

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



Comparación del volumen seminal y la concentración espermática en la época de primavera y verano en caballos Cuarto de Milla

Por:

Roberto Garcia Aparicio

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México Septiembre 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Comparación del volumen seminal y la concentración espermática en la época
de primavera y verano en caballos Cuarto de Milla

Por:

Roberto Garcia Aparicio

TESIS

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

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA


Dr. Oscar Ángel García
Presidente

Aprobada por:

Dra. Ma. Guadalupe Calderón Leyva
Vocal

Dr. Alan Sebastián Alvarado Espino
Vocal

Dra. Viridiana Contreras Villarreal
Vocal Suplente


M.C. JOSÉ LUIS P.C. SANDOVAL ELÍAS
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México Septiembre 2022



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Comparación del volumen seminal y la concentración espermática en la época
de primavera y verano en caballos Cuarto de Milla

Por:


Roberto Garcia Aparicio

TESIS

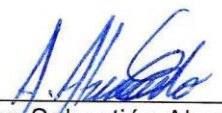
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

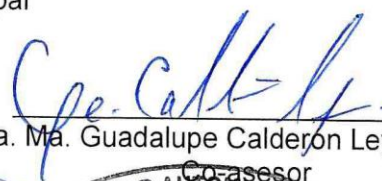
Aprobada por el Comité de Asesoría:




Dr. Oscar Angel García
Asesor Principal



Dr. Alan Sebastián Alvarado Espino
Co-asesor



Dra. Ma. Guadalupe Calderon Leyva
Co-asesor



M.C. JOSÉ LUIS FCO. SANDOVAL ELÍAS
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México Septiembre 2022

AGRADECIMIENTOS

A DIOS le agradezco por haberme conservado con vida y haberme permitido terminar este sueño de convertirme en todo un profesional. Por la salud que me ha permitido conservar y le pido que me preste más tiempo de vida para disfrutar de mi familia y mi profesión.

A MI ALMA TERRA MATER gracias por haberme permitido formar como profesional, yo te prometo llevarte siempre en mi corazón y destacar en mi vida profesional.

A mis padres Alvaro Garcia serrano y Maria Esther Aparicio Ochoa por el apoyo incondicional que me brindaron para concluir una etapa de mi formación profesional.

A mis hermanos Ildefonso Garcia Aparicio y patricia Garcia Aparicio por ser un ejemplo a seguir y por creer siempre en mí.

A mi asesor de Tesis al Doctor Oscar Ángel García por apoyarme y ser un gran ejemplo y amigo.

A los profesores y Mvz que creyeron en mí, me brindaron de su conocimiento y todo su apoyo, por ser una parte importante en la realización de mi formación profesional.

A mis compañeros y amigos; Herbert Leonel Almanza rivera, Ángel Pérez Bustos por permitirme tomar lo mejor de cada uno, por brindarme la mano y otorgarme su amistad.

A todas las personas que de alguna u otra manera me brindaron su apoyo en alguna de las etapas de mi formación profesional.

DEDICATORIA

A mis padres Alvaro Garcia Serrano y Maria Esther Aparicio Ochoa, les dedico mi tesis por ser mis pilares siempre, por sus consejos, tiempo, su amor incondicional y por su apoyo durante mi carrera.

A mis hermanos Ildelfonso Garcia Aparicio y Patricia Garcia Aparicio, por ser un ejemplo a seguir, por esos tiempos de reflexión, convivencia familiar y siempre tener su apoyo incondicional.

A mi alma mater por su cobijo dentro de sus aulas y los grandes conocimientos que en ella adquirí y ser parte de su historia.

Por último, dedico este trabajo a todos los maestros que siempre creyeron en mí y me dieron uno a uno sus conocimientos por lo cual son una parte muy importan de mi formación profesional.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIA	ii
ÍNDICE DE CONTENIDO	iii
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN.....	vii
1.1 HIPÓTESIS	3
1.2 OBJETIVO.....	3
II REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Anatomía del tracto reproductor del macho equino	4
2.2 Órganos reproductores internos.....	4
2.2.1 Testículos.....	5
2.2.2 Epidídimo	5
2.2.3 Conducto deferente.....	6
2.2.4 Glándulas sexuales accesorias.....	6
2.2.5 Uretra.....	7
2.3 Órganos reproductores externos.....	7
2.3.1 Escroto	7
2.3.2 Pene	7
2.3.1 Prepucio.....	8
2.4 Espermatogénesis.....	9
2.5 Fases de la espermatogénesis	10
2.5.1 La fase proliferativa	10
2.5.2 La fase meiótica.....	10
2.5.3 La fase de diferenciación o fase espermatogénica.....	11
2.5.4 Espermiación.....	11
2.6 Pubertad	12
2.7.1 Estacionalidad en el Macho	13
2.8 Estacionalidad reproductiva en diferentes latitudes	13
2.9. Endocrinología de la reproducción	15
2.9.1 Evaluación del Semen.....	17

2.8.1 Evaluación macroscópica del semen	18
2.8.2 Evaluación microscópica del semen	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
3.1 Lugar de estudio	21
3.2 Recolección de semen	21
3.3 Evaluación seminal	25
3.3. 1 Determinación del volumen eyaculatorio libre de gel	25
3.3.2 Determinación de la concentración espermática.....	25
3.3.3 Determinación de la motilidad espermática	26
IV. RESULTADOS	27
V. DISCUSIÓN.....	28
V CONCLUSIONES	29
VI LITERATURA CITADA	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Efecto de la época del año sobre el volumen y concentración espermática de caballos Cuarto de Milla en el norte de México.....	27
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Tracto reproductivo del macho equino vista de disección sagital.....	4
Figura 2 El sistema tubular del testículo.....	5
Figura 3 Esquema de la relación de las glándulas accesorias con respecto al hueso de la pelvis	6
Figura 4 Estructuras del pene y el prepucio del semental.....	8
Figura 5 Fases de la espermatogénesis: espermacitogénesis, espermatidogénesis, espermiogénesis, espermiación	11
Figura 6 Yegua en celo dentro del chut para estimular al semental.....	22
Figura 7 Vagina artificial tipo Missouri.....	22
Figura 8 Semental olfateando a yegua.....	23
Figura 9 Lavado y secado del pene del semental.	24
Figura 10 Semental montado en el dummy y operario colectando con vagina artificial tipo Missouri.	24
Figura 11 Filtrado del eyaculado para la eliminación de gel e impurezas y medición de volumen.	25
Figura 12 Fotómetro SDM 1 para análisis de la concentración de semen	26
Figura 13 Evaluación de la motilidad espermática, utilizando una termoplatina para mantener las laminillas temperadas a 37°C.	26
Figura 2 Concentración de melatonina en yeguas con largo y corto periodo de horas oscuras durante el día (adaptado de Salazar-Ortiz et al 2011).....	14

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue comparar el volumen seminal y la concentración espermática en la época de primavera y verano en caballos Cuarto de Milla. El presente estudio se llevó a cabo en el norte de México (26° LN), se utilizaron 5 sementales en los que se evaluó el volumen y la concentración seminal del 2020 al 2022. El volumen (39.3 ± 2.2) no difirió ($P > 0.05$) entre las épocas (primavera, verano) del año. Sin embargo, la concentración fue mayor en verano ($153 \pm 12 \times 10^6/\text{mL}$) que en primavera ($108 \pm 5.0 \times 10^6/\text{mL}$; $P < 0.05$). Los resultados del presente estudio demuestran que la época del año influye en la concentración espermática de los caballos Cuarto de Milla en el norte de México.

Palabras clave: Concentración espermática, volumen del eyaculado, caballos Cuarto de Milla.

I INTRODUCCIÓN

La población de equinos en México es alrededor de 6,257,978 cabezas, la crianza de estos animales tiene diferente fin zootécnico, como la reproducción, deporte, charrería, trabajo, etc. Lo anterior, va de acuerdo con el tamaño, peso, y complexión física lo cual determina el trabajo que desempeñan estos animales (Vázquez *et al.*, 2017). En la cría ecuestre, el semental representa el mayor valor económico y responsabilidad en el mejoramiento genético del criadero, por el hecho de ser el único exigido para cubrir un gran número de yeguas. 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 *et al.*, 2011).

La evaluación en caballos jóvenes candidatos a la cría para la difusión de razas a nivel local y regional en crianza natural y/o con el uso de reproducción asistida (Vázquez *et al.*, 2017), con las características genotípicas deseadas, lo cual permitirá el nacimiento de un potro con fenotipo y habilidades deportivas y carácter escogidos por el criador (Vélez, 2016).

La evaluación del potencial de fertilidad del macho se basa en el análisis de las características espermáticas básicas (concentración, motilidad y morfología). Así, el estudio de la morfología espermática es un elemento fundamental en el análisis seminal, sin embargo, esta ha sido sesgado por las diversas técnicas que son utilizadas en la evaluación seminal (Gacem *et al.*, 2021). Lo anterior, es fundamental en la determinación de la capacidad fecundante del semen para lograr optimizar los resultados de las tecnologías de reproducción asistida que se aplican en los programas de crianza en la especie equina (Betancur y Cadavid, 2013).

Por otra parte, para determinar la capacidad reproductiva del semental, es primordial conocer la anatomía y fisiología del aparato reproductor del macho principalmente los testículos, epidídimos, conductos deferentes, ampollas deferentes, uretra, glándulas accesorias (próstata, glándulas vesiculares y glándulas bulbouretrales), pene y prepucio, los cuales presentan diferencias anatómicas (Figura 1) entre las especies (Galina y Valencia, 2008). Por lo anterior, en la actualidad se han desarrollado diversos métodos para llevar a

cabo el análisis de la calidad seminal, a través de nuevos métodos y técnicas. Por ejemplo, el sistema de análisis de semen asistido por computador (CASA) permite que la evaluación espermática ya sea de manera objetiva y precisa, incluyendo la determinación de nuevas variables en la motilidad espermática (Betancur y Cadavid, 2013).

1.1 HIPÓTESIS

El volumen seminal y la concentración espermática de caballos Cuarto Milla difiere entre primavera y verano.

1.2 OBJETIVO

Comparar el volumen seminal y la concentración espermática entre las épocas de primavera y verano en caballos Cuarto de Milla

II REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Anatomía del tracto reproductor del macho equino

El examen reproductivo del macho no se debe solo evaluar las características del semen, sino también la habilidad, el estado físico general del garañón y la condición de monta (Porta *et al.*, 2009). Se debe conocer el funcionamiento de cada uno de los órganos del sistema reproductor del garañón, esto nos lleva a tener mejores resultados en el ámbito reproductivo (Giraldo *et al.*, 2006; Betancur y Cadavid, 2013).

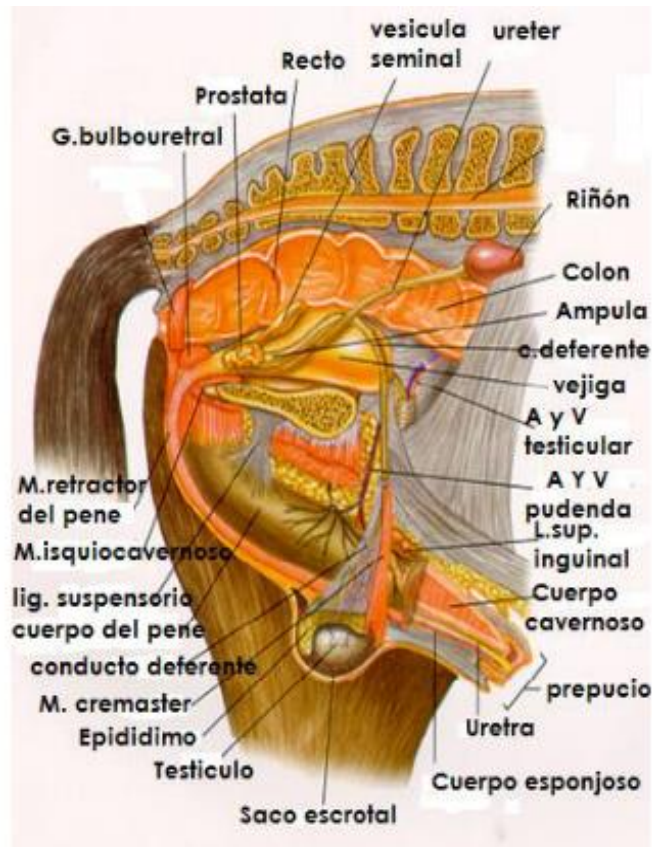


Figura 1. Tracto reproductivo del macho equino vista de disección sagital (Tomado de Luna, 2019).

2.2 Órganos reproductores internos

2.2.1 Testículos

La gónada del macho es el sitio donde se producen los espermatozoides, ello dispone una alta actividad endócrina (Boeta *et al.*, 2018), de la hormona masculina como la testosterona. La forma de los testículos es ovoide, de acuerdo a la edad y raza del semental puede variar el tamaño del testículo. Este va desde 50 a 80 mm. de ancho, de 80 a 140 mm. de longitud, y pueden pesar 225 g. La túnica albugínea son las bolsas que envuelven al testículo, después se encuentra la túnica vaginal, que recubre al testículo y al cordón espermático. El músculo cremaster es introducido en el borde dorsal del testículo (Galina y Valencia, 2008; Porta *et al.*, 2009).

Los túbulos seminíferos se unen y juntan en el borde de la unión del testículo, aquí es donde varios conductos atraviesan la albugínea y penetran en la cabeza del epidídimo. La arteria espermática, es una rama de la aorta posterior, lleva sangre al testículo y sale en forma de vena espermática. El testículo esta innervado por el nervio espermático, cuyo origen es parasimpático (Hafez, 2000).

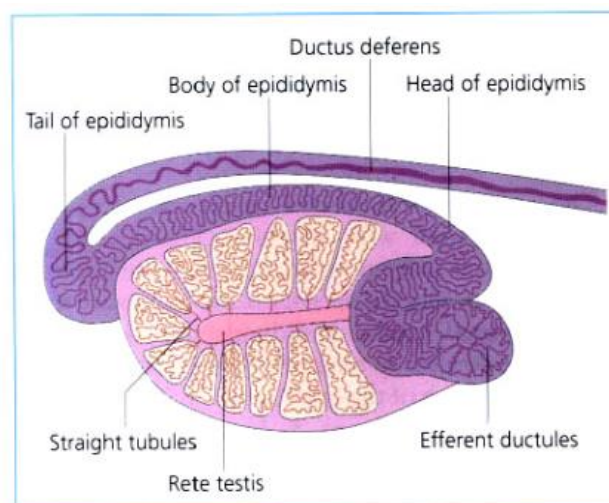


Figura 2. El sistema tubular del testículo (Tomado de Blanc *et al.*, 2003)

2.2.2 Epidídimo

El epidídimo se divide en tres regiones: cabeza, cuerpo y cola. Los túbulos seminíferos (alrededor de 13-15) se reúnen al atravesar la túnica albugínea en un conducto único para formar la cabeza. El cuerpo está adherido a la parte dorsal del testículo. La cola se localiza en la extremidad inferior del testículo la cual continúa en el conducto deferente, este se incorpora al cordón

espermático junto con los vasos sanguíneos y linfáticos del testículo, para llevar el semen hacia la uretra (figura 2), (Porta *et al.*, 2009). El epidídimo tiene como función almacenar, madurar y transportar los espermatozoides hacia los conductos deferentes (Porta *et al.*, 2009).

2.2.3 Conducto deferente

Es una continuación de la cola del epidídimo donde los espermatozoides se transportan desde la cola del epidídimo hasta la uretra a través del conducto deferente, es un conducto pequeño que se encuentra rodeado de una capa muscular (Blanc *et al.*, 2003). La luz de este conducto es de 4-5mm es constante, aunque la pared se engruesa para formar la ampolla unos 18mm antes de la entrada a la uretra, esto se debe a la presencia de numerosas glándulas en la vesícula. La unión de la uretra es conjunta con los conductos excretores de las vesículas seminales (Hafez, 2000).

2.2.4 Glándulas sexuales accesorias

Las glándulas sexuales accesorias se componen de 2 glándulas vesiculares, próstata y 2 glándulas bulbo uretrales; las glándulas vesiculares son sacos alargados y huecos, miden de 15 a 20 cm de largo y 5 cm de diámetro. La próstata es una glándula simple, nodular, con dos lóbulos estrechos, conectada por un istmo delgado.

Las glándulas bulbo uretrales se encuentran en cada lado de la uretra pélvica cerca del arco isquiático (Blanc *et al.*, 2003).

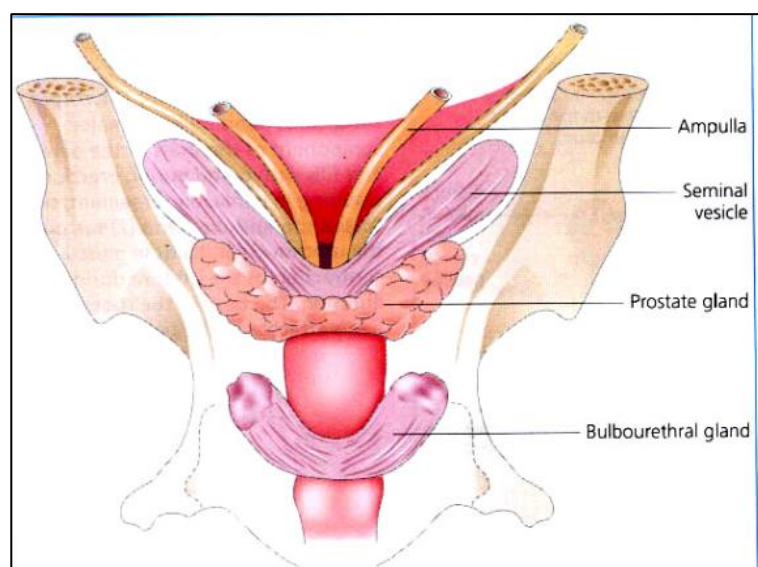


Figura 3. Esquema de la relación de las glándulas accesorias con respecto al hueso de la pelvis (Tomado de Blanc *et al.*, 2003).

2.2.5 Uretra

La uretra es un tubo que se extiende de la vejiga hacia la última porción del pene, la porción pélvica de la uretra está cubierta por un músculo delgado llamado músculo uretral, que se contrae vigorosamente durante la eyaculación. La uretra termina en una extensión libre llamada proceso uretral. La uretra dentro del pene se encuentra rodeada por el cuerpo esponjoso, que es un área cavernosa de tejido eréctil. La uretra sirve como canal excretorio de la orina y el semen (Boeta *et al.*, 2018).

2.3 Órganos reproductores externos

2.3.1 Escroto

El escroto es una bolsa de piel conformado por dos sacos divididos por un rafe central. Está conformado por cuatro capas, la capa exterior es la piel que es más delgada que el resto del cuerpo. Debajo de la piel se encuentra la túnica dartos, está formada por músculo liso y tejido conectivo. La tercera capa o fascia escrotal está formada por tejido conectivo laxo, esta capa proporciona una gran movilidad al testículo dentro del escroto. La capa más interna es la túnica vaginal, es un saco membranoso que se extiende desde la cavidad abdominal y pasa a través del anillo inguinal hasta el final del escroto. Parte de esta membrana cubre parte del testículo y el epidídimo, también es parte del cordón espermático. El escroto se encarga de revestir y proteger a los testículos, epidídimo, cordón espermático y músculo cremáster; también juega un papel vital en la termorregulación gonadal (Jaramillo, 2007).

El sistema circulatorio del escroto está constituido por ramas de la arteria y vena pudenda externa. La linfa es dirigida hacia el nódulo linfático inguinal superficial. La inervación se deriva de las ramas ventrales de los nervios lumbares segundo y tercero (Galina y Valencia, 2008).

2.3.2 Pene

El pene del caballo mide alrededor de 50 cm. de largo y de 3 a 6 cm. de diámetro. Durante la erección el pene dobla su tamaño, tiene forma cilíndrica y ligeramente comprimido lateralmente. Este se divide en tres porciones: la raíz que se encuentra adherida al hueso de la pelvis; el cuerpo, es la porción principal del pene; y el glande que es su parte terminal (Hafez, 2000).

La raíz del pene está adherida firmemente al arco isquiático gracias a dos fuertes ligamentos crurales; el pene del caballo es del tipo músculo cavernoso, debido a que el tejido eréctil está compuesto predominantemente de espacios cavernoso en lugar de travéculas de tejido fibroso (como en el caso del pene fibroelástico del toro), (Hafez, 2000; Galina y Valencia, 2008).

El pene está compuesto de tres cuerpos cavernosos: el cuerpo cavernoso del pene, el cuerpo esponjoso, y el cuerpo esponjoso del glande. El cuerpo cavernoso del pene se extiende a todo lo largo del cuerpo del pene y está cubierto por la gruesa túnica albugínea. La erección precopulatoria del caballo, se debe principalmente a la acumulación de sangre, provocada por la dilatación de las arterias, vasos y nervios asociados al pene que irrigan los cuerpos cavernosos, causada por la excitación sexual (Jaramillo, 2007; Brinsko *et al.*, 2011).

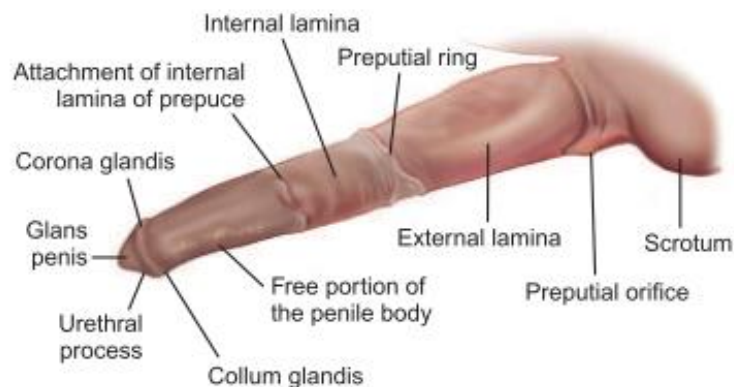


Figura 4. Estructuras del pene y prepucio del semental (Brinsko *et al.*, 2011)

2.3.1 Prepucio

El prepucio cubre y protege el pene no erecto a diferencia de otras especies el prepucio del caballo se dobla alrededor del pene no erecto formando dos sacos distintivos; un prepucio externo y otro interno. El prepucio externo consiste de una lámina interna y externa que convergen para originar el orificio prepucial. Únicamente la lámina externa del prepucio externo está expuesta cuando el pene no está extendido, el prepucio externo del caballo es igual al de las otras especies domésticas; sin embargo, su lámina interna no se adhiere directamente al pene del caballo, sino que continúa como el prepucio interno, que está compuesto también por una lámina interna y otra externa, que forman

el anillo prepucial. El prepucio interno separa la cavidad prepucial en dos compartimientos separados (Brinsko *et al.*, 2011).

2.4 Espermatogénesis

Es el proceso cronológicamente organizado que involucra la multiplicación y diferenciación de las células germinales (espermatogonias) localizadas en el epitelio seminífero del testículo, que resulta en la formación de células especializadas llamadas “espermatozoides” que constituyen el gameto del macho (Galina y Valencia, 2008; Boeta *et al.*, 2018).

Los espermatozoides son células extremadamente especializadas y experimentan cambios genéticos, moleculares y fisiológicos que no se observan en otras células, es una célula haploide altamente diferenciada, que tiene por función transportar el genoma del macho y fusionarse con el gameto de la hembra (el ovocito), para dar lugar a un nuevo individuo diploide y propagar así la especie. Desde el punto de vista evolutivo, los espermatozoides constituyen un modelo celular de interés excepcional, ya que se encuentran entre las células más divergentes de los seres vivos, presentando tamaños y formas muy variadas (Rodríguez, 2018 Sánchez, 2019).

En todos los mamíferos la espermatogénesis depende del eje hipotálamo-hipófisis- testículo, en donde se involucran 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 otro lado la secreción de la hormona liberadora de gonadotropina, de las hormonas de la pituitaria anterior, LH, FSH y las hormonas testiculares como los andrógenos y la inhibina. La testosterona es muy importante ya que mantiene y restaura el proceso de espermatogénesis en los testículos de animales adultos, mientras que la LH estimula la síntesis androgénica en las células de Leydig de los testículos estos andrógenos regulan localmente la producción espermática y realizan una retroacción negativa hacia el hipotálamo para controlar la liberación de GnRH y así la expansión de la espermatogénesis en la pubertad (Blanc *et al.*, 2003; Galina y Valencia, 2008).

La espermatogonia juega un papel fundamental en la regulación de la espermatogénesis, sin embargo, sus detalles siguen siendo relativamente

oscuros en especies no roedores. El testículo equino contiene aproximadamente un 100% más de espermatogonias en el verano que en el invierno y parece ser un buen modelo para identificar los componentes flexibles de la espermatogénesis que causan cambios estacionales en la producción diaria de espermatozoides en el semental, las diferencias estacionales son mayores en el número de espermatogonias que en la producción de espermatozoides (Brinsko *et al.*, 2011).

2.5 Fases de la espermatogénesis

La espermatogénesis se puede dividir en espermatocitogénesis, espermatidogénesis (meiosis), espermiogénesis y espermiación (Vera, 2018), en el caballo, esta secuencia dura aproximadamente de 55 a 57 días (Boeta *et al.*, 2018).

2.5.1 La fase proliferativa

Espermatocitogénesis es un ciclo de proliferación de las espermatogonias por medio de la mitosis para producir espermatocitos primarios y al mismo tiempo generar nuevamente un número propio y continuar con la línea de células germinales, con una duración de 19.5 días en los caballos (garañones) (Galina y Valencia, 2008).

2.5.2 La fase meiótica

Espermatidogénesis es la segunda fase donde comienza la división meiótica, mediante la cual el espermatocito primario diploide va a originar dos espermatocitos secundarios donde ocurren los cambios de material genético de los pares de cromosomas las fases de esta división son iguales a los que ocurren en la meiosis de la hembra. Durante este periodo no solo se realiza la reducción en el número de cromosomas somáticas sino también los cromosomas sexuales. Se separan de manera que un espermatocito secundario recibe el cromosoma X y el otro el cromosoma Y. En la segunda división meiótica de cada espermatocito secundario se produce dos espermatidas originando las espermatides haploides, que son células de mayor tamaño y más diferenciadas teniendo una duración de 19.4 días (Boeta *et al.*, 2018).

2.5.3 La fase de diferenciación o fase espermatogénica

La espermiogénesis es la porción de la espermatogénesis que implica la maduración y transformación estructural de las espermatidas redondas en espermatozoides que poseen una cabeza aplanada con el núcleo condensado y una vesícula con enzimas especializadas y la cola que es necesaria para la motilidad. Estos cambios ocurren cuando las espermatidas están en contacto con las células de Sertoli, esta fase no involucra divisiones celulares y tiene una duración de 18.6 días (Hafez, 2000; Galina y Valencia, 2008).

2.5.4 Espermiación

En esta última fase se rompen las uniones de la espermatida madura y las células de Sertoli quedando liberada al lumen de los túbulos seminíferos, donde finalmente ocurre la maduración y adquieren la habilidad de fertilización, proceso que dura de 9 a 14 días. Es entonces que los espermatozoides presentes en el eyaculado se han producido de los eventos ocurridos en 2 meses anteriores que influyeron en transporte y maduración de los espermatozoides a través del epidídimo (Luna, 2019; Sánchez, 2019).

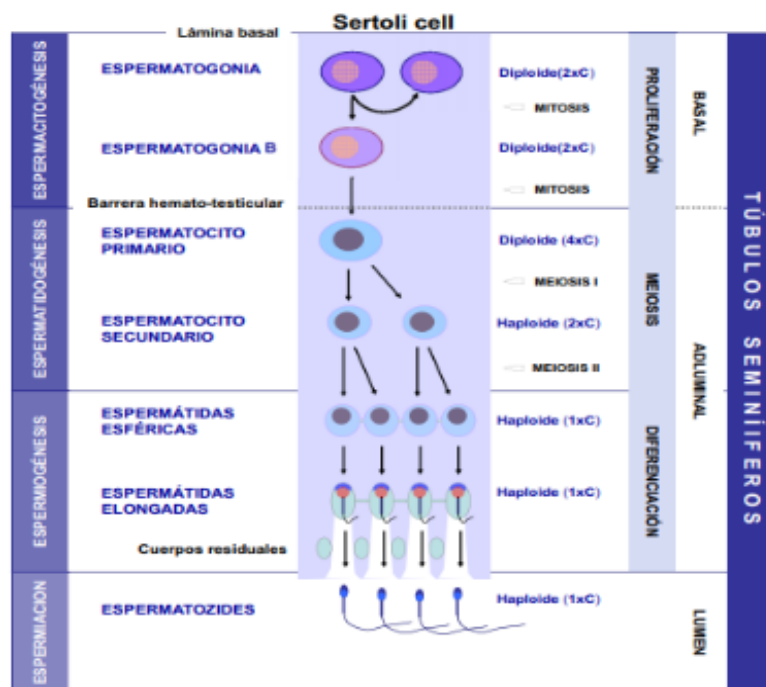


Figura 5. Fases de la espermatogénesis: espermatocitogénesis, espermatidogénesis, espermiogénesis y , espermiación (Tomado de Luna, 2019).

2.6 Pubertad

La pubertad marca el inicio de la vida reproductiva del animal, es cuando el macho es capaz de liberar gametos viables durante la primera eyaculación lo que permite integrar al individuo a su ciclo productivo, la edad en que los caballos alcanzan la pubertad varía de los 12 a los 24 meses dependiendo de raza unas son más precoces que otras (Boeta *et al.*, 2018), el estado nutricional y la estación de nacimiento también pueden influenciar éste proceso (Jaramillo, 2007). **2.7 Estacionalidad Reproductiva** La estacionalidad es una característica de adaptación que han desarrollado algunas especies para hacer más eficiente la reproducción y la supervivencia de las crías (Blanc *et al.*, 2003; Boeta *et al.*, 2018).

Las yeguas presentan particularidades en la fisiología reproductiva, la principal es que es poliestrica estacional de fotoperiodo largo, presenta ciclos de duración variable del ciclo estral en las yeguas es de aproximadamente 21 ± 3 días, se describe comúnmente como una combinación de una fase folicular, o celo donde la yegua es receptiva al semental y comprende de 5-7 días, este es muy variable ya que al final de la etapa reproductiva la duración es de 7 a 12 días y alrededor del solsticio de verano es más corto durando de 3 a 4 días, y una fase lútea o diestro donde no existe aceptación y este finaliza con la regresión del cuerpo lúteo debido a la liberación de prostaglandinas (PGF 2α) en el endometrio, con una duración de 14-15 días (Boeta *et al.*, 2018).

Generalmente, los cambios en las características seminales del caballo y su comportamiento sexual, causado por la estación, coinciden con la estación reproductiva de la yegua. Los principales factores que determinan la producción espermática son la época del año, la talla testicular y la frecuencia de eyaculación, Brinsko *et al.* (2011) señalaron variaciones en las características seminales del caballo, por los efectos estacionales con variaciones en el número de espermatogonias, espermatoцитos y producción diaria de semen (Andrade *et al.*, 2011).

Como resultado en el hemisferio norte, las concentraciones de hormonas sexuales en plasma periférico muestran un patrón estacional definido con un

aumento que comienza en febrero, máximo en abril y mayo y valores bajos nuevamente en el período de octubre a noviembre (Luna, 2019).

2.7.1 Estacionalidad en el Macho

El macho es menos afectado que la hembra por los cambios propios de cada época del año, ya que su función reproductiva no necesariamente se interrumpe durante la época de anestro o de descanso sexual, aunque la producción de las hormonas reproductivas, el tamaño y el tono testicular, la libido, las características cualitativas y cuantitativas del eyaculado y la fertilidad de los espermatozoides pueden verse disminuidas. El nivel de afectación depende del grado de estacionalidad de la raza y de la latitud. Hay que separar, por último, los efectos del fotoperiodo, de los nutricionales que también varían con la época del año (Boeta *et al.*, 2018).

Los garañones experimentan cambios fisiológicos durante la temporada no reproductiva que incluyen disminución en el tamaño testicular y disminución de la concentración de la testosterona en suero (Rodríguez, 2018) y se ha determinado que influye en la calidad seminal (Rua *et al.*, 2016).

2.8 Estacionalidad reproductiva en diferentes latitudes

La secreción reducida de melatonina, como ocurre en primavera y verano, permite la función del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (HHG), como resultado presenta ciclos estrales la yegua hasta lograr quedar preñada. Pero en cambio, el mayor periodo de secreción de melatonina, como sucede en otoño-invierno, época del año con mayor cantidad de horas oscuras, los folículos no alcanzan el crecimiento proporcionado para llevar a cabo la desviación o selección folicular; pues esto se debe a la reducción en la secreción de hormona luteinizante (LH); hormona relacionada con la desviación y maduración folicular (Berqfeld *et al.*, 2001; Collins *et al.*, 2007).

Los folículos ováricos se atresia y no ovulan; por lo tanto, no se llega a lo endocrinológico que conduce a la ovulación y la yegua permanece en anestro (Guillaume *et al.*, 1995).

Son dos periodos de transición: primavera y otoño (donadeu y Ginther, 2002; Ginther *et al.*, 2003). En primavera se lleva el periodo de transición a cabo del

anestro a la ovulación; esto se caracteriza por el incremento del crecimiento folicular y termina con la primera ovulación del año (Berqfelt et al., 2001; Donadeu y Ginther, 2002). El de otoño une las temporadas ovulatoria y de anestro; se caracteriza por la reducción del crecimiento folicular (Ginther et al., 2003).

La estacionalidad debe incrementarse en los animales mantenidos en los hemisferios y reducirse conforme se aproxima al Ecuador; y es un hecho que así sucede en las yeguas mantenidas en los hemisferios (Hughes et al., 1977; Sharp, 1980; Dowsett et al., 1993; Gentry et al., 2002) y alrededor del Trópico de Cáncer (Silva y Chávez, 1991; Orozco et al., 1992; Escobar, 1997); presentan una estacionalidad reproductiva más marcada que a menor latitud (González y Valencia, 1977; Saltiel et al., 1982 y en regiones cercanas al Ecuador (Quintero et al., 1995).

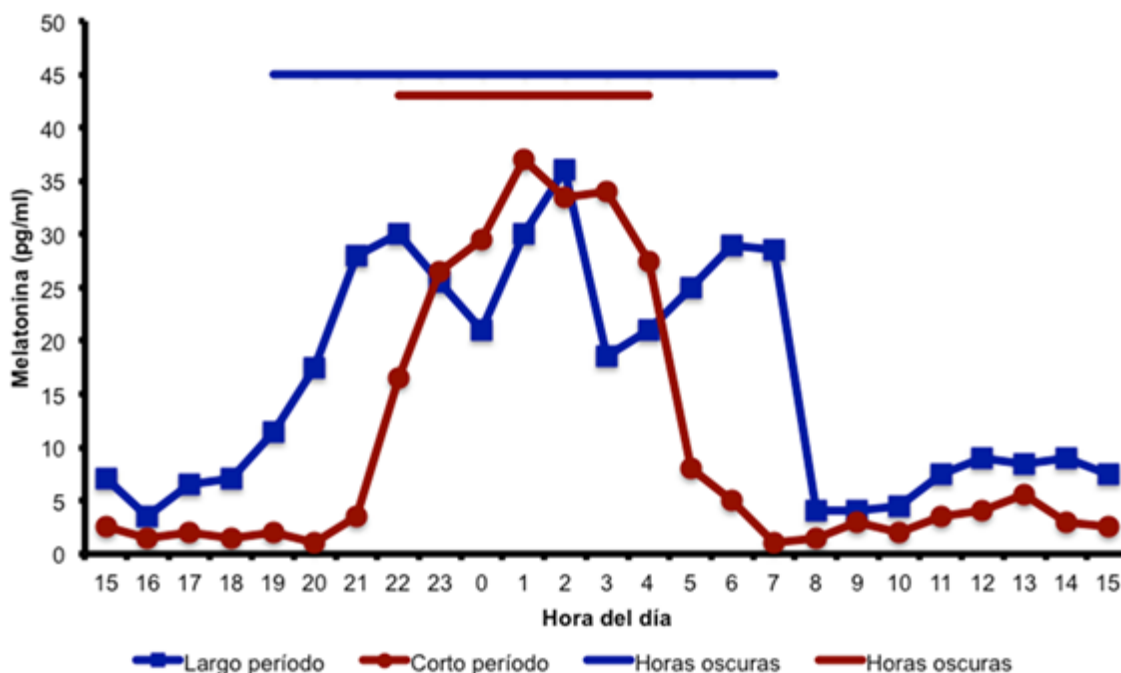


Figura 2. Concentración de melatonina en yeguas con largo y corto periodo de horas oscuras durante el día (adaptado de Salazar-Ortiz *et al.*, 2011).

2.9. Endocrinología de la reproducción

Se presenta en esta temporada (primavera) la concentración concierto hormonal que conduce a la ovulación (Irvine y Alexander, 1994), para conformar el intervalo interovulatorio. en el hipotálamo se produce GnRH, la cual estimula la secreción de gonadotropinas: hormonas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH), en el lóbulo anterior de la hipófisis (Alexander e Irvine, 1987).

Las gonadotropinas promueven el desarrollo folicular, la FSH hasta la desviación y LH hasta el nivel preovulatorio (Berqfelt et al., 2001). Los folículos producen estradiol e inhibina. El estradiol ejerce retroalimentación negativa sobre las gonadotropinas (Ginther et al., 2008) y la inhibina sobre FSH (Berqfelt y Ginther, 1985); además la LH se relaciona con la ovulación (Ginther, 1992). En las hembras sin gestación en la temporada con mayor cantidad de horas luz, las ovulaciones (acompañadas de celo) se repiten cada 21 días en promedio para constituir el ciclo estral (Ginther y Pierson, 1989; Ginther, 1992; Ginther et al., 2008).

Ocurre la ovulación y se desarrolla el cuerpo lúteo, el cual produce progesterona; y ejerce retroalimentación negativa sobre las gonadotropinas (Gastal et al., 1999). El hipotálamo también produce oxitocina, esta hormona se almacena y se secreta en el lóbulo posterior de la hipófisis (Lincoln, 1984) y estimula el endometrio para la producción de prostaglandina F2 α (Shand et al., 2000), la cual a su vez se encarga de la regresión del cuerpo lúteo al final del ciclo (Ginther y First, 1971; Stabenfelt et al., 1974; Ginther et al.,2008; Ginther y Beg, 2009), con la subsiguiente reducción de progesterona y una nueva oportunidad para que la yegua alcance en el nuevo ciclo estral (Neely et al., 1879).

La oxitocina también se produce en el útero (Watson et al., 1997; Stout et al., 2000; Allen, 2001), con lo cual se establece su secreción pulsátil; proceso importante en la luteólisis. Con base en lo anterior, los folículos ováricos crecen, maduran y ovulan debido al efecto de las gonadotropinas; y la yegua tiene la oportunidad de concebir y desarrollar la gestación (Gastal et al., 1997; Goudet et al., 1999; Crowell-Davis, 2007). El porcentaje de concepciones a través del año se presenta en la [Figura 4](#). Como consecuencia, los partos se presentan en la primavera, época del año con las condiciones apropiadas para la supervivencia de su descendencia.

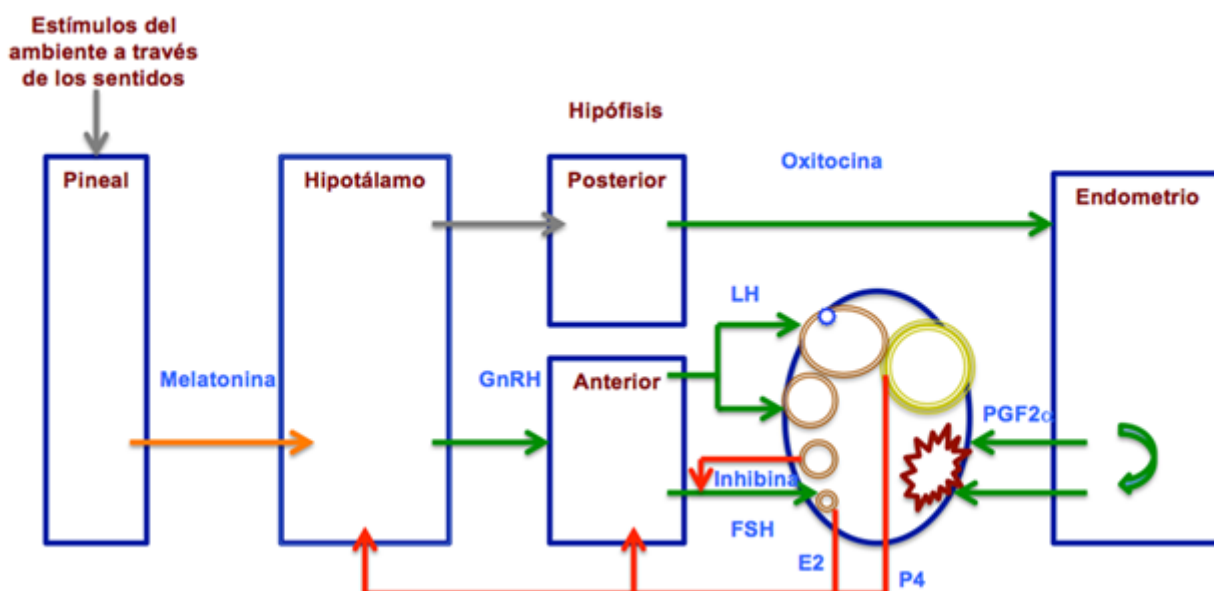


Figura 3. Neuroendocrinología del ciclo estral en la yegua.

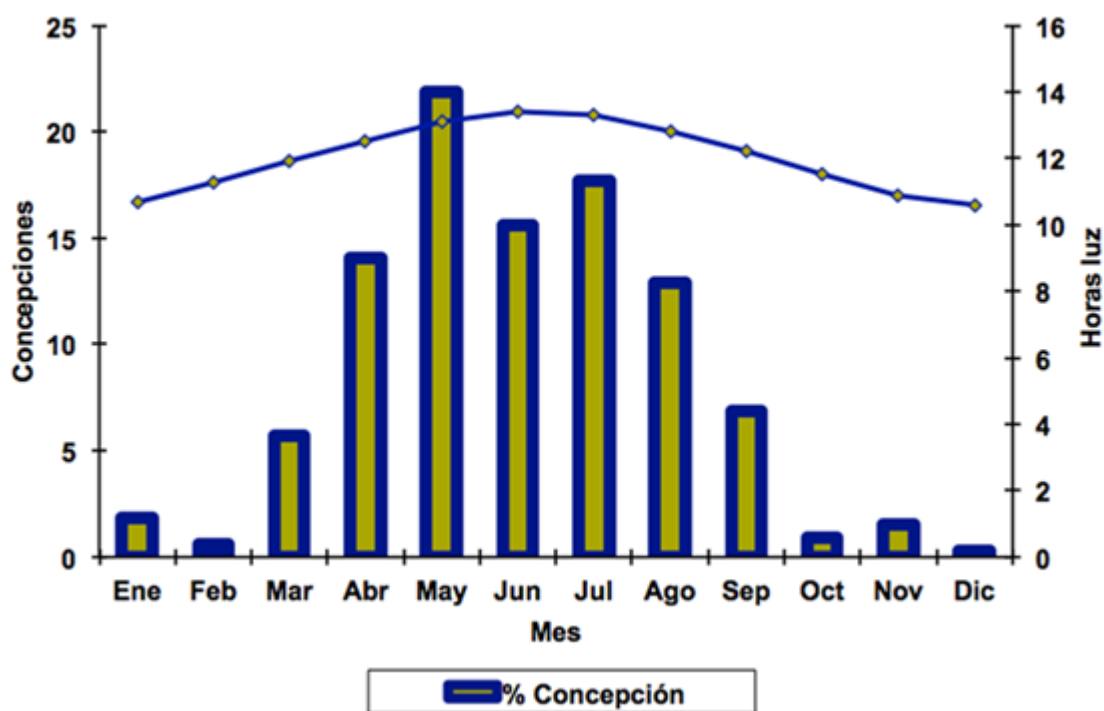


Figura 4. Porcentaje de concepción a través del año en yeguas mantenidas bajo fotoperiodo natural a 22° 58' (Escobar, 1997).

2.9.1 Evaluación del Semen

La importancia de señalar, que existe un alto grado de variabilidad en la calidad del semen entre los machos e incluso entre los eyaculados de un mismo animal (Cabrera *et al.*, 2014), la evaluación del semen equino debe comenzar inmediatamente después de la colecta (Jaramillo, 2007) y los indicadores de la fertilidad del semental son las tasas de gestación y natalidad, pero ambos son retrospectivos y están influenciados por factores independientes de la fertilidad del caballo como son la fertilidad de la hembra y el manejo reproductivo (Cepeda, 2014).

La determinación de las características cualitativas y cuantitativas del semen de aquellos animales que se utilizan o que se van a emplear en la reproducción, es uno de los aspectos fundamentales al evaluar la capacidad reproductiva de los machos (Castro y Chacón, 2016). La evaluación

macroscópica del semen comprende la apreciación del volumen, el color, el aspecto, el olor y el pH; mientras que la evaluación microscópica incluye la determinación de la concentración, la motilidad y la morfología espermáticas. Debe efectuarse en condiciones adecuadas de temperatura, entre 37 y 38 °C, el material que se utilice debe encontrarse limpio y seco, y estar a la misma temperatura a la que se mantiene el semen (Boeta *et al.*, 2018).

El espermatozoide de los mamíferos consta de 5 regiones; cabeza, cuello, pieza intermedia, pieza principal y pieza terminal. Tienen un núcleo condensado, una membrana plasmática sensible a cambios térmicos y osmóticos y las mitocondrias (Barroso, 2006). La cabeza del espermatozoide está formada por un núcleo, el acrosoma, estructuras del citoesqueleto y una pequeña cantidad de citoplasma. El cuello es la unión de la cabeza o pieza intermedia, está formado por capitulum, mitocondrias, centriolo proximal, columnas laminadas que ayudan a la flexibilidad y movimiento. El flagelo ayuda al movimiento y está formado por: pieza intermedia, pieza principal y pieza terminal, todos estos están formados por el axonema que es la estructura que hace el movimiento. El axonema está formado por micro túbulos (Vélez, 2016; Rodríguez 2018), la integridad de la membrana plasmática puede ser considerada como un indicador indirecto de la vitalidad de los espermatozoides (Lozano *et al.*, 2011; Betancur y Cadavid, 2013).

2.8.1 Evaluación macroscópica del semen

2.8.1.1 Volumen

Una vez separada la porción espermática del gel obtenido que también es variable, de no presentarse a estar en un volumen bastante elevado (Hafez, 2000; Cepeda, 2014) se procederá a la evaluación macroscópica, la cual provee una información estimada de la concentración y calidad del semen, el volumen, por sí solo no es un factor determinante en la fertilidad, es usado en el cálculo del número total de espermatozoides en el eyaculado. A pesar de que el volumen puede variar de acuerdo a la estación reproductiva así como por el uso como reproductor la media, es de 45 ±30 ml (Fernando *et al.*, 2011).

El volumen total de la eyaculación del caballo es en promedio de 60 a 70 ml con un rango de entre 30 y 300 ml. El pH del semen equino es ligeramente

básico, con un rango de 7.2 a 7.7, y se determina usando un potenciómetro preferentemente en la primera hora después de obtenido el semen (Miró *et al.*, 2011; Cepeda, 2014).

Son varios los factores que pueden afectar el volumen de semen obtenido en un semental como el individuo, la raza, la edad, la frecuencia de recogida, el nivel de estimulación o la época del año (Brinsko *et al.*, 2011).

El volumen obtenido se evalúa tras la recolección utilizando el mismo recipiente utilizado en la recogida (que consta de un filtro que permita eliminar la fracción gel y la mayor parte de la suciedad) o bien tras filtrarlo y transferirlo a un recipiente escalado y atemperado (Cepeda, 2014); el semen fresco equino tiene una apariencia opaca gris blanquecina y la detección de cambios en el color que puedan ser asociadas a la presencia de detritos, sangre u orina, que pueden afectar severamente la calidad del semen e indicar un desorden en el tracto reproductivo o urinario (Jaramillo, 2007).

2.8.2 Evaluación microscópica del semen

2.8.2.1 Motilidad

En la actualidad, el método más común para determinar la motilidad de los espermatozoides de los sementales es la estimación visual, usando el microscopio (Pérez *et al.*, 2017). La evaluación de la motilidad de los espermatozoides se considera un determinante importante en el semen del semental (Acuña, 2011; Sánchez, 2019) debido a su papel esencial para el transporte del material genético hasta el sitio de la fertilización (Sánchez, 2019).

Existen dos tipos de movimiento espermático, un movimiento activo, propio de los espermatozoides eyaculados y cuya finalidad es avanzar en el tracto reproductor de la hembra (Rodríguez, 2018), el patrón de motilidad progresiva en el caballo no es tan rectilíneo como en otras especies y el porcentaje normal de motilidad progresiva es de 75 %, con un rango de 60 a 95 % (Ortega, 2011; Sánchez, 2019).

La movilidad espermática es evaluada usando un microscopio óptico de contraste de fase y un ambiente térmico, la muestra se evalúa en función del

porcentaje de células en movimiento. Sin embargo, hay varios tipos de movimiento de los espermatozoides (vibratorio, circular, oscilatorio, progresivo lento y rápido), cuyas clasificaciones pueden ser empleadas para las diferentes especies (Betancur y Cadavid, 2013), el sistema CASA es capaz de determinar una serie de variables, incluyendo el número de espermatozoides en movimiento, velocidad curvilínea (VCL), velocidad lineal (VSL), coeficiente lineal (LIN), coeficiente de rectitud (STR), frecuencia de desplazamiento de la cabeza (BCF), etc. Las variables cinemáticas obtenidas del CASA, que no pueden ser determinadas por el ojo humano, son útiles para fines de investigación, permitiendo, por ejemplo, identificar subpoblaciones de espermatozoides que coexisten en un eyaculado de semental (Morrell, 1997; Tejerina *et al.*, 2009; Restrepo *et al.*, 2013).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de estudio

El estudio se realizó en el norte México (28° 25" LN y 106° 52" LO) a una altitud de 2,060 msnm (INAFED, 2015). El clima es considerado semiseco y templado con una precipitación media anual de 530 mm/año, y la temperatura media anual es de 18° C, alcanzando temperaturas de 30°C en temporadas cálidas (primavera y verano) y de 10°C en temporadas frías (otoño e invierno)(CONAGUA, 2015).

3.1.1 Animales y su manejo

Se utilizaron 5 sementales de la raza Cuarto de Milla con edades de 7 a 11 años, con buen estado de salud, con peso vivo de 500 a 700 kg y una condición corporal de 5 (escala del 1 al 9). Los sementales se mantienen alojados en caballerizas de 6 X 12 m donde 50% tienen techo y el resto les sirve para área de sol, con piso de tierra y cama de arena; la alimentación que reciben es a base de alfalfa, concentrado con 14% de PC y agua a libre acceso como lo establece la Organización Mundial de Salud Animal (Sánchez *et al.*, 2015). Además, los sementales se ejercitan diariamente por las mañanas durante 40 minutos en un caminador eléctrico y 3 veces a la semana por las tardes se sueltan en un corral de 40x50 m en el que permanecen 2 horas.

3.2 Recolección de semen

Para la recolección de semen se contó con una yegua en celo, la cual se metió dentro del chut y esta es sujeta por un técnico capacitado para evitar que se asuste a la hora de la presentación con el semental.



Figura 6. Yegua en celo dentro del chut para estimular al semental.

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 (Dalmau, 2012).



Figura 7. Vagina artificial tipo Missouri.

Una vez armada la vagina artificial, se llenó de agua a 54°C. para obtener una temperatura interna de 45 a 48°C y antes de realizar con la extracción se colocó al interior de la vagina gel lubricante no espermicida.

El proceso de recolección de semen primero se presentó al semental frente a la yegua para que éste se estimule, después continuó el cortejo, olfateo y mordiscos para luego llevarlo al Dummy.



Figura 8. Semental olfateando a yegua

Una vez erecto el pene se lava con agua tibia (35° C aproximadamente) especialmente la fosa uretral para eliminar el esmegma y los microorganismos justo antes de la extracción, con el fin de obtener el semen libre de impurezas. , Es importante evitar el uso de soluciones bactericidas que puedan alterar la flora bacteriana normal del pene (Alvarenga *et al.*, 2016).



Figura 9. Lavado y secado del pene del semental.

Se lleva al semental al Dummy de monta, donde el manejador llevaba al caballo en línea recta y una vez que el semental montó al dummy, el pene se desvía hacia la vagina artificial, se revisan las pulsaciones uretrales y se confirma la eyaculación con la observación del “bandereo” de la cola característico, después el operador cambia la posición de la vagina conforme se retrae el pene del semental tal como lo describe Dalmau en el 2012.



Figura 10. Semental montado en el dummy y operario colectando con vagina artificial tipo Missouri.

Obtenido el eyaculado se procede a su evaluación macro y microscópica del semen (motilidad, morfología, concentración), según Castro y Chacón (2016).

3.3 Evaluación seminal

3.3.1 Determinación del volumen eyaculatorio libre de gel

El volumen libre de gel se obtuvo filtrando 2 veces el eyaculado y se midió utilizando 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, tal como lo describen Restrepo y Restrepo (2011), Restrepo *et al.* (2013) y Duque *et al.* (2017).



Figura 11. Filtrado del eyaculado para eliminar gel e impurezas y medir el volumen.

3.3.2 Determinación de la concentración espermática

Se evaluó mediante un Fotómetro (SDM 1) para análisis de la concentración de semen (Figura 12), se calibra con una microcubeta específica para la especie y después, se depositó semen con una pipeta en la microcubeta, que se absorbió por capilaridad, y se colocó en la rejilla del fotómetro. Los valores dados por el fotómetro aparecen directamente como 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 12. Fotómetro (SDM 1) para el análisis de la concentración de semen

3.3.3 Determinación de la motilidad espermática

Para evaluar la motilidad es importante que todos los instrumentos que tengan contacto con el semen, deben estar limpios, estériles, a 37 °C se utilizó un microscopio equipado con óptica de contraste de fase y una placa térmica (38° C) con un aumento de 100x (Tejerina *et al.*, 2009). Se depositó una gota de semen en un portaobjetos previamente calentado en una pletina 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 (Porta *et al.*, 2009).

Mediante el uso de microscopía óptica convencional se evaluó la motilidad espermática total (porcentaje de células móviles) y progresiva (porcentaje de células móviles con trayectoria rectilínea), a partir de siete campos visuales y un aumento de 400X (Pérez *et al.*, 2017).



Figura 13. Evaluación de la motilidad espermática.

IV. RESULTADOS

Las características seminales de los caballos durante las tres épocas del año se muestran en el cuadro 1. No se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) para el volumen del eyaculado entre épocas. Sin embargo, en la época de verano se pudo observar una mayor concentración espermática comparada con la época primavera.

Cuadro 1. Efecto de la época del año sobre el volumen y concentración espermática de caballos Cuartos de Milla en el norte de México.

Variables	Primavera	Verano
Volumen (mL)	40.7 ± 1.8 ^a	32.0 ± 2.6 ^a
Concentración (x10 ⁶ /mL)	108.5±5.0 ^b	153.0 ±12.2 ^a

^a^bLiterales con superíndice desiguales entre filas difieren a $P < 0.05$.

V. DISCUSIÓN

Las características seminales de los caballos colectados durante las dos épocas del año (Cuadro 1). No se observaron diferencias ($P>0.05$) para el volumen del eyaculado ($P>0.05$). Según Miro-Arias *et al.*, (2011) para considerar una calidad aceptable para su congelación debe existir una concentración de espermatozoides superior a 250×10^6 . Es un factor determinante la concentración espermática en el semen para conocer el valor del semental (Blanchard *et al.* 2003, citado por Nevarez 2011), el rango varía de 150 a 300×10^6 /ml, con una concentración total de 1 – 20 billones de espermatozoides en cada eyaculado. Los números estimados de espermatozoides producidos en un caballo normal tienen relación con el tamaño testicular. Un gramo de parénquima testicular durante la época reproductiva produce aproximadamente 19 millones de espermatozoides / día. (Boeta *et al.* 2017) Los resultados determinaron que la época del año no influyo sobre el volumen seminal. Lo anterior, se consideran dentro de los parámetros normales. De acuerdo con el mes de recolección y ubicación geográfica no se encontraron diferencias estadísticas significativas en el volumen seminal en las dos épocas del año.

De acuerdo con lo observado con los resultados de este experimento en cuanto a la concentración espermática de los garañones Cuarto de Milla en los meses en la época de verano podría ser recolectado el para usarse en procedimientos de reproducción asistida como la inseminación en fresco y/o el procesamiento para la congelación del semen y su ulterior utilización en la inseminación artificial. La concentración espermática está influenciada por el intervalo entre el tamaño testicular, eyaculaciones y la edad (Metcalf *et al.*, 1997). Sin embargo, Aznarán (2019), en un estudio en potros Peruano de Paso, señala que el volumen del eyaculado, el volumen testicular y la edad no van a influir en la concentración espermática. Debido a los resultados encontrados en nuestro estudio sugerimos que se necesitan realizar más estudios para determinar si existe una relación entre las características de motilidad de los espermatozoides y su capacidad de fertilización (Morrell, 1997) en otras latitudes diferentes al norte de México.

V CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio realizado en caballos Cuarto de Milla demuestran que la época no influyó sobre el volumen seminal, sin embargo, la concentración fue mayor durante la época de verano.

VI LITERATURA CITADA

- Acuña, Juan Pablo Prado. 2011. "Comparación de dos métodos de criopreservación de semen equino, nitrógeno líquido VS -80°C, utilizando diluyentes hipometabolizantes". Universidad Austral de Chile.
- Alvarenga, Marco Antonio, Frederico Papa Ozanam, Carlos Neto Ramires, y . 2016. "Advances in Stallion S e m e n C r y o p r e s e r v a t i o n". *Veterinary Clinics of NA: Equine Practice* 32 (3): 521–30. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2016.08.003>.
- Andrade S., Fernando;, Igor; Frederico C., Jair; Pérez O., Liliana; Chacón J., y Sergio and Arias Serrato. 2011. "Algunos aspectos de la eficiencia reproductiva correlacionados con el semental equino". *Revista Ciencia Animal* 1 (4): 83–88. <https://ciencia.lasalle.edu.co/ca>.
- Aznarán Vigo, R. G. (2019). Relación entre el volumen testicular, volumen del eyaculado y concentración espermática en caballos inscritos en la asociación de criadores y propietarios del caballo peruano de paso–Lambayeque.
- Betancur, Giovanni Restrepo, y Jaime Isaza Cadavid. 2013. "Techniques for analyzing the potential fertility of stallion semen α Técnicas para el análisis de la fertilidad potencial del semen equino Key words Resumen Palavras chave" 8 (1): 115–27.
- Blanc, Michelle Le, Cheryl Lopate, Reg R Pascoe, y . 2003. *Equine Stud Farm Medicin and Surgery*. SAUNDERS. London: El sevier science.
- Boeta, Myriam S., Alberto Balcázar, José Luis Cerbón, Juan H. Hernández Medrano, Joel Hernández Cerón, Rosa María Páramo Ramírez, et al. 2018. *Fisiología Reproductiva de los Animales Domésticos*. 1ª edición. Universidad Nacional Autónoma de México Ciudad Universitaria, Coyoacán, CP 04510, Ciudad de México.
- Brinsko;, Steven P., Terry L. Blanchard;, Dickson D. Varner;, James Schumacher;, Charles C. Love;, Katrin Hinrichs;, y David L. Hartman. 2011. *Manual of equine reproduction*. Editado por Elsevier. 3ª edition. St. Louis, Missouri, USA. <http://www.elsevier.com/permissions>.
- Cabrera, Paulina, Raúl Sánchez, y Jennie Risopatrón. 2014. "Selección espermática en semen congelado/descongelado de equino: Evaluación de las membranas plasmática, acrosomal y potencial de membrana

- mitochondrial". *International Journal of Morphology* 32 (2): 725–31. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022014000200084>.
- Castro, Jefferson Abdelo Cruz, y Liliana Jaramillo Chacón. 2016. "Aspectos generales del proceso de conservación de semen equino: una revisión desde la congelación espermática". *Conexión Agropecuaria* 6 (1): 45–64.
- Cepeda, Luna Gutiérrez. 2014. "Optimización de las técnicas de acondicionamiento del semen equino para los procesos de conservación seminal". Universidad Complutense de Madrid.
- CONAGUA. 2015. "Actualización de la disponibilidad media anual de agua en el acuífero Cuauhtémoc (0805) Estado de Chihuahua".
- Cortés-Vidauri, Z., Aréchiga-Flores, C., Rincón-Delgado, M., Rochín-Berumen, F., López-Carlos, M., & Flores-Flores, G. (2018). Revisión: el ciclo reproductivo de la yegua. *Abanico Veterinario*, 8(3), 14-41.
- Dalmau, Consuelo Serres. 2012. "Métodos tradicionales y alternativos de extracción de semen". *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias (RCCV)* 6 (2): 125–34.
- Duque, Juan Esteban, Benjamín A. Rojano, Giovanni Restrepo B., y C. 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 Peru* 28 (1): 120–29. <https://doi.org/10.15381/rivep.v28i1.12944>.
- Fernando;, Andrade S., Igor; Frederico C., Jair; Pérez O., Liliana; Chacón J., y Sergio and Arias Serrato. 2011. "Algunos aspectos de la eficiencia reproductiva correlacionados con el semental equino". *Revista Ciencia Animal* 1 (4): 83–88. <https://ciencia.lasalle.edu.co/ca>.
- Gacem, Sabrina, Jaime Catalán, Iván Yáñez Ortiz, Carles Soler, y Jordi Miró. 2021. "New Sperm Morphology Analysis in Equids : Trumorph® Vs Eosin - Nigrosin Stain". *Vet Sci* 8 (79): 1–9. <https://doi.org/10.3390/vetsci8050079>.
- Galina, Carlos, y Javier Valencia. 2008. *Reproducción de los animales domésticos*. Editado por Limusa. Limusa. México.
- Giraldo;, Natalia, Juan Esteban Correa Villegas;, y Neli Vçazquez Araque. 2006. "Evaluación del efecto de la refrigeración Sobre la calidad seminal equino Evaluation of the effect of the refrigeration on the quality of the equine semen". *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia* 2 (2): 8–16.

- Hafez, E.S.E. and B. Hafez. 2000. *Reproducción e Inseminación Artificial en animales. Séptima Edición. McGraw-Hill.*
- INAFED. 2015. "Enciclopedia de los municipios". Mexico. <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM17morelos/index.html>.
- Jaramillo, Cristina Saltos. 2007. "Efectos de la centrifugación en la motilidad espermática del semen equino refrigerado". Universidad San Francisco de Quito.
- Lozano, Benito D, Gil Huerta, Martín San Álvarez, y C. 2011. "Efecto de la adición de plasma seminal en el semen equino descongelado". *Sanid. mil* 67 (3): 284–90.
- Luna, Erika Irais Reyes. 2019. "Características espermáticas del semen equino descongelado usando dos crioprotectores y su efecto según época del año en baja california". Universidad Autónoma de Baja California.
- Minitube. s/f. "Fotómetro SDM 1 para análisis de la concentración de semen", 12300. <https://www.minitube.com/catalog/es/fotometro-sdm-1-calibrado-p4365/>.
- Miró, Arias M., A Vallecillo, J.M. León, y J.L. Vega Pla. 2011. "Efecto del semental sobre las características seminales del Caballo de las Retuertas". *Archivos de Zootecnia* 60 (231): 345–48. <https://doi.org/10.4321/s0004-05922011000300007>.
- Morrell, J M. 1997. "CASA as an aid to selecting sperm suspensions for artificial insemination in *Callithrix jacchus*" 296: 287–96.
- Núñez Rodríguez, L. A. (2018). Características espermáticas del eyaculado de caballos de milla ubicados en la Zona Costa Pacífico Norte y Valle de Mexicali en Baja California.
- Pérez, Daniel Domingo, L. Mariano Acosta, B. Giovanni Restrepo, Cesar Camacho, y O. Jair Pérez. 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*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. <https://doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13884>.
- Porta, Lucía E. Rangel, * Marco A. Alarcón Zapata*Carlos, *Joel Hernández Cerón *Antonio Ismael Porras Almeraya*Javier de Jesús Valencia Méndez*, *Juan Alberto Balcazar Sánchez * Myriam Boeta Acosta * Héctor

- Flores González* *Rosa María Páramo RamírezLucía E. Rangel Porta * Marco A. Alarcón Zapata*Carlos Galina Hidalgo*, *Joel Hernández Cerón *Antonio Ismael Porras Almeraya*Javier de Jesús Valencia Méndez*, y *Juan Alberto Balcazar Sánchez * Myriam Boeta Acosta * Héctor Flores González* *Rosa María Páramo Ramírez. 2009. *Manual de Prácticas de Reproducción Animal*. Editado por Antonio Ismael Porras Almeraya ROSA María Páramo. 1ª. México 04510, DF.
- Restrepo, Giovanni Betancur, y Sara Escobar Restrepo. 2011. "Important considerations about in vitro production of equine embryos Consideraciones importantes acerca de la producción in vitro de embriones equinos Considerações importantes sobre a produção in vitro de embriões eqüinos". *Rev CES Med Vet Zootec* 6 (1): 55–63. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=321428105006>.
- Restrepo, Giovanni Betancur, Alexandra Úsuga Suárez, Benjamín Alberto Rojano, y . 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. Medellín, Colombia. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=321428109006%0ACómo>.
- Rodríguez, Luis Alonso Núñez. 2018. "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.
- Rua, Miguel Alejandro Silva, Celia Raquel Quirino, Aylton Bartholazzi, Paula Nascimento Santoro, Mariana Da Silva Ribeiro, Wilder Hernando Ortiz Vega, y Marcus Antônio Pessanha Barreto. 2016. "Repetibilidade das características seminais, espermáticas e fertilidade de garanhões". *Revista Brasileirade Ciências Agrarias* 11 (2): 124–31. <https://doi.org/10.5039/agraria.v11i2a5372>.
- Sánchez, CeciliaEstherGaxiola. 2019. "Motilidad progresiva del semen equino post descongelación usando dos criopreservadores". Universidad Autónoma de Baja California.
- Sánchez, Lourdes Sanmartín, José Perea, Isabel Blanco-Penedo, Almudena Pérez-Rico, y José Luís Vega-Pla. 2015. "Bienestar animal en equinos (Equus caballus): Una evaluación comparativa en reproductores del sur de

- España". *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia* 25 (6): 471–80. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95944009008>.
- Stornelli;, María Alejandra, Rodolfo Luzbel De la Sota, Walter Gastón Aldabe, Miriam Beatriz Azcurra, Hernán Barrales, María Candela Bonaura, Adrián Leopoldo Bottino, et al. 2017. *Atlas de reproducción de animales de producción y compañía*. Editado por Editorial de la Universidad de La Plata. Primera ed. Buenos Aires, Argentina.
- Tejerina, Fernando ;, Morrell;Jane, A M Dalin, y Heriberto Rodriguez Martinez. 2009. "Assessment of motility of ejaculated stallion spermatozoa using a novel computer-assisted motility analyzer (Qualisperm TM)". *Anim. Reprod.* 6 (January): 380–85.
- Vázquez, José Fernando Armijo, Gaspar Manuel Parra-bracamonte, Miguel Abraham Velazquez, Ana María Sifuentes-rincón, José Luis Tinoco-jaramillo, Pascuala Ambriz-morales, Williams Arellano-vera, y Victor Ricardo Moreno-medina. 2017. "Diversity and effective population size of four horse breeds from microsatellite DNA markers in South-Central Mexico". *Archives Animal Breeding* 60 (2): 137–43. <https://doi.org/10.5194/aab-60-137-2017>.
- Vélez, Angélica. 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)". Universidad de La Salle, Bogotá. <https://ciencia.lasalle.edu.co/>.
- Vera, Constanza Javiera Elgueta. 2018. "Actualización en técnicas de criopreservación de espermatozoides equinos". Universidad de las Américas.