetiva, si bien, da una idea bastante aproximada de la calidad de la motilidad de la muestra de semen (Pérez, 2017) (figura 11).

A través del uso de microscopía óptica convencional se evaluó la motilidad espermática total (porcentaje de células móviles) y progresiva (porcentaje de células móviles con trayectoria lineal), a partir de siete campos visuales y un aumento de 400x (Pérez, 2017).



Figure 11. Evaluación de la motilidad espermática, utilizando una termoplatina para mantener las laminillas templadas a 37°C.

3.1.4 Análisis estadístico

Las medias de volumen, concentración y motilidad seminal, se analizaron a través de un análisis de varianza (ANOVA), y si existió diferencia en la comparación de las medias entre tiempo, se utilizó una T-studen. Todas las variables, fueron analizadas utilizando el paquete estadístico Mystal versión de estudiante. Se consideró una significancia de $P < 0.05$.

IV RESULTADOS

Los resultados obtenidos para volumen seminal se muestran en la Figura 12. El volumen seminal empieza a aumentar a partir del mes marzo, observándose un mayor volumen en los meses de mayo y junio (118 mL; $P < 0,05$) respecto a los meses (47 mL) de enero y febrero ($P > 0,05$).

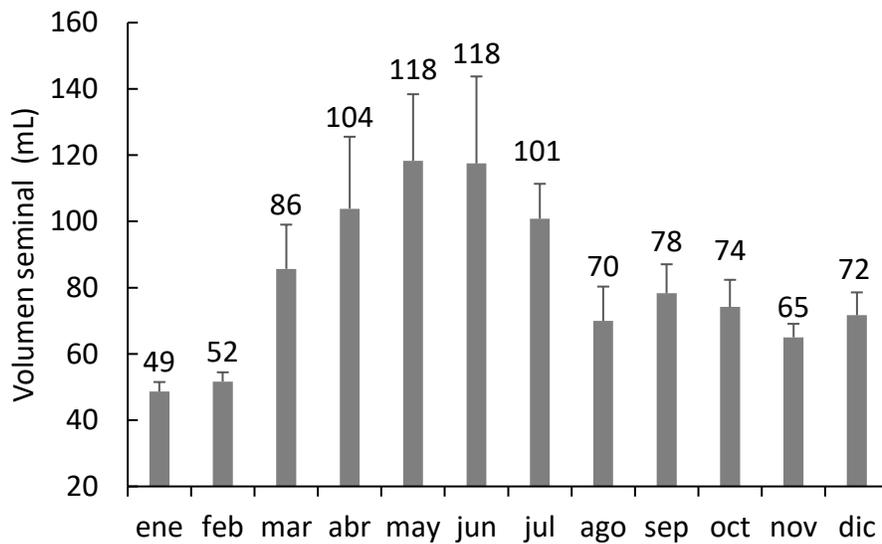


Figura 12. Promedios del volumen seminal durante los meses evaluados

La motilidad espermática se muestra en la Figura 13. Se puede observar que la motilidad espermática aumenta a partir del mes de marzo (73%), encontrándose una mayor motilidad (86%) durante los meses de julio y agosto, y disminuye a partir del mes de septiembre a febrero (61%).

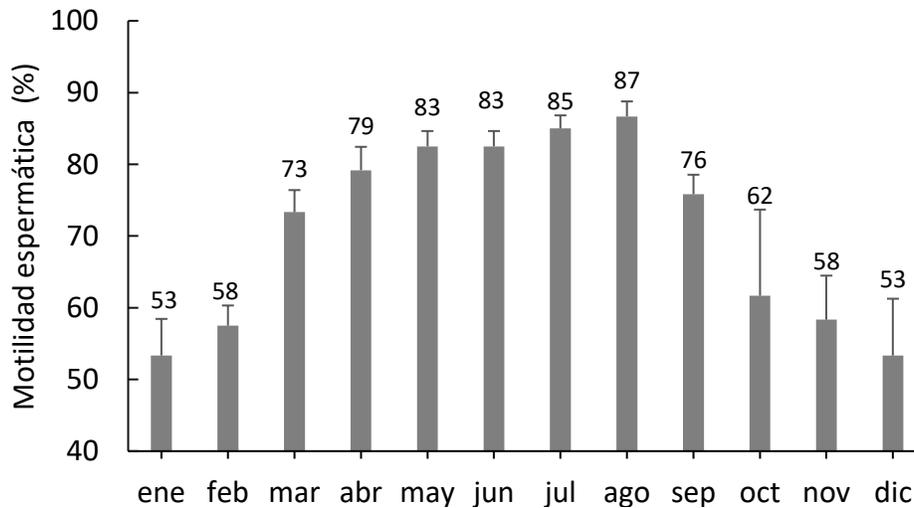


Figura 13. Promedios de motilidad seminal durante los meses evaluados

Los resultados para la concentración espermática se muestran en la Figura 14. Se observó que la concentración espermática fue mayor ($377 \times 10^6/\text{mL}$) en el mes de mayo ($P < 0.05$) comparado con los demás meses del año ($P < 0.05$).

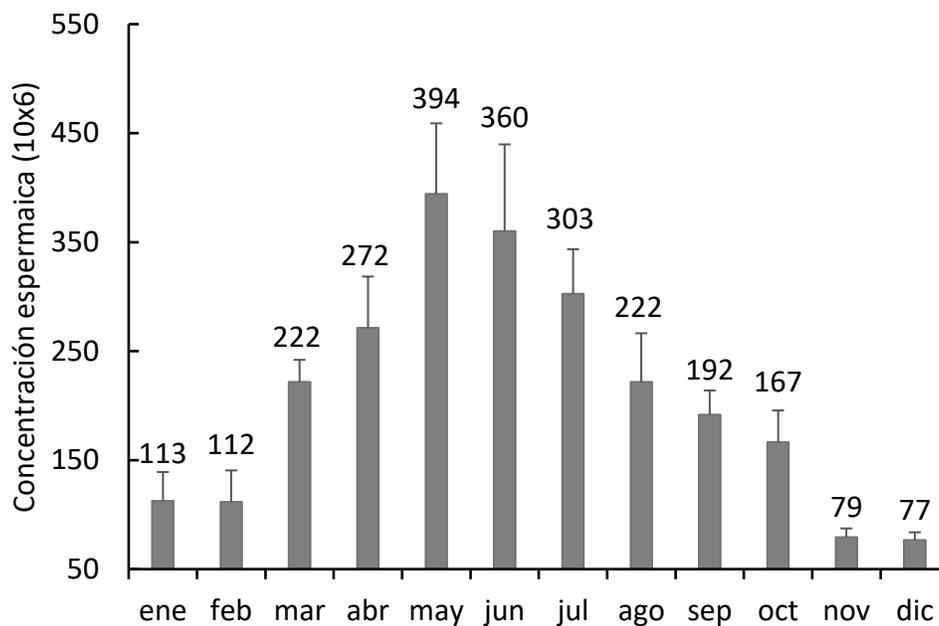


Figura 14. Promedios de concentración espermática durante los meses evaluados.

V DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que el volumen seminal en lo caballos cuarto de Milla fue mayor en los meses de mayo y junio (118 mL), respecto a los (47 mL) meses de enero y febrero. Lo anterior, está de acuerdo con los resultados encontrados por (Clat et al. (1987), en sementales Cuarto de Milla y Janett et al. (2003^a) en sementales Franches Montagnes, observaron un mayor volumen seminal, además, en otro estudio realizado en sementales Pura Sangre Lusitano Gamboa et al. (2010) reportaron mejor motilidad durante mayo y junio que coincide con los valores más altos encontrados en nuestro estudio. Sin embargo, nuestros resultados son contrarios a los reportados por Pereira et al. (2012), quienes no observaron diferencia significativa en el volumen seminal a lo largo del año.

La motilidad espermática, cuya capacidad de movimiento condiciona la posibilidad de tener una fecundación exitosa, siendo uno de los parámetros que influyen directamente en el porcentaje de la fertilidad, demostró ser mayor durante los meses de julio y agosto (Figura 13), lo que concuerda con lo reportado por (Janett., et al. 2003b; Pereira et al., 2012; Dorado et al., 2014; Kandiel y Khawagah, 2018), y contrastan con lo que reportaron (Waddington et al., 2017) al igual que el estudio realizado a sementales Warmblood (Janett, et al. 2003b; Morrel et al., 2013), quienes reportaron tener mejor motilidad durante el mes de octubre y noviembre respectivamente.

Los resultados observados en este estudio muestran una mayor concentración en el mes de mayo. Lo anterior, es contrario con lo reportado en otros estudios que muestran una mayor concentración espermática durante los meses que corresponden al verano (Kandiel y Khawagah, 2018). Así mismo, el efecto de mes en concentración espermática coincide con los resultados de este estudio y lo reportado por (Clay C. M. et al., 1987) quien reporto tener mayor concentración durante el mes de mayo.

V CONCLUSIÓN

Bajo las condiciones de este estudio, existe un efecto del mes del año en la variabilidad de la calidad seminal de caballos Cuarto de Milla, mostrando mejores promedios durante los meses de mayo y junio, por lo tanto, podemos utilizar el semen de estos meses en las diferentes biotecnologías reproductivas de esta especie, como lo es la Inseminación artificial (IA), la transferencia de embriones, la producción in vitro de embriones (PIVE).

VI LITERATURA CITADA

- Arias Serrato, S., Andrade S., F., Federico C., I., Pérez O., J., & Chacón J., L. (2011). Aspectos de la eficiencia reproductiva coorelacionados con el semental equino. *Revista Ciencia Animal*, 83-88.
- Castro Murillo, K., & González Cruz, S. (2019). MÉTODOS MODERNOS DE EVALUACIÓN SEMINAL EN EQUINOS. *MÉTODOS MODERNOS DE EVALUACIÓN SEMINAL EN EQUINOS*. Universidad Cooperativa de Colombia, Villavicencio.
- Alvarenga Marco Antonio; Frederico Papa Ozanam; Carlos Neto Ramires y. (2016). "Advances in Stallion Semen Cryopreservation". *Veterinary clinics of NA: Equine Practice*, 32 (3): 521-30.
- Andrade S., e. a. (2011). Algunos aspectos de la eficiencia reproductiva correlacionados con el semental equino. *Ciencia Animal*, 83- 88.
- Aurich, C. (2016). Seasonal Influences on Cooled-Shipped and Frozen-Thawed. *Journal of Equine Veterinary Science*, 43: 1-5.
- B. Waddington; J. M. Penitente Filho; J. G. S. Neves; R. O. Pinho. (2017). Testosterone serum profile, semen characteristics and testicular biometry. *Reprod Domest Anim*, 52(2):335-343.
- B., W. (s.f.).
- Betancur; Giovanni Restrepo; Jaime Isaza Cadavid. (2013). Técnicas para el análisis de la fertilidad potencial del semen equino. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 69-81.
- Blanc, M. L. (2003). *Equine Stud Farm Medicin and Surgerye*. London: El servier science.
- Boeta, M. S., Balcazár, A., Cerbón, J. L., Hernandez Medrano, J. H., Hernandez Cerón, J., & Páramo Ramírez, R. M. (2018). *Fisiología Reproductiva de los Animales Domésticos* (Vol. 1a). Ciudad de México.
- Brass, K. (2001). Inseminación artificial en la especie equina. *Instituto Nacional de de Tecnologías Agropecuarias*, 525-561.
- Brinsko, S. P., Blanchard, T. L., Varner, D. D., Schumacher, J., Love, C. C., Hinrichs, K., & Hartman, D. (2011). *Manual of Equine Reproduction*. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier 3a edition.
- Brito, L. (2007). *Evaluación de la morfología del esperma de semental*. Pensilvania.
- Bustos Obregón, E., & Torres Díaz, L. (2012). Reproducción Estacional del Macho. *International Journal of Morfhology*, 1266-1276.
- Cabrera, P., Sánchez, R., & Risopatrón, J. (2014). Selección espermática en semen congelado/descongelado de equino: Evaluación de las membranas plasmática, acrosomal

- y potencial de membrana mitocondrial. *International Journal of Morphology* 32 (2), 725-731.
- Carleton, C. L. (2011). *Equine Theriogenology*. Michigan: WILEY- BLACKWELL.
- Carroll, C. L., & Huntington, P. J. (1988). Body condition scoring and weight estimation of horses. *EQUINE VETERINARY JOURNAL*, 41-45.
- Castro Cruz, J. A., & Chacón Jaramillo, L. (2016). Aspectos generales del proceso de conservación de semen equino: Una revisión desde la congelación espermática. *CONEXIÓN AGROPECUARIA*, 45-64.
- Cepeda, L. G. (2014). "Optimización de las técnicas de acondicionamiento del semen equino para los procesos de conservación seminal". *Universidad Complutense de Madrid*.
- Chemineau, P., Guillaume, D., Miguad, M., Thiéry, J., Pellicer- Rubio, M., & Malpoux, B. (2008). Seasonality of Reproduction in Mammals: intimate Regulatory Mechanisms and Practical Implications. *Reproduction in Domestic Animals*, 40-47.
- Chenier T.S., Estrada A.T., & Koenig J.B. (2007). Theriogenology question of the month. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1469-1472.
- Clay CM., Squires EL., Amann RP., & Pickett BW. (1987). "Influences of Season and Artificial Photoperiod on Stallions: Testicular Size, Seminal Characteristics and Sexual Behavior.". *Journal of Animal Science*, 64 (2) 517-25.
- CONAGUA. (2015). "Actualización de la disponibilidad media anual de agua en el acuífero Cuahutemoc (0805) Estado de Chihuahua". *CONAGUA*.
- Cortés Vidauri, Z., Arréchiga Flores, C., & Rincón Delgado, M. (2018). El Ciclo Reproductivo de la Yegua. *SciELO*.
- Crespo F., Wilson R., Díaz-Jiménez M., Consuegra C., Dorado J., García B., . . . Johnston S. (2020). "Effect of Season on Individual Stallion Semen Characteristics.". *Animal Reproduction Science*, 223.
- Damalu, C. S. (2012). "Métodos tradicionales y alternativos de extracción de semen". *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias (RCCV)* 6 (2), 125-34.
- Dascanio, J., & McCue, P. (2014). *Equine reproductive procedures*. Garshintong Road: Wiley Blackwell.
- Davies Moriel, M. C. (2005). *Fisiología de la Reproducción de los Equinos, Cria y Manejo de la Yeguada*. Zaragoza: Acribia, Editorial, S.A.,.
- Díaz, Ó. H., & Díaz T., A. (1989). Sexualidad y control reproductivo en equinos. *Biblioteca Digital de la Universidad de Chile*, 81-84. Obtenido de Biblioteca Digital de la Universidad de Chile.
- Diekman MA; Brown W; Peter D; Cook D. (2002). Seasonal serum concentration of melatonin in cyclic and noncyclic mares. *Journal of Animal Science.*, 2949-2952.

- Dorado J., Acha D., Ortiz I., Gálvez MJ., Carrasco JJ., Gómez-Arrones V., . . . Hidalgo M. (2014). "Effect of Extender and Amino Acid Supplementation on Sperm Quality of Cooled-Preserved. *Animal Reproduction Science*, 146 (1-2) 79-88.
- Duque, J. E. (2017). "Criotolerancia de Semen Equino Congelado con Aditivos en el Diluyente Cryotolerance of stallion semen frozen with additives in the extender". *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 28 (1), 120-29. Obtenido de <https://doi.org/10.15381/rivep.v28i1.12944>.
- Fernando, A. S., Frederico C., J., Pérez O., L., & Chacón J., S. a. (2011). "Algunos aspectos de la eficiencia reproductiva correlacionados con el semental equino". *Revista Ciencia Animal*, 1 (4): 83–88.
- Galiana, C., & Valencia, J. (2012). *Reproducción de Animales Domésticos* (3a ed.). Ciudad de México: LIMUSA.
- Gamboa SA., Rodrigues AS., Henriques L., Batista C., & Ramalho-Santos J. (2010). "Seasonal Functional Relevance of Sperm Characteristics in Equine Spermatozoa". *Theriogenology*, 73 (7) 950-58.
- García, R. (2022). Comparación del volumen seminal y la concentración espermática en la época de la primavera y verano en caballos Cuarto de Milla. (*Tesis de Licenciatura*). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Torreón, Coahuila.
- Gonzalez, G. A. (2018). Evaluación de espermatozoides de equino mediante una prueba de resistencia osmótica. (*Tesis de Maestría*). Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, B.C., México.
- Gutierrez Cepeda, L. (2014). Optimización de las técnicas de acondicionamiento del semen equino para los procesos de conservación seminal. *Tesis*. Universidad Complutense Madrid, Madrid.
- Hafez, B., & Hafez, B. (2002). *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales* (7a ed.). Ciudad de México: McGraw-Hill Interamericana.
- Janett F., T. R. (2003a). "Seasonal Changes of Semen Quality and Freezability in Franches-Montagnes Stallions." . *Animal Reproduction Science*, 77 (3-4) 213-21.
- Janett, F., Thun, R., Bettschen, S., & Burger., D. (2003a). Seasonal changes of semen quality and freezability in Franches–Montagnes stallions. *Animal*, 77: 213-221.
- Janett, F., Thun, R., Burger, K., & Hassing, M. (2003b). *Seasonal changes in semen quality and freezability in the Warblood stallion* (Vol. 60). Switzerland: Theriogenology.
- Jaramillo, C. S. (2007). "Efectos de la centrifugación en la motilidad espermática del semen equino refrigerado". *Universidad San Francisco de Quito*.
- Jaramillo, C. S. (2014). Efectos de la centrifugación en la motilidad espermática del semen equino refrigerado. *Tesis*. Universidad San Francisco de Quito, Quito.

- Kandiel MMM., & Khawagah ARM. (2018). "Evaluation of Semen Characteristics oxidative Stress, and Biochemical Indices in Arabian Horses of different Ages during the Hot Summer Season". *Iranian Journal of Veterinary Research*, 19 (4) 270-75.
- Leme, D. P. (2012). Reproductive characteristics of stallions during the breeding and non-breeding season in a tropical. *Trop Anim Health Prod*, 44: 1703-1707.
- Lozano, B. D., Huerta L., G., & Álvarez San Martín, C. (2011). *Efecto de la adición de plasma seminal en el semen equino descongelado*. Valencia: Sanid. mil. 67 (3).
- Lozano, H. (2009). FACTORES QUE AFECTAN LA CALIDAD SEMINAL EN TOROS. *Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 258-272.
- Miró Arias, M., A. Vallecillo, J.M. León, & J.L. Vega Pla. (2011). "Efecto del semental sobre las características seminales del caballo de las Retuertas". *Archivos de Zootecnia*, 60 (231): 345-48.
- Morell, J. M. (1997). "CASA as an aid to selecting sperm suspensions for artificial insemination in Callithrix jacchus". *Revista internacional de andrología*, 296: 287-96.
- Morell JM., Winblad C., Georgakas A., Stuhmann G., Humblott P., & Johannisson A. (2013). "Reactive Oxygen Species in Stallion Semen Can Be Affected by Season and Colloid Centrifugation". *Animal Reproduction Science*, 140(1-2) 62-69.
- Ortega Ferrusola, C. (2011). Factores implicados en la variabilidad individual en la respuesta a la congelación del eyaculado equino: estructura de subpoblaciones, estrés oxidativo y cambios apoptóticos. *Tesis Doctoral*. UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA, España.
- Ortega, F. C. (2011). Factores implicados en la variabilidad individual en la respuesta a la congelación del eyaculado equino: estructura de subpoblaciones, estrés oxidativo y cambios apoptóticos. (*Tesis de doctorado*). Universidad de Extremadura, Cáceres.
- Parra, R. L. (25 de Abril de 2018). *México entre los modelos oriental y occidental de medicina veterinaria para equinos*. Obtenido de UNAM-China Centro de estudios Mexicanos : <https://china.unam.mx/2018/04/25/mexico-entre-los-modelos-oriental-y-occidental-de-medicina-veterinaria-para-equinos/>
- Pereira LD., Ozanam PF., & Janett FR. (2012). "Reproductive Characteristics of Stallions during the Breeding and Non-Breeding Season in a Tropical Region.". *Tropical Animal Health and Production*, 44 (7): 1703-7.
- Pérez, D. D. (2017). "Freezing of equine semen under two schemes of addition of dimethylformamide Congelación de Semen Equino Bajo Dos Esquemas de Adición de Dimetilformamida". *Revista de investigaciones Veterinarias del Peru*. Obtenido de <https://doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13884>.
- Plas, E. e. (2000). Effects of aging on male fertility? *Experimental Gerontology*, 35 (5) 543-551.

- Restrepo, G. B. (2013). "Técnicas para el análisis de la fertilidad potencial del semen equino Techniques for analyzing the potential fertility of stallion semen". *Rev CES Med Zootec.*, Vol. 8. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=321428109006%0ACómo>.
- Reyes Luna , E. I. (2019). Características espermáticas del semen equino descogelado usando dos crioprotectores y su efecto según la época del año en Baja California. *Características espermáticas del semen equino descogelado usando dos crioprotectores y su efecto según la época del año en Baja California*. Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali.
- Rodríguez Nuñez, L. A. (2018). Características espermáticas del eyaculado de caballos cuarto de milla ubicados en la zona costa pacífico norte y valle de Mexicali en Baja California. *Características espermáticas del eyaculado de caballos cuarto de milla ubicados en la zona costa pacífico norte y valle de Mexicali en Baja California*. Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali.
- Roser, J. F., & Hughes, J. P. (1992). *Seasonal Effects on Seminal Quality, Plasma Hormone Concentrations, and GnRH-Induced LH Response in Fertile and Subfertile Stallions*. California: American Society of Anthropology.
- Rua, S., Quirino, M. A., Bartholazzi Junior, C. R., Nascimento Santoro, A., da Silva Ribeiro, P., & Hernando Ortíz Vega, M. (2016). Repeatability of the seminal and spermatozoa traits and fertility evaluation of stallions. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 11, 124-131.
- Salazar-Ortiz J, C. S. (2011). Effect of nutritional cues on the duration of the winter anovulatory phase and on associated hormone levels in adult female Welsh pony horses (*Equus caballus*). *Reproduction, Biology, Endocrinology.*, 9: 30.
- Samper, J. (2009). *Equine Breeding management and artificial Insemination*. Missouri: SAUNDERS ELSEVIER.
- Sánchez, C. E. (2019). "Motilidad progresiva del semen equino post descongelación usando dos criopreservadores". *Tesis de Maestría*. Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali.
- Serrano Q., A. (1982). *Conceptos sobre la reproducción de los bovinos*. Turrialba (Costa Rica): CATIE.
- Tejerina, F., Morrell, & Jane, A. M. (2009). "Assessment of motility of ejaculated stallion spermatozoa using a novel computer-assisted motility analyzer (qualisperm)". *Anim. Reprod.*, 380-85.
- Thundathil, J. C., Rajamanickam, G., Kastelic, J., & Newton, L. (2012). The Effects of Increased Testicular Temperature on Testis-Specific Isoform of Na⁺/K⁺-ATPase in Sperm and its Role in Spermatogenesis and Sperm Function. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 170- 177.
- Vélez, A. (2016). Comparación del Efecto de la Centrifugación con Coloide Equipure y del Protocolo de Refrigeración sobre la Viabilidad de la Célula Espermática en Caballo Criollo Colombiano utilizando dos medios diluyentes (Kenney, Botuspecial). *Tesis*. Universidad de La Salle, Bogotá.
- Veloz Veloz, D. M. (2017). *Evaluación de la calidad espermática de reproductores bovinos mediante el uso de sistemas de evaluación seminal convencional y sistema CASA (análisis*

seminal asistido por computadora) y su respuesta con la fertilidad por inseminación artificial. Cuenca.

Vianna, W., Gonçalves, B., Namindome, A., Campos, A., Henrique, P., Mazza, P., . . . Moretti, A. (2004). Estudo Comparativo da Eficiência de Diferentes Técnicas de Mensuração da Concentração Espermática em Suínos Efficiency of Different Measurement Techniques of Sperm Concentration in Swine. *R. Bras. Zootec.*, 33(6):2054-2059.