



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**  
**FACULTAD AGROPECUARIA Y RECURSOS NATURALES**  
**RENOVABLES**  
**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**ESTUDIO DE LA CONDUCTA SEXUAL Y CALIDAD SEMINAL EN FRESCO EN 3 GRUPOS RACIALES EN EQUINOS**

Tesis de grado previa a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista

Autor

Milton Alejandro Montalvo Illescas

Director

Dr. Edgar Lenin Aguirre Riofrío, Mg. Sc.

Loja – Ecuador

2019

**1859**

### CERTIFICACIÓN

Dr. Édgar Lenin Aguirre Riofrío, Mg. Sc. PhD  
Director de Tesis

CERTIFICA:

Que el trabajo de tesis titulado **“ESTUDIO DE LA CONDUCTA SEXUAL Y CALIDAD SEMINAL EN FRESCO EN 3 GRUPOS RACIALES EN EQUINOS”** de la autoría del señor egresado, **Milton Alejandro Montalvo Illescas**, previo a la obtención del título de **Médico Veterinario Zootecnista**; ha sido desarrollado dentro del cronograma establecido, cumpliéndose con todos los objetivos propuestos, siendo los resultados alcanzados pertinentes, con validez y actualidad científica. Además, debo manifestar que dicho trabajo ha sido revisado y corregido, por lo tanto, se autoriza su presentación para el trámite respectivo.

Lo certifico:

Loja, 29 de noviembre del 2018

Atentamente,



.....  
Dr. Édgar Lenin Aguirre Riofrío, Mg. Sc. PhD  
Director de Tesis

**LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO****CERTIFICAN**

Que el proyecto de Tesis titulado "ESTUDIO DE LA CONDUCTA SEXUAL Y CALIDAD SEMINAL EN FRESCO EN 3 GRUPOS RACIALES EN EQUINOS", de la autoría del señor: MILTON ALEJANDRO MONTALVO ILLESCAS previo a la obtención del título de MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA, ha incorporado las observaciones realizadas por el Tribunal en el momento de la calificación. Por lo que se autoriza la impresión del trabajo y continuar con los trámites de graduación.

Loja, 5 de febrero del 2019



Dr. Jorky Rosseyelt Armiños Tituana. Mg. Sc.  
Presidente del Tribunal



Dr. José Eugenio Gaona. Mg. Sc.  
Vocal del Tribunal



Dr. Manuel Benjamín Quezada Padilla Mg. Sc.  
Vocal del Tribunal

### AUTORÍA

Yo, Milton Alejandro Montalvo Illescas, declaro ser el autor del presente trabajo de tesis y eximo a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de esta tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autor: Milton Alejandro Montalvo Illescas

Firma:  .....

Cédula: 1103959639

Fecha: Loja, 8 de febrero de 2019

**CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO.**

Yo, Milton Alejandro Montalvo Illescas, declaro ser el autor de la tesis titulada "Estudio de la conducta sexual y calidad seminal en fresco en 3 grupos raciales en equinos", como requisito por optar al grado de Médico Veterinario Zootecnista; autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 08 días del mes de Febrero del dos mil diecinueve. Firma el autor.

Firma:  .....

Autor: Milton Alejandro Montalvo Illescas

Número de cédula: 1103959639

Dirección: Loja, Urbanización Rodríguez Witt, calles Río Bobonaza y Av. Marañón

Correo electrónico: miltonmontalvo@yahoo.com

Teléfono celular: 0994110302

**DATOS COMPLEMENTARIOS:**

Director de Tesis: Dr. Édgar Lenin Aguirre Riofrío, Mg. Sc. Phd.

Tribunal de Grado: Dr. Jorky Amijos, Mg. Sc. (Presidente del Tribunal).

Dr. José Gaona, Mg. Sc. (Vocal del Tribunal).

Dr. Manuel Quezada, Mg. Sc. (Vocal del Tribunal).

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a mi familia, que gracias a su apoyo incondicional ha llevado a que yo perseverare y siga mi pasión.

Al Dr. Edgar Lenin Aguirre Riofrío, Director de Tesis, por guiarme y apoyarme de forma muy profesional y amable durante la investigación. También agradezco a la Dra. Carolina Serrano por su gentileza, buena voluntad y su gran conocimiento para la realización de este proyecto. A la Dra. Melania Uchuari, por su colaboración y sus enseñanzas que fueron un gran apoyo.

Así mismo al personal del CEBIREA y el laboratorio de Biotecnologías de la Universidad Nacional de Loja, que me brindaron su apoyo con todo lo necesario para realizar esta investigación.

Finalmente, mi agradecimiento a la Universidad de Loja por haber otorgado el espacio y todo lo necesario durante todos estos cinco años de carrera a mí y mis compañeros que hicieron que mi vida universitaria sea de mucho conocimiento y valor.

Milton Alejandro Montalvo Illescas

## **DEDICATORIA**

Con mucho amor dedico este trabajo a mi madre querida, quien me enseñó lo más lindo en este mundo que es amor puro e incondicional.

A mi padre Milton Guillermo y mi tía Mayra Janeth, quienes me demostraron que ese amor es infinito y prevalece.

A toda mi familia, por su infinito cariño desde el momento que vine al mundo.

Esto fue posible gracias a ustedes.

Milton Alejandro

## INDICE GENERAL

CERTIFICADO.....	ii
CERTIFICADO DEL TRIBUNAL.....	iii
AUTORIA.....	iv
CARTA DE AUTORIZACIÓN.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
DEDICATORIA.....	vii
INDICE GENERAL.....	viii
INDICE DE CUADROS .....	xi
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY.....	xv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1 Conducta sexual o libido.....	2
2.1.1 Pubertad y Actividad Endocrina.....	3
2.1.2 Valoración reproductiva del equino.....	4
2.1.3 Manejo del semental .....	5
2.2 Comportamiento sexual del macho.....	6
2.2.1 Modalidades sensoriales.....	6
2.2.2 Presión del estímulo.....	7
2.2.3 Cortejo en el macho equino.....	7
2.2.4 Monta natural en los equinos.....	8
2.3 Técnica de colecta seminal.....	9
2.3.1 Vagina artificial (VA).....	10
2.3.2 Mantenimiento y limpieza de la VA.....	11
2.3.3 Preparación de la VA.....	12
2.3.4 Otras técnicas de colecta seminal.....	12

2.4 Características seminales en equinos.....	13
2.4.1 Metabolismo espermático.....	15
2.5 Evaluación del semen equino.....	16
2.5.1 Volumen:.....	16
2.5.2 Color:.....	17
2.5.3 pH.....	17
2.5.4 Concentración espermática:.....	17
2.5.5 Motilidad espermática:.....	18
2.5.6 Longevidad de la motilidad espermática:.....	19
2.5.7 Morfología espermática:.....	19
2.5.8 Análisis seminales alternativos:.....	21
2.6. Trabajos relacionados.....	23
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
3.1 Materiales de campo.....	25
3.2 Materiales de laboratorio.....	25
3.3 Materiales de Oficina.....	26
3.4 Ubicación.....	26
3.5 Descripción de las unidades experimentales.....	26
3.6. Descripción y adecuación de instalaciones.....	27
3.7 Variables de estudio.....	27
3.8 Toma y registro de datos.....	27
3.8.1 Examen clínico externo, diámetro y consistencia testicular.....	27
3.8.2 Conducta antes durante y post coito.....	28
3.8.3 Toma de muestras seminales y valoración seminal.....	28
3.9 Diseño experimental.....	29
4. RESULTADOS.....	30
4.1 Examen clínico.....	30
4.2 Evaluación de la conducta sexual.....	30
4.2.1 Sintomatología de conducta sexual antes de la monta.....	31
4.2.2 Sintomatología de conducta sexual durante la monta.....	36
4.2.3 Sintomatología de conducta sexual después de la monta.....	38

4.3 Evaluación seminal.....	39
4.3.1 Características microscópicas.....	39
4.3.2 Características macroscópicas.....	40
5. DISCUSION.....	41
6. CONCLUSIONES.....	44
7. RECOMENDACIONES.....	45
8. BIBLIOGRAFIA.....	46
9. ANEXOS.....	51

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadros</b>	<b>Contenido</b>	<b>Páginas</b>
Cuadro 1.	Características y componentes del semen equino.....	16
Cuadro 2.	Diseño experimental.....	29
Cuadro 3.	Evaluación del examen clínico a los ejemplares de los grupos raciales en estudio (promedio).....	30
Cuadro 4.	Comportamiento de la conducta de cortejo Antes de la monta en los ejemplares machos de los diferentes grupos raciales estudiados.....	31
Cuadro 5.	Comportamiento del reflejo Flehmen en los ejemplares de los diferentes grupos raciales estudiados.....	31
Cuadro 6.	Comportamiento del sintoma de resoplido en los grupos raciales estudiados.....	32
Cuadro 7.	Comportamiento del sintoma del hociqueo en los grupos raciales estudiados.....	32
Cuadro 8.	Comportamiento del sintoma de lamido en los grupos raciales estudiados.....	33
Cuadro 9.	Comportamiento del sintoma de mordidas producidas por los grupos raciales estudiados.....	33
Cuadro 10.	Comportamiento del sintoma de relincho en los grupos raciales estudiados.....	34
Cuadro 11.	Comportamiento del sintoma de erección gradual de los grupos raciales estudiados.....	34
Cuadro 12.	Comportamiento del sintoma de acercamiento a la monta manifestado en los grupos raciales estudiados.....	35
Cuadro 13.	Comportamiento del sintoma de embestida a la hembra por los grupos raciales estudiados.....	35
Cuadro 14.	Comportamiento del sintoma falsas montas que se dieron por parte de los grupos raciales estudiados.....	36
Cuadro 15.	Comportamiento del sintoma de tiempo de coito que se obtuvo de los grupos raciales estudiados.....	36

Cuadro 16. Sintomatología respiración en los grupos raciales estudiados.....	37
Cuadro 17. Sintomatología de la musculatura de las extremidades posteriores de los grupos raciales estudiados.....	37
Cuadro 18. Sintomatología de aleteo de la cola de los grupos raciales estudiados.....	38
Cuadro 19. Sintomatología de la actividad refractaria de los grupos raciales estudiados.....	38
Cuadro 20. Evaluación de las características microcópicas del semen equino en los grupos raciales estudiados.....	39
Cuadro 21. Evaluación de las características macrocópicas del semen equino en los grupos raciales estudiados.....	40

“ESTUDIO DE LA CONDUCTA SEXUAL Y CALIDAD SEMINAL EN FRESCO  
EN 3 GRUPOS RACIALES EN EQUINOS”

## RESUMEN

La presente investigación se realizó en cantón Quilanga y se orientó a determinar la conducta sexual y las características del semen equino en fresco en caballos de grupos raciales diversos, se trabajó con las razas Árabe, Mestizo y Criollo. Se evaluó el comportamiento sexual antes, durante y después de la monta mediante observación de los síntomas de comportamiento sexual. Para la evaluación seminal se realizaron 3 colectas en cada uno de los grupos raciales a intervalos de una semana y se estudiaron las siguientes variables microscópicas y macroscópicas. En la evaluación macroscópica se observó las características físicas: color, densidad, pH. Mientras que en la evaluación microscópica en fresco se realizó evaluación de motilidad, vigor, morfología y concentración espermática.

Se realizó un análisis de varianza, y se aplicó prueba de LSD Fisher al 5 %. Los resultados demuestran que no existió diferencia estadística significativa en cuanto al vigor, defectos morfológicos menores, pH y color. Se observó diferencia estadística significativa ( $p: 0.05$ ) en el volumen siendo la raza Criolla la de mayor volumen (80cc), en comparación al resto de razas en donde se obtuvo 45 cc en la raza Mestiza y 36.66 cc en la raza Árabe. La motilidad registró a la raza Árabe con el mayor porcentaje de 68.33% mientras que la raza Mestiza obtuvo un 58.33% y la raza Criolla un 56.66%. En la concentración la raza Mestiza tuvo una mayor concentración de 137.33 millones/ml, la raza Árabe obtuvo 131.66 millones/ml, mientras que la raza criolla obtuvo 84.6 millones/ml. En los defectos mayores la raza Árabe tuvo menor porcentaje con un 7.33%, mientras que la raza Mestiza tuvo un 16.33% y la Criolla un 16.86%. Se concluye que si bien la raza Criolla se relaciona con una mejor conducta sexual, que puede estar determinado por el tipo de manejo de forma extensiva que tiene el animal, en cuanto a las características seminales estos animales presentaron una menor calidad seminal, la razón puede depender de factores como nutrición, manejo, crianza, contextura física, consanguinidad, a la que está sometida esta población en relación a los otros grupos raciales.

**Palabras claves:** razas, conducta sexual, sementales, semen equino, evaluación seminal

## SUMMARY

The present investigation was carried out in Canton Quilanga and was oriented to determine the sexual behavior and characteristics of fresh equine semen in horses of diverse racial groups, we worked with the Arab, Mestizo and Criollo breeds. Sexual behavior was evaluated before, during and after riding by observing the symptoms of sexual behavior. For the seminal evaluation, 3 collections were made in each of the racial groups at intervals of one week and the following microscopic and macroscopic variables were studied. In the macroscopic evaluation, the physical characteristics were observed: color, density, pH. While in the fresh microscopic evaluation, motility, vigor, morphology and sperm concentration were evaluated. An analysis of variance was performed, and a 5% Fisher LSD test was applied. The results show that there was no significant statistical difference in vigor, minor morphological defects, pH and color. A statistically significant difference ( $p: 0.05$ ) was observed in the volume, with the Creole breed having the highest volume (80cc), compared to the rest of the breeds where 45 cc was obtained in the Mestiza race and 36.66 cc in the Arab race. Motility registered the Arab race with the highest percentage of 68.33% while the Mestiza breed obtained 58.33% and the Creole breed 56.66% In the concentration the Mestizo breed had a higher concentration of 137.33 million / ml, the Arabian breed obtained 131.66 million / ml, while the Creole breed obtained 84.6 million / ml. In the major defects the Arab race had a lower percentage with 7.33%, while the Mestiza breed had 16.33% and the Creole breed 16.86% It is concluded that if While the Creole breed is related to a better sexual behavior, which can be determined by the type of management of extensive form that the animal has, in terms of the seminal characteristics these animals had a lower seminal quality, the reason may depend on factors such as nutrition, management, upbringing, physical build, consanguinity, to which this population is subject in relation to the other racial groups.

**Keywords:** races, sexual behavior, stallions, equine semen, seminal evaluation

## 1. INTRODUCCIÓN

La especie equina a lo largo de la historia se ha constituido como un motor animal por excelencia, usado tanto en deportes, trabajo y a nivel cultural. Sin embargo, debido a que es una especie con ínfimo impacto social en la provincia de Loja, no existe desarrollo de actividades importantes en este ámbito.

En Ecuador, las necesidades agrícolas hacen que la gran parte de la actividad equina sea destinada para labores de trabajo, siendo su manejo de forma extensiva y prevaleciendo la raza criolla, uso de mulares y asnos; mientras que en un porcentaje muy reducido es destinado a actividades ecuestres deportivas y culturales, que poseen establos de crianza y ejemplares de pura sangre.

En la actualidad, en la provincia de Loja no existe un manejo tecnificado de equinos, dándose en mayor medida a través de la monta natural, al no existir un conocimiento técnico del ámbito reproductivo de esta especie; debido a la falta de recursos humanos capacitados a nivel de la región, se recurre a técnicos especialistas de fuera de la provincia. En este sentido, es importante que existan profesionales que se dediquen a estudiar el área reproductiva como paso fundamental para una posterior implementación de programas de mejoramiento genético.

Este estudio se realizó en la finca “Chanita”, barrio Santa Bárbara del cantón Quilanga, en donde el objetivo del trabajo fue comprobar si la conducta sexual y calidad seminal varía o es influenciada en los sementales en relación al grupo racial. Se evaluó la conducta sexual antes durante y después de la monta, y se determinó los índices macro y microscópicos del semen en fresco en tres grupos de equinos: la raza Árabe, raza Mestiza y raza Criolla.

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1. Conducta Sexual o Libido**

Se conoce como libido a la disposición y temperamento reproductivo que tiene un semental al cubrir a la hembra (Davies, 2011).

La UBA (2016), menciona que es el comportamiento del macho frente a una hembra en celo. Esto lo determina el tiempo de la reacción del macho frente a una hembra o por el número de montas en un tiempo determinado.

Los momentos principales del comportamiento sexual son: el cortejo, la erección, monta, penetración, golpe de riñón y desmonta (Álvarez et al., 2009).

Son durante estos momentos principales que se evalúa la libido poniendo el caballo semental en contacto con la hembra en estro y se observa la reacción con la yegua. La experiencia sexual del semental depende de esta reacción, el manejo del animal y, en algunos casos, el periodo reproductivo (Pycock, 2008).

La libido y su manifestación en el comportamiento del semental son controlados por la producción de testosterona en los testículos (Davies, 2003).

El cortejo es un grupo de coordinaciones posturales a partir de estímulos auditivos, odoríferos y gustativos de la región genital y orina para la ejecución del coito, con el objetivo de examinar la receptividad de la hembra. Otros estímulos tienen origen a partir de las feromonas liberadas en esta etapa (Álvarez et al., 2009).

El cortejo funcionalmente es una colaboración mutua entre macho y hembra a coordinar las posturas corporales que llevan al coito, por lo general los estímulos provenientes de la hembra, dan inicio al cortejo. Es más evidente cuando su crianza es de forma extensiva. Se considera negativo la separación

de sexos a muy temprana edad. Los animales tienden a buscar parejas de su raza y experimentadas (Manteca, 2009).

El tiempo de la cópula tiene relación directa con el volumen de eyaculación, los machos jóvenes requieren mayor tiempo para la penetración. Normalmente, el macho ejecuta la cubrición descansando sobre el tren posterior de la hembra, que la abraza con sus extremidades anteriores en la región lumbar, aquí se producen los movimientos pélvicos para lograr la penetración; durante el cortejo el macho demuestra gran excitabilidad y la eyaculación se hace evidente por los movimientos de elevación y descenso de la cola (Álvarez et al., 2009).

### **2.1.1 Pubertad y actividad endocrina**

Los factores externos e internos controlan el inicio y desarrollo sexual. En el desarrollo fetal las hormonas esteroideas actúan sobre el cerebro, durante cortos períodos, produciendo la diferenciación de los patrones de comportamiento sexual. En la pubertad se dan cambios morfológicos, fisiológicos y de comportamiento como consecuencia del inicio de la actividad gonadal en el animal joven (UCO, 2005).

La edad a la que se alcanza la pubertad depende de factores ambientales, como el fotoperiodo y la exposición a feromonas sexuales. El peso del animal y el porcentaje de tejido adiposo es importante en la actividad sexual; por lo tanto, la sub alimentación causa un retraso en la manifestación de la pubertad (Manteca, 2009).

Las principales hormonas producidas por los testículos son la testosterona (por las células de Leydig) y la inhibina (por las células de Sertoli); su síntesis se regula por las gonadotropinas, hormona foliculoestimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH), estas hormonas son liberadas por la hipófisis anterior, de donde se vierten al torrente sanguíneo para así alcanzar las gónadas. La síntesis y la liberación adenohipofisaria LH y FSH se regula por la

hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). Tanto la LH y FSH favorecen la maduración gonadal y la esteroidogénesis (Pérez, 2013).

Una libido disminuida es igual a una pobre conducta sexual. Es normal en machos seniles, sobre exigidos o jóvenes primerizos. Podría ser una patología que indica disminución de testosterona y un bajo desarrollo genital, produciendo una disminución de la libido y así mismo disminuye la calidad espermática. La anafrodisia o apatía es la ausencia completa de conducta sexual. Puede deberse a problemas extra genitales, afecciones del aparato locomotor, exceso o poca alimentación, la edad del caballo y la estación del año (UBA, 2016).

### **2.1.2 Valoración reproductiva del equino**

La evaluación reproductiva en el macho equino sirve para determinar si tiene la capacidad física y el comportamiento adecuado, tiene que asegurar un buen desempeño reproductivo. Esto incluye la producción de semen con un número de espermatozoides viables, que el macho esté libre de enfermedades infecciosas transmisibles por vía genital, que tenga una conducta sexual normal y que tenga la capacidad física para realizar una monta. Es necesario realizar un examen antes de las operaciones de compra venta de machos, y en caballos con buenas actuaciones en pruebas de pista (Zarco, 2000).

En el examen se evalúa la libido y la habilidad del semental para montar a la yegua, se trata de identificar problemas congénitos que pueden ser heredados al producto o que puedan disminuir la fertilidad del semental o cualquier problema que pueda disminuir la vida sexual del mismo. En la evaluación se toma en cuenta la historia reproductiva y general, el temperamento, la libido, aplomos y conformación, examen del tracto reproductivo, evaluación del semen, y finalmente se realizan pruebas de enfermedades (Blanchard et al., 2003).

### **2.1.3. Manejo del semental**

El ejercicio es fundamental en un semental, ya que ayuda a mantener el buen estado físico y mental, reduciendo el aburrimiento, stress y los vicios. Este ejercicio puede ser libre, en el potrero, corral grande (Squires, 2003).

El semental debe tener una buena condición corporal. Los sementales pueden llegar a consumir alimento de 2 a 3 % de su peso corporal al día, del cual más de la mitad debe ser forraje. En la temporada de servicios el semental debe ser mantenido con una dieta que contenga 14 % de proteína; fuera de la temporada la dieta debe contener 12 % de proteína (Frappe, 2004).

La pérdida de peso puede estar relacionado a malas dentaduras, heridas bucales o abscesos, por lo que se debe revisar anualmente la dentadura del animal (Davies, 2003).

También se debe tener cuidado con las extremidades del semental, las claudicaciones pueden reducir o inhabilitar la habilidad para montar, por lo general en miembros posteriores acompañado de una disminución de libido (Knottenbelt et al., 2003).

Parte de la medicina preventiva es la vacunación, se utiliza el calendario de vacunación de acuerdo a la zona donde se encuentre el semental, sea para tétanos, rabia, influenza, etc. Estas se realizan 60 días antes de la temporada (Knottenbelt et al., 2003).

Por otra parte, está la desparasitación, también relacionada a la medicina preventiva, grandes cantidades de parásitos pueden causar debilidad, baja de libido y pobre desempeño reproductivo; esta se debe realizar regularmente en primavera, verano y otoño, algunos desparasitantes pueden causar debilidad y baja de libido, por lo que se recomienda hacerlo antes de la temporada de reproducción (Davies, 2005).

La malnutrición y la ingestión de materiales tóxicos pueden tener un efecto importante en el desarrollo testicular y la espermatogénesis, pero el sistema reproductor tiene una capacidad regenerativa considerable, a menos que las deficiencias de la dieta sean graves y prolongadas (Foote, 1978).

## **2.2. Comportamiento Sexual del Macho**

La conducta sexual del semental se divide en cortejo y apareamiento. El cortejo son los patrones de conducta por los cuales el macho y la hembra se hacen saber que están listos para la cópula. Durante el cortejo los sementales detectan mediante los órganos de los sentidos las señales visuales, auditivas y olfatorias enviadas por la hembra. El semental se aproxima a la yegua y comienza su exploración olfatoria de frente a la yegua, así como de la región genital y de la orina. Con el contacto nasal el semental manifiesta el característico signo de Flehmen, que consiste en elevar la cabeza, replegando los labios de tal manera que muestre los dientes (Trejos, 2009).

Los caballos son poliginosos, la reproducción ocurre generalmente dentro del harem, que lo compone el semental y varias yeguas más los caballos jóvenes. El comportamiento reproductivo del semental principalmente incluye, formación, mantenimiento del harem, cortejo y apareamiento; dentro de caballos criados a campo abierto, éstos varían su comportamiento sexual de los caballos estabulados ya que poseen contacto con las yeguas asociándose al harem mientras que otros caballos no tienen la misma oportunidad (McDonnel, 2006).

### **2.2.1 Modalidades sensoriales**

El olfato es importante en la cubrición y en el mantenimiento de la estructura social. Los machos detectan el estro en la hembra por olfacción de la región urogenital o la orina de la hembra; igualmente manifiestan el reflejo Flehmen, que consiste en recoger estímulos olorosos, en la zona vomeronasal, ligados al estro (UCO, 2005).

El entorno físico es importante en la estimulación visual del caballo. Una vez que ha quedado saciado puede responder de nuevo si el animal es cambiado de sitio (Manteca 2009).

Durante los períodos de disminución de la luz del día, la calidad del semen disminuye en los sementales (Foote, 1978).

### **2.2.2. Presión del estímulo**

Los estímulos son en función de su naturaleza, la estimulación proporcionada por la visión de un objeto sexual puede ser incrementado por medio de la asociación aprendida que le proporciona la orina de la hembra en estro. Una elevada presión de estímulos proporciona un alto nivel de respuesta y se expresa hasta el máximo de su potencial. En cambio, una baja presión de estímulo da lugar a un bajo nivel de respuesta conductural, y no expresará ningún comportamiento (UCO, 2005).

### **2.2.3. Cortejo en el macho equino**

Después de obtener una o varias hembras, el macho dedica gran parte de su tiempo a mantener unido a su grupo, apartado de yeguas o machos de otros grupos. Se mueve cerca de las hembras cuando están pastoreando o descansando o corre detrás de ellas cuando están en movimiento. El macho presta atención a amenazas potenciales o intrusiones (Manteca, 2009).

En el comportamiento normal el macho se acerca a la hembra, manteniendo el cuello arqueado y la cola levantada; escarba y relincha. El macho muestra interés por la hembra en días previos al estro, presentando un comportamiento agresivo, a lo que la yegua puede mostrar una combinación de patadas, postura amenazadora, mordisqueo y chillidos, y siempre con la cola bien pegada contra el perineo. Si este comportamiento de la hembra continua, el macho se aleja (UCO, 2005).

Aun cuando la hembra esté en celo, en un inicio la interacción que precede a la cópula suele ser medianamente agresiva, para irse atemperando poco a poco y convertirse en una tranquila y calma interacción pre copulatoria.

En el cortejo se ponen de manifiesto componentes de la libido tales como:

- El reflejo Flehmen.
- Resoplidos.
- Embestir y golpear los cuartos traseros de la hembra y continuar hacia el cuello.
- Vinculación y aproximación de ambos.
- Falsas montas que preceden a la verdadera (UCO, 2005).

Durante el cortejo y el apareamiento el macho produce vocalizaciones que incluyen fuertes y largos relinchos cuando se acerca a la hembra; agudos chillidos, rugidos y gruñidos en las interacciones agresivas; relinchos suaves cuando se acerca a la hembra en postura de celo pleno, y un corto chillido cuando desmonta (Manteca, 2009).

#### **2.2.4. Monta natural en los equinos**

La monta comienza con un acercamiento por detrás, una vez montado, el macho aprieta las extremidades anteriores contra las crestas ilíacas y apoya su cabeza en la crin de la hembra, que puede morderla o mordisquearla. Tras varios intentos, consigue la penetración y coloca los cascos delanteros en posición firme. Después de varios movimientos intravaginales se produce la eyaculación, que se detecta por la contracción rítmica de los músculos de las patas, el aumento del ritmo respiratorio, deja caer la cabeza y mueve la cola hacia arriba y abajo (aleteo de la cola), se relajan los músculos de la cara y baja las orejas. Unos 15 segundos después de la eyaculación, el macho desmonta y permanece unos 20 minutos refractario a la hembra, aunque hay grandes diferencias entre razas e individuos (Sandoval, 2010).

En la cópula, la hembra permanece inmóvil tras facilitar la introducción del pene ajustando su posición o inclinándose hacia el semental. Después de retirarse el macho, orina. El cortejo y apareamiento se suelen realizar apartados del resto del grupo. La interacción precopulatoria puede durar unos días, la interacción copulatoria, desde el acercamiento hasta la eyaculación suele ser de un minuto (UCO, 2005).

El principal contribuyente a la variación en la calidad del semen es el medio ambiente. Los efectos ambientales pueden ser temporales o permanentes. Los efectos permanentes, que ocurren durante los períodos prenatales y pre púberes, los factores temporales o permanentes que actúan después del inicio de la espermatogénesis, pueden alterar la calidad del semen. La calidad del semen mejora durante los primeros meses después de la pubertad y disminuye en la vejez (Foote, 1978).

La selección fenotípica para "arreglar" rasgos deseables dentro de una población a menudo implica un grado de apareamiento consanguíneo deliberado o inadvertido (reproducción en línea o endogamia), y funciona principalmente aumentando el grado de homocigosidad dentro de esa población. La desventaja inevitable de arreglar rasgos deseables al aumentar la homocigosidad es el riesgo de que "seleccionen" al mismo tiempo rasgos recesivos perjudiciales o que induzcan a una reducción más general del vigor y la fertilidad conocida como "depresión endogámica" (Van Eldik, 2006).

### **2.3. Técnica de Colecta Seminal**

La colecta seminal es básica en la clínica de reproducción equina, se emplea para evaluar la capacidad reproductiva de los sementales, el control rutinario de la calidad del semen, el diagnóstico de infertilidad y la inseminación artificial con semen fresco, refrigerado o congelado (UCO, 2005).

Normalmente, se utiliza una yegua en estro, a la yegua se le venda la cola para evitar laceraciones y la penetración. La yegua debe estar bajo sujeción para evitar que lastime al semental o al operador. En el caso de usar un

maniquí es necesario entrenar al macho durante varias semanas o meses, estimulándolo con la presencia de una yegua en estro para acostumbrarlo al maniquí. Se debe lavar el pene del semental antes de la colecta, lo que debe realizarse delante de una yegua en celo para que el macho tenga una erección y pueda procederse al lavado. La vagina artificial se usa para la recolección de semen equino y se basa en un aparato rígido o semirrígido, con sus respectivas mangas de látex, el receptáculo del semen y una válvula de presión (Galina, 2008).

Existen varios modelos, en donde el objetivo es imitar las condiciones naturales de la vagina de la yegua, estímulos necesarios para desencadenar la eyaculación (Palma, 2008).

La obtención del semen en la vagina artificial y su manipulación en el laboratorio puede dañar los espermatozoides por variaciones en su temperatura, iluminación y exposición a contaminantes, entre otros. Los lubricantes solubles en agua para preparar la vagina artificial pueden contaminar semen. La mayoría de estos lubricantes son muy hiperosmóticos, toman contacto con el semen durante la colección y puede ser una fuente de generación de estrés osmótico sobre el espermatozoide, con una disminución en motilidad (Sandoval, 2010).

### **2.3.1. Vagina artificial (VA)**

La recolección de semen se lleva a cabo con una vagina artificial (VA). Existen varios modelos, todos tratan de imitar las condiciones de temperatura y presión de la vagina de la yegua, estímulos necesarios para desencadenar la eyaculación (Palma, 2008).

En esta técnica, el semental que eyacula desarrolla totalmente la cadena de reflejos y la mecánica del coito fisiológico, aunque no exista penetración ni eyaculación en la vagina de una hembra. Los sementales seleccionados para la recolección de semen mediante el uso de una vagina artificial deben ser mansos. Básicamente, la vagina artificial es preparada llenando la camisa

interna con agua lo suficientemente caliente para resultar en una temperatura final de 42 - 45 grados centígrados. Se puede agregar aire para incrementar la presión de la vagina. Finalmente, ésta es lubricada con gel estéril no espermicida. El uso de este método tiene como desventaja de requerir el uso de animales dóciles y entrenados, sin embargo, se obtienen eyaculados con una baja contaminación cuando se realiza correctamente y con un equipamiento base (UBA, 2013).

El modelo Missouri es económico, liviano, fácil de manejar y limpiar. Se compone de una doble camisa de látex sellada a manera de cámara de agua, una carcasa de cuero envuelve dicha camisa para facilitar su manipulación; tiene una válvula para aire y agua. El modelo Nishikawa es de origen japonés, consta de un tubo metálico rígido de aluminio y una simple camisa de látex, entre los cuales queda conformada la cámara de agua. El modelo Hannover está compuesto de un tubo rígido, un tubo flexible o interno de goma, un vaso recolector, cuatro bandas de goma, una válvula y la manija de cuero. El tubo flexible y el vaso recolector deben ser esterilizados antes de su uso. Durante el montaje de la vagina se debe tomar la precaución de no tocar las partes de la vagina artificial que toman contacto con el pene o semen (Palma, 2008).

### **2.3.2. Mantenimiento y limpieza de la VA**

Todos los elementos de la vagina usados deben ser enjuagados con agua corriente templada, empleando un detergente neutro, para uso de laboratorio, que no deje residuos químicos que pueden resultar tóxicos y espermicidas. Luego del lavado, para remover los restos de suciedad y de lubricante se deben enjuagar con agua destilada por lo menos tres veces y sumergir en alcohol etílico por el término de dos horas. Para el secado se recomienda colgar las camisas en un gabinete cerrado para evitar que en ellas se deposite polvo. Pueden esterilizarse mediante óxido de etileno, teniendo la precaución de ventilarlas por un periodo no inferior a 48-72 horas antes de volver a usarlas (Ball, 2004).

Deben ser colgados para secarlos en un local protegido del polvo. En caso que sea necesario emplearlos inmediatamente después de la inmersión deben ser enjuagados con abundante agua caliente y posteriormente con solución salina o secado. Este proceso acorta la vida útil del tubo flexible. La utilización de un tubo interno desechable de polietileno estéril es una modificación del montaje de la VA modelo Hannover, que facilita la limpieza del tubo flexible de goma y torna innecesaria su esterilización. El tubo desechable se fija al tubo rígido, recubriendo el tubo de goma y sostiene el vaso recolector. Algunos sementales no aceptan el tubo de polietileno, en este caso se debe recurrir al tubo original (Palma, 2008).

### **2.3.3. Preparación de la VA**

Está compuesta por un cilindro rígido y poco pesado, con un forro interno de goma. Para rellenar el espacio entre el forro y la estructura rígida se utiliza agua y aire (temperatura en el momento de la recogida de 42 a 44 °C) cuya presión durante la recogida se mantiene por medio de la vagina. En el extremo de la vagina se coloca una bolsa de goma de forma que el operador pueda ejercer presión sobre el glándulo del pene. La presión sobre el glándulo y la temperatura del agua son los dos factores principales que determinan la eyaculación. La entrada de la vagina artificial se recubre con un lubricante estéril, y el otro extremo de la vagina se coloca en embudo recolector de goma (Vicenté, 2006).

El uso de una vagina artificial es esencial para la colección de semen de alta calidad y es el método de colección preferido ya que los garañones no responden favorablemente a la electroeyaculación ya que la mayoría de estos pueden ser entrenados para utilizar una vagina artificial (CIRE, 1993).

### **2.3.4. Otras técnicas de colecta seminal**

Otra técnica común para la colecta es la masturbación, que consiste en realizar la recogida del semen mediante el masaje del pene del caballo, este tipo de recolección lleva consigo un duro trabajo durante el periodo de entrenamiento,

pero suele ser bien aceptado por los animales, es muy práctico y eficaz una vez que el semental está acostumbrado (Crump, 1994).

La excópula es la utilización de fármacos para provocar la eyaculación de los sementales y puede ser una alternativa a problemas como la falta de libido o problemas de erección, monta o eyaculación (Serres, 2012).

La eyaculación puede ser inducida con agentes alfa-adrenérgicos, como la aplicación de 0,6 mg/kg IV de clorhidrato de Xilacina, después de la estimulación sexual durante 10-15 minutos. Aquellos obtenidos por medio de inducción con imipramide presentan la concentración elevada y bajo volumen. La motilidad después de la descongelación, la longevidad y tasa de alteraciones morfológicas son semejantes a la del semen recolectado por medio de la VA (Muiño et al., 2005).

Según Baker (1957), los espermatozoides de epidídimo pueden obtenerse post mortem o tras una castración; después de la muerte de un semental los espermatozoides del epidídimo permanecen viables durante un tiempo antes de la descomposición (24 horas tras castración a temperatura ambiente).

Los espermatozoides obtenidos mediante este sistema pueden presentar un cierto grado de inmadurez, se caracterizan por la presencia de un gran número de gotas citoplasmáticas y una baja motilidad. Cuando la recolección se realiza postmortem el estado de las células es deficiente, los espermatozoides son sensibles a la hipoxia, la acción de los fármacos y la endotoxemia (Serres, 2012).

#### **2.4. Características Seminales en Equinos**

Los dos principales componentes del semen son los espermatozoides y el plasma seminal. El plasma seminal sirve como sustrato para los espermatozoides, los protege de las fluctuaciones osmóticas, previene la oxidación de otros componentes químicos y actúa como agente de coagulación (Morel, 1999).

Se divide en tres fracciones:

1. La pre-secreción: se observa cuando el semental salta y tiene la función de limpiar y lubricar la uretra.
2. La fracción rica: contiene de un 80 a 90 % de espermatozoides y componentes bioquímicos.
3. La fracción pobre: también conocida como fracción gel, es producida por las vesículas seminales y posee baja concentración de espermatozoides (Mann, 1975).

Las características morfológicas propias de la especie equina son cabeza asimétrica, posición abaxial de la cola, un acrésima de poco volumen y la presencia de microtúbulos en su cuello. Además, se ha reportado que el porcentaje de espermatozoides normales varía de 51 % - 89 %; la presencia de anomalías mayores, suman 9,5 %, incluyendo anomalías de la cabeza 4,1 %, cola doblada debajo de la cabeza 2,5 % y defectos del cuello 2,4 %; y, anomalías menores comprometiendo el 10,7 %, dentro de las cuales se encuentran colas dobladas 6,9 %, pérdida de porciones de la cabeza 1,4 % y pérdida del acrosoma 2 % (Wenli, 2010).

Las medidas testiculares permiten determinar en forma indirecta la capacidad reproductiva potencial de un semental, estimando la producción espermática diaria, de esa forma el número potencial de yeguas que puede cubrir al día un semental (Blanchard et al., 2008).

El tamaño testicular varía de acuerdo a la edad del animal, época del año y raza. Además, existen variaciones en el tamaño de acuerdo al individuo. Los testículos son más grandes dependiendo de la época reproductiva, alcanzando su máximo durante los meses en que el fotoperiodo es más largo, sin esto la actividad testicular se reduce, hay menores concentraciones de testosterona circulante y menor producción total de espermatozoides. Sin embargo, el testículo equino no deja de producir totalmente espermatozoides, por lo que los sementales son fértiles todo el año (Galina, 2008).

La calidad seminal está ligada a diversos factores, dentro de estos tenemos genéticos, nutricionales, manejo y salud del animal, individualidad, integridad física y mental, libido y comportamiento sexual, planes zoosanitarios y algunos desórdenes reproductivos presentes, como la degeneración testicular, hipoplasia testicular, criptorquidismo, dentro de otras alteraciones patológicas (Romero, 2015).

#### **2.4.1. Metabolismo espermático**

La fuente de energía de los espermatozoides eyaculados son los carbohidratos de sustrato exógeno, los monosacáridos como la glucosa son metabolizados rápidamente por los espermatozoides equinos y tienen capacidad limitada para usar otros carbohidratos más complejos para atravesar la membrana plasmática, la glucosa se liga a proteínas transportadoras y no hay almacenamiento de ésta en la célula espermática. El espermatozoide equino para su producción de ATP depende de un metabolismo aeróbico. Este metabolismo produce peroxidación lipídica a través de peróxido de hidrogeno de las mitocondrias, esto compromete la motilidad, la viabilidad e integridad estructural (Álvarez et al., 1984).

Una vez que es consumido el oxígeno presente en el plasma seminal o en el diluyente, da lugar a un metabolismo anaeróbico produciendo finalmente ácido láctico, el aumento conduce a un aumento de pH y consecuente disminución de metabolismo, ATP y por consiguiente motilidad. Para conservar una viabilidad espermática adecuada debe haber un pH extracelular entre 6,2 y 7,8 (Wenrli, 2010).

Cuadro 1. Características y componentes del semen equino

Característica o componente	Valores
Volumen eyaculado (ml)	60 - 100
Concentración espermática (millones/ml)	150 - 300
Espermatozoides/eyaculado (billones)	5 - 15
Motilidad espermática (%)	40 - 75
Espermatozoides normales (%)	60 - 90
Proteína (g/100 ml)	1.0
pH	7.2 – 7.8
Fructosa (mg/100 ml)	2
Sorbitol (mg/100 ml)	20 - 60
Ácido cítrico (mg/100 ml)	8 - 53
Inositol (mg/100 ml)	20 - 47
GPC (mg/100 ml)	40 - 100
Ergotioneína (mg/100 ml)	40 - 110
Sodio (mg/100 ml)	257
Potasio (mg/100 ml)	103
Calcio (mg/100 ml)	26
Magnesio (mg/100 ml)	9
Cloro (mg/100 ml)	448

Fuente: (Ball, 2004)

## 2.5. Evaluación del Semen Equino

En la evaluación del equino se valoran las características macroscópicas que son el volumen, pH, color, y las microscópicas que son concentración, motilidad y morfología.

### 2.5.1. Volumen

Se colecta el volumen de semen filtrado, libre de gel. El volumen oscila entre

20-150 ml. Existen importantes variaciones en función del individuo, raza, régimen sexual, estación del año, método de recogida, etc. (Gómez, 2011).

### **2.5.2. Color**

El color normal del semen varía de blanquecino a blanco grisáceo-crema, según la concentración espermática, pudiendo aparecer colores u olores anormales que suelen ser indicativos de problemas (Samper y Estrada, 2007; Brinsko y col., 2011).

Coloraciones anormales indicarían contaminaciones: orina, sangre, etc. (Bearden, 1982).

### **2.5.3. pH**

La evaluación inmediatamente después de la recogida seminal (pHmetro/tiras de pH), está entre 7,2 - 7,6 en equino. Está inversamente relacionado con la concentración espermática. El metabolismo espermático acidifica el medio y presencia de sustancias contaminantes como la orina y procesos inflamatorios que le dan valores más altos (Gómez, 2011).

### **2.5.4. Concentración espermática**

Permite evaluar la capacidad de producción de espermatozoides del semental y calcular el número de dosis a producir por eyaculado. Existe correlación entre la concentración y fertilidad (Olegario, 2012).

Según Davies (2003), una concentración promedio varía entre 100 a 600 millones de espermatozoides/ml. Pueden existir variaciones en función del individuo, estación del año, frecuencia y técnica de recogida (Gómez, 2011).

Entre los diferentes métodos de evaluación están:

- Cámaras de recuento celular: *Neubauer / Thoma*. Contaje manual.

- Espectrofotómetro.
- Contadores celulares electrónicos.
- Spermicue (minitube of America Inc.).
- Sistema CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) (Miró y Ocaña, 2006).

### 2.5.5. Motilidad espermática

Proporciona los datos más importantes sobre calidad y viabilidad de una muestra espermática.

- **Movimiento total:** es el porcentaje de espermatozoides que son móviles (60 a 90 %).

Se pudo observar en muestras en un aumento de 200 en el intento de mostrar el movimiento progresivo y el movimiento en forma de 360° para el cual fueron necesarias varias muestras en el cual debido a que secan rápido se procedió a observarlas en el centro de la placa 3 o 5 campos; para que los espermatozoides sean llamados móviles deben cruzar el campo microscópico razonablemente rápido y con cada movimiento de su cola debe rotar 360°, espermatozoides con otro tipo de motilidad se los consideró muertos (Long et al., 1993).

En caballos hay que tener en cuenta que en un 50 % de los casos y de forma fisiológica la inserción del flagelo en la cabeza es abaxial, lo que determina que el patrón de movilidad progresiva no sea tan rectilíneo como en otras especies (Kenney y col., 1983).

- **Movimiento progresivo (motilidad individual):** porcentaje de espermatozoides con trayectoria progresiva en línea recta. El rango posible comprende desde un 40 % a un 90 %, siendo el mínimo aceptable del 50 % (Gómez, 2011).

- **Vigor de movimiento:** se evalúa al mismo tiempo que la motilidad individual, teniendo en cuenta la velocidad con la que estos espermatozoides atraviesan el campo. La escala que se utiliza es de 0 a 5 (rangos posibles), evaluando como 0 los espermatozoides inmóviles y como 5 los que avanzan rápidamente por el campo y son difíciles de seguir visualmente.

Se estima la motilidad total y progresiva y adicionalmente se puede realizar una estimación de la velocidad o vigor espermático (Varner, 2008).

#### **2.5.6. Longevidad de la motilidad espermática**

Valoración de la motilidad a diferentes tiempos (12, 24, 48 y 72 horas) y temperaturas (corporal y de refrigeración a 4 °C). Esta prueba permite determinar la viabilidad del semen en el tracto de la hembra, así como su calidad y viabilidad tras la refrigeración. La longevidad espermática a la refrigeración guarda gran correlación con la capacidad de congelación del semen (Miró y Ocaña, 2006).

El factor dilución es muy importante en la longevidad del semen debido a los componentes incluidos en el diluyente, de forma que a mayor dilución mayor longevidad (manteniendo un mínimo de espermatozoides por dosis). El esperma puro mantendrá espermatozoides móviles hasta 18-24 horas, mientras que el fresco diluido lo hará hasta las 48 horas. Mediante la dilución de la muestra seminal conseguimos aumentar la longevidad porque disminuimos el efecto negativo del plasma seminal (Pineda y Santande, 2007). Hay una relación entre el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales y la motilidad espermática, de modo que los porcentajes de morfología normal y motilidad progresiva espermática de una muestra suelen ser similares (Varner, 2008).

#### **2.5.7. Morfología espermática**

Se basa en la relación directa existente entre la proporción de espermatozoides anormales en el eyaculado, el tipo de defecto y su relación con la fertilidad *in*

vivo (Muiño, 2013).

La evaluación de las anomalías morfológicas puede realizarse sobre preparaciones húmedas o fijadas en un portaobjetos. El rango de presencia de anomalías en un semen de calidad está entre 10 % y 25 % (Gómez, 2011).

Altos porcentajes se asocian a inmadurez sexual, procesos degenerativos y patológicos. Se han encontrado varias afecciones hereditarias asociadas con defectos testiculares, espermatogénesis anormal y espermatozoides morfológicamente anormales. El tamaño testicular afecta directamente el potencial de salida del esperma (Foote, 1978).

Aunque la correlación entre la morfología y la fertilidad no ha sido totalmente establecida (Blanchard y col., 1998), se ha descrito que los sementales fértiles tienen más del 60 % de espermatozoides morfológicamente normales y menos del 5 % de morfoanomalías del acrosoma y pieza intermedia (Samper y Estrada, 2007), y que la fertilidad se compromete cuando los niveles de morfología normal caen por debajo del 40 % (Katila, 2001).

Mayoritariamente, las anomalías se clasifican en:

- **Primarias:** de origen testicular, producidas durante la espermatogénesis. Corresponden a anomalías de la cabeza, pieza intermedia o inserción de la cola.
  - Específicas: de origen genético. Pueden afectar a cualquier estructura espermática.
  - No específicas.
  
- **Secundarias:** desarrolladas en el epidídimo a lo largo del proceso de maduración espermática, suelen corresponder a presencia de gotas citoplasmáticas. Afectan fundamentalmente a la cola del espermatozoide.
  
- **Terciarias:** originadas por manipulación incorrecta del semen tras la

recolección.

Existen afecciones hereditarias asociadas con defectos testiculares, espermatogénesis anormal y espermatozoides morfológicamente anormales. Estos generalmente son controlados por pares de genes individuales. El tamaño testicular afecta directamente el potencial de salida del esperma (Foote, 1978).

### **2.5.8. Análisis de seminales alternativos**

Algunos sementales pueden mostrar bajos índices de fertilidad, a pesar de presentar un seminograma normal. En estos casos se recomienda recurrir a pruebas alternativas para estudiar otros parámetros.

#### **• Vitalidad espermática**

Se valora indirectamente mediante la integridad de la membrana plasmática. El estudio se hace mediante tinciones:

- Tinciones no fluorescentes:
  - Eosina – nigrosina: permite diferenciar entre espermatozoides vivos (no teñidos) y muertos (color rojizo por la penetración de eosina al existir pérdida de la continuidad de la membrana).
  - Tripán azul: vivos (no teñidos) y muertos (teñidos de azul) (Muiño, 2013).

#### **• Integridad del acrosoma**

El acrosoma es fundamental en el proceso de fecundación. Especialmente importante tras la descongelación ya que el espermatozoide sufre daños a nivel acrosomal durante dicho proceso (Miró y Ocaña, 2006).

La técnica de triple tinción permite valorar la vitalidad y el *estatus* acrosomal mediante el empleo de tripán azul (colorante vital), marrón de Bismark (colorante postacrosómico) y rosa de Bengala (colorante acrosómico).

Además de la triple tinción, se emplea la tinción eosina/verde rápido, Giemsa, eosina/negrosina y otras tinciones dobles. La valoración de los espermatozoides, incluso de especies cuyo tamaño es relativamente pequeño (équidos, porcino, entre otras), se puede realizar mediante un microscopio óptico de contraste de fases con objetivo de 60x (Olegario et al., 2012).

#### ● **Análisis morfométrico computarizado**

Permite una valoración de la morfología usándose equipos de análisis de imagen computarizados (sistemas CASA). Existe relación entre alteraciones morfométricas importantes de los espermatozoides y problemas de fertilidad. Además, permite valorar los cambios morfológicos producidos tras la descongelación (Muiño, 2013).

#### ● **Análisis computarizados de motilidad espermática**

Mediante el uso del sistema CASA es posible valorar de forma objetiva la motilidad seminal. Permite la obtención de parámetros como el porcentaje de espermatozoides móviles, velocidad curvilínea (VCL), rectilínea (VSL), media (VAP), índice de linealidad, rectitud, oscilación, amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza, frecuencia del batido del flagelo, etc. También identifica la existencia de subpoblaciones espermáticas con distintos patrones de movimiento que coexisten en la misma muestra, lo cual es una visión más real que la motilidad media, puesto que, un eyaculado está constituido por una población heterogénea de espermatozoides. La presencia de estas subpoblaciones podría sugerir la existencia de alguna relación entre cambios en la estructura subpoblacional de una muestra y su capacidad fecundante (Muiño, 2013).

- **Test de resistencia osmótica**

Valora la integridad de la membrana plasmática a través de su capacidad para intercambiar líquidos (Olegario et al., 2012).

- **Otras pruebas**

- Test bioquímicos: producción de L-Lactato valora el metabolismo energético de los espermatozoides.
- Valoración de enzimas: GOT, LDH, hialuronidasa. Su valoración en el plasma seminal indica el grado de daño del acrosoma y membrana plasmática.
- Microscopía electrónica.
- Test de penetración heteróloga.
- Valoración de receptores de progesterona en la membrana plasmática.
- Análisis de plasma seminal.

## **2.6. Trabajos Relacionados**

Nishikawa realizó estudios sobre las características seminales del semental y concluyó que el volumen seminal y el material gelatinoso eran los únicos dos de los siete parámetros significativamente afectados por la estación. También observó una variación estacional pronunciada en la concentración de ergotioneína, ácido cítrico y volumen de semen. A medida que la luz del día disminuía el tiempo de reacción, la concentración de espermatozoides y la motilidad aumentaban y el volumen de eyaculación y el contenido de ácido cítrico disminuían. También se ha informado que la temporada afecta la fertilidad del semental.

En este estudio se evaluaron ocho características seminales y tres características de comportamiento, se midieron durante e inmediatamente después de la recolección de los primeros y segundos eyaculados de semen

de cada uno de los cinco sementales durante un período de 12 meses. Se observaron diferencias ( $p < 0,01$ ) entre los medios del primer y segundo eyaculados para todos los criterios, excepto el volumen del semen, la motilidad, y el tiempo de copulación (Pickett et al., 1970).

En otro estudio se evaluaron los efectos de una vacuna anti-GnRH sobre la concentración de testosterona, el título de anticuerpos, el ancho escrotal, la calidad del semen y el comportamiento sexual en el semental. La calidad del semen comenzó a disminuir después de la segunda vacunación y mejoró hacia el final del experimento. En 4 sementales, la libido se redujo claramente después de la segunda inmunización, pero se normalizó en 2 animales antes del final del estudio, mientras que 2 sementales continuaron mostrando una libido pobre (Janett et al., 2009).

Otro estudio obtuvo el volumen promedio de semen sin gel de los sementales, que tendió a ser mayor durante el verano que durante el invierno; el volumen promedio de semen sin gel para los sementales tratados fue generalmente menor que para los sementales no tratados después de abril. El volumen de gel para los sementales tratados fue constante, mientras que los sementales no tratados exhibieron el patrón estacional normal. Por lo tanto, el fotoperiodo artificial no produjo un aumento del volumen seminal durante el invierno y pareció suprimir el aumento normal durante el verano (Thomson et al., 1977).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Materiales de Campo**

- Establo.
- Vagina artificial tipo Missouri.
- Envases colectores para semen.
- Guantes.
- Brete de monta.
- Bozal protector.
- Overol.
- Botas.
- Cámara.
- Libreta de apuntes.
- Casco protector.

#### **3.2. Materiales de Laboratorio**

- Microscopio.
- Baño María de 35 a 37 °C.
- Platina calefactora.
- Micropipetas.
- Cámara de Neubauer.
- Tubos de ensayo graduados.
- Matraz.
- Gradilla.
- Termómetro.
- Hervidor de agua.
- Pipetas.
- Porta y cubre objetos (atemperados).
- Guantes de látex.

- Cubre bocas.
- Lentes de seguridad.
- Puntas amarillas 10-100  $\mu$ l.
- Tinción vital (Eosina-Nigrosina).
- Agua bidestilada.
- Solución formolada al 5 %.
- Solución fisiológica.
- Alcohol.

### **3.3. Materiales de Oficina**

- Computadora.
- Impresora.
- Material de escritorio.
- Hojas papel bond.

### **3.4. Ubicación**

El presente trabajo se realizó en dos fases, la primera, referente al estudio del comportamiento sexual y recolección, y la otra el trabajo en el laboratorio, ambas fases se realizaron en la finca “Chanita” ubicada en el barrio Santa Bárbara, en el cantón y parroquia Quilanga.

- Altitud: 1 820 msnm.
- Clima: cálido – seco.
- Temperatura: 24 – 30 °C.

### **3.5. Descripción de las Unidades Experimentales**

Se utilizaron tres ejemplares equinos: raza Árabe, Mestizo (paso peruano y paso colombiano) y Criollo, con una edad promedio entre 6 y 15 años. A cada ejemplar se le realizó el estudio del comportamiento sexual antes, durante y después de la monta. Se colectaron tres muestras seminales (eyaculados), con un total de nueve muestras.

### **3.6. Descripción y Adecuación de Instalaciones**

Para la fase de evaluación del comportamiento sexual se hizo la observación directa de los sementales y se anotó el comportamiento en las diferentes variables de estudio.

Para la fase de recolección seminal se utilizó una hembra equina previamente inducida hormonalmente al celo, utilizando sistema de sujeción de doble pialera para evitar daños al semental y técnico colector.

### **3.7. Variables de Estudio**

- Examen clínico externo, diámetro y consistencia testicular.
- Conducta sexual antes durante y post coito.
- Valoración de semen: se realizaron dos tipos de evaluación microscópica y macroscópica.
  - Evaluación macroscópica: observación de características físicas: color, densidad, pH.
  - Evaluación microscópica en fresco: evaluación de motilidad, morfología y concentración espermática.

### **3.8. Toma y Registro de Datos**

#### **3.8.1. Examen clínico externo, diámetro y consistencia testicular**

El examen clínico se realizó mediante una evaluación del estado general de los ejemplares, así mismo, tomando en cuenta el historial clínico se evaluó aplomos y condición corporal mediante observación directa, se realizó la medida del perímetro escrotal mediante una cinta métrica y la consistencia testicular mediante palpación a los testículos.

### **3.8.2. Conducta antes durante y post coito**

Se realizó un video de las montas de cada uno de los ejemplares, posteriormente se procedió a volver a observar los videos y hacer el conteo y la observación de los síntomas de la monta tanto en intensidad, frecuencia y tiempo mediante el uso de un cronometro y un contador.

### **3.8.3. Toma de muestras seminales y valoración seminal**

Se realizó la colecta semanal de semen a cada uno de los sementales evaluados mediante el uso de la VA y mediante frascos milimetrados para medir la cantidad. Inmediatamente de colectadas las muestras se realizó *in situ* la valoración macroscópica y microscópica del semen fresco.

#### **• Valoración macroscópica**

- Se midió el volumen de eyaculado sin gel mediante tubos recolectores milimetrados.
- Se midió el pH mediante una cinta de medición de pH.
- Se observó el color mediante observación directa.

#### **• Valoración microscópica**

- Se realizó la observación de la motilidad y vigor mediante microscopio.
- Posteriormente se observó en la concentración espermática mediante el conteo con cámara de Neubauer.
- Luego se identificó la morfología mediante tinción de eosina-negrosina y se procedió a observar los frotis y se realizó el conteo morfológico.

### 3.9. Diseño Experimental

Se utilizó un arreglo factorial 3x3 donde se dispuso de 3 machos adultos pertenecientes a 3 razas distintas y a cada uno de los cuales se les realizó 3 colectas de semen (repeticiones).

Cuadro 2. Diseño experimental

Grupo racial	Macho evaluado	Colectas (UE)
Árabe	A1	3
Mestizo	B1	3
Criollo	C1	3
Total 3	3	9

#### 3.9.1. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza y se aplicó una prueba de LSD Fisher para comparación de promedios mediante el uso del programa estadístico infoestat.

## 4. RESULTADOS

Los resultados de la investigación se presentan a continuación, que comienza con el examen clínico general de los ejemplares.

### 4.1. Examen Clínico

Cuadro 3. Evaluación del examen clínico a los ejemplares de los grupos raciales en estudio (promedio)

Raza	Aplomo	Examen clínico		
		Cond. Corp.(1-5)	P.E (cm)	C. T (1-5)
Árabe	Normal	3,0	18,8	3,0
Mestizo	Normal	2,5	17,6	2,5
Criollo	Normal	3,0	18,2	3,0

Fuente: el autor.

(P.E: Perímetro Testicular – C.T: Consistencia Testicular)

En el Cuadro 3 tenemos datos sobre la anamnesis realizada a los sementales de las diferentes razas, teniendo todos aplomos en buen estado, una buena condición corporal, perímetro testicular (PE) dentro de los rangos normales, indicando que no presentan ningún proceso inflamatorio, así mismo la consistencia testicular indicando que no posee ninguna patología de tipo tumoral.

### 4.2. Evaluación de Conducta Sexual

Se calificó la intensidad de los diferentes síntomas de conducta sexual en tres categorías: alta, media y baja, dándole un puntaje a la intensidad alta como 100 puntos, a la media 50 puntos y a la baja con 25 puntos.

#### 4.2.1. Sintomatología de conducta sexual antes de la monta

- **Conducta de cortejo**

Cuadro 4. Comportamiento de la conducta de cortejo antes de la monta en los ejemplares machos de los diferentes grupos raciales estudiados

Antes de la monta	Intensidad (%)	Raza		
		Criolla	Mestiza	Árabe
Conducta de cortejo	Frecuencia (reps)	100 %	50 %	100 %
		> 4	> 4	> 4
	Tiempo (s)	33	55	35

Fuente: el autor

Como se puede observar en el Cuadro 4, la conducta de cortejo fue con una intensidad alta tanto en la raza Criolla como en la Árabe, con una frecuencia de más de 4 repeticiones en un tiempo promedio de 33 segundos en la Criolla y 35 segundos en la Árabe, mientras que la raza Mestiza presentó una intensidad media lo que provocó que el tiempo de la frecuencia de repeticiones sea mayor (55 segundos).

- **Reflejo Flehmen**

Cuadro 5. Comportamiento del reflejo Flehmen en los ejemplares de los diferentes grupos raciales estudiados

Antes de la monta	Intensidad (%)	Raza		
		Criolla	Mestiza	Árabe
Reflejo de Flehmen	Frecuencia (reps)	100 %	50 %	50 %
		> 4	3-4	> 4
	Tiempo (s)	4	3	3

Fuente: el autor

En el Cuadro 5 se puede observar que la raza Criolla presentó alta intensidad en la sintomatología del reflejo Flehmen que se manifestó en un mayor tiempo de duración de la misma (4 segundos); mientras que la raza Mestiza y Árabe tuvieron un desempeño medio con 50 puntos de intensidad, con 3 a 4 repeticiones y que se manifestó en un menor tiempo de duración (3 segundos).

### • Resoplido

Cuadro 6. Comportamiento del síntoma de resoplido en los grupos raciales estudiados

Antes de la monta	Intensidad (%)	Raza		
		Criolla	Mestiza	Árabe
Resoplido	Frecuencia (reps)	50 %	50 %	25 %
		3-4	3-4	1-2
	Tiempo (s)	2	2	1

Fuente: el autor

En la sintomatología de resoplido la raza Criolla y Mestiza presentaron un comportamiento de intensidad media (50 puntos) con una frecuencia de repeticiones de 3 a 4 en un tiempo de 2 segundos, en tanto que la raza Árabe mostró una conducta de resoplido de intensidad baja con una frecuencia de repeticiones de 1 a 2 en un promedio de 1 segundo.

### • Hociqueo

Cuadro 7. Comportamiento del síntoma del hociqueo de los grupos raciales estudiados

Antes de la monta	Intensidad (%)	Raza		
		Criolla	Mestiza	Árabe
Hociqueo	Frecuencia (reps)	50 %	50 %	50 %
		3-4	3-4	3-4
	Tiempo (s)	4	3	5

Fuente: el autor

En el Cuadro 7 encontramos a las 3 razas con una intensidad media (50 puntos) y una frecuencia de 3 a 4 repeticiones, siendo el tiempo lo que diferencia a las 3 razas con 4 segundos de promedio en la raza Criolla, 3 segundos en la raza Mestiza y 5 en la raza Árabe.

### • Lamido

Cuadro 8. Comportamiento del síntoma de lamido en los grupos raciales estudiados

Antes de la monta	Intensidad (%)	Raza		
		Criolla	Mestiza	Árabe
Lamido	Frecuencia (reps)	25 %	50 %	25 %
		3-4	1-2	1-2
	Tiempo (s)	3	3	6

Fuente: el autor

En cuanto al síntoma de lamido el grupo racial que tuvo un mejor comportamiento fue el Mestizo con una intensidad media (50 puntos) con 1 a 2 repeticiones en un promedio de 3 segundos; en tanto que la raza Criolla y Árabe tuvieron una intensidad baja (25 puntos) con 3 a 4 repeticiones en donde la Criolla tuvo un promedio de 3 segundos, y en la raza Árabe esta sintomatología tuvo una mayor duración (6 segundos).

### • Mordidas

Cuadro 9. Comportamiento del síntoma de mordidas producidas por los grupos raciales estudiados

Antes de la monta	Intensidad (%)	Raza		
		Criolla	Mestiza	Árabe
Mordidas	Frecuencia (reps)	50 %	25 %	25 %
		3-4	1-2	1-2
	Tiempo (s)	5	3	7

Fuente: el autor

En el Cuadro 9 se observa que las razas Mestiza y Árabe presentaron una intensidad baja con respecto a este síntoma, lo cual es positivo para la hembra durante la realización de la monta. La frecuencia de mordidas por monta fue de 1 a 2, siendo en la raza Árabe donde los ejemplares demoraron más tiempo por mordida (7 segundos), en tanto que los mestizos únicamente la duración fue de 3 segundos. La raza Criolla demostró una mayor agresividad pues la intensidad de este síntoma fue media, con una frecuencia de 3 a 4 repeticiones, en un tiempo de mordida de 5 segundos en promedio.

### ● Relinchos

Cuadro 10. Comportamiento del síntoma de relincho en los grupos raciales estudiados

Antes de la monta	Intensidad (%)	Raza		
		Criolla	Mestiza	Árabe
Relinchos	Frecuencia (reps)	50 %	50 %	50 %
		3-4	3-4	3-4
	Tiempo (s)	4	6	11

Fuente: el autor

El síntoma de relincho demuestra mayor excitabilidad y libido en el macho, lo cual todas las razas demostraron una intensidad media (50 puntos) con una frecuencia de 3 a 4 repeticiones siendo la diferencia en la duración de este síntoma en donde la raza Árabe presentó una mayor duración (11 segundos) en relación a las otras razas en donde la duración fue menor, Mestiza de 6 segundos y la Criolla de 4 segundos.

- **Erección gradual**

Cuadro 11. Comportamiento del síntoma de erección gradual de los grupos raciales estudiados

Antes de la monta	Intensidad (%)	Raza		
		Criolla	Mestiza	Árabe
Erección gradual	Frecuencia (reps)	100 %	100 %	50 %
		1-2	1-2	1-2
	Tiempo (s)	16	13	10

Fuente: el autor.

En cuanto al síntoma de la erección los ejemplares Criollos y Mestizos presentaron un mejor comportamiento con una alta intensidad y un mayor tiempo de la misma, 16 segundos para la Criolla y 13 segundos para la Mestiza, mientras que la raza Árabe fue la que presentó una intensidad media y un menor tiempo de duración en cuanto a la erección.

- **Acercamiento a la monta**

Cuadro 12. Comportamiento del síntoma de acercamiento a la monta manifestado en los grupos raciales estudiados

Antes de la monta	Intensidad (%)	Raza		
		Criolla	Mestiza	Árabe
Acercamiento a la monta		50 %	50 %	50 %
	Frecuencia (reps)	> 4	3-4	1-2
	Tiempo (s)	41	46	74

Fuente: el autor

El Cuadro 12 nos muestra que la raza Árabe presentó una intensidad media y una menor frecuencia de repeticiones, con una mayor duración en la demostración de este síntoma demostrando una baja libido sexual. En tanto que la raza Criolla y Mestiza manifestaron una intensidad media con una mayor frecuencia de repeticiones y menor tiempo en la aparición de esta sintomatología.

- **Embestida de la hembra**

Cuadro 13. Comportamiento del síntoma de embestida a la hembra por los grupos raciales estudiados

Antes de la monta	Intensidad (%)	Raza		
		Criolla	Mestiza	Árabe
Embestida a la hembra	Frecuencia (reps)	50 %	100 %	50 %
		> 4	> 4	3-4
	Tiempo (s)	2	2	2

Fuente: el autor

En el Cuadro 13 podemos observar que la raza Mestiza tuvo el mejor comportamiento en este síntoma con una intensidad alta, un mayor número de intentos en un menor tiempo. Mientras que las razas Criolla y Árabe presentaron una intensidad media, con un promedio similar de intentos 3 a 4 en igual tiempo (2 segundos).

- **Falsas montas**

Cuadro 14. Comportamiento del síntoma falsas montas que se dieron por parte de los grupos raciales estudiados

Antes de la monta	Intensidad (%)	Raza		
		Criolla	Mestiza	Árabe
Falsas montas	Frecuencia (reps)	25 %	50 %	50 %
		1-2	3-4	3-4
	Tiempo (s)	6	5	13

Fuente: el autor

El Cuadro 14 nos muestra la raza Criolla con la menor cantidad de falsas montas (1 a 2 repeticiones), una intensidad baja (25 puntos) en un promedio de 6 segundos, mientras que la raza Árabe y Mestiza presentan una mayor intensidad con un mayor número de falsas montas (3 a 4 repeticiones) siendo en la Árabe más prolongada esta sintomatología (13 segundos) y en la Mestiza 5 segundos.

#### 4.2.2. Sintomatología de conducta sexual durante la monta

##### • Tiempo de coito

Cuadro 15. Comportamiento del síntoma de tiempo de coito que se obtuvo de los grupos raciales estudiados

Momento	Intensidad	Raza		
		Criolla	Mestiza	Árabe
Durante de la monta	Tiempo (s)	21	16	19

Fuente: el autor

En el cuadro 15 podemos observar que la raza Criolla presenta una mayor duración en el tiempo de coito (21 segundos), seguido de la raza Árabe con una duración de 19 segundos y en la raza Mestiza con 16 segundos.

##### • Respiración

Cuadro 16. Sintomatología respiración en los grupos raciales estudiados

Durante la monta	Intensidad (%)	Raza		
		Criolla	Mestiza	Árabe
Respiración	Frecuencia (reps)	100 %	100 %	100 %
		> 4	> 4	> 4
	Tiempo (s)	60	60	60

Fuente: el autor

El Cuadro 16 nos muestra la respiración producida por los ejemplares el momento de coito, siendo la misma de intensidad alta, y de igual frecuencia y tiempo en todos los ejemplares, se otorgó a todos los ejemplares 100 puntos, con más de 4 repeticiones debido a que fueron todas las respiraciones contadas en el lapso de 60 segundos.

### • **Musculatura de las extremidades posteriores**

Cuadro 17. Sintomatología de la musculatura de las extremidades posteriores de los grupos raciales estudiados

Durante la monta	Intensidad (%)	Raza		
		Criolla	Mestiza	Árabe
Musculatura extremidades poster.		100 %	100 %	100 %

Fuente: el autor

El Cuadro 17 muestra que todos los ejemplares tuvieron similar comportamiento en el tren posterior, pues esta región es la más importante para la monta, todos los ejemplares fueron calificados con 100 puntos.

### • **Aleteo de la cola**

Cuadro 18. Sintomatología de aleteo de la cola de los grupos raciales estudiados

Durante la monta	Intensidad (%)	Raza		
		Criolla	Mestiza	Árabe
Aleteo de la cola	Frecuencia (reps)	50 %	50 %	50 %
		> 4	> 4	> 4
	Tiempo (s)	8	10	22

Fuente: el autor

En el cuadro 18 se puede observar a la raza Árabe con un mayor tiempo de aleteo (22 segundos) que demuestra mayor excitabilidad, todas las razas del grupo tuvieron un desempeño medio de 50 puntos de intensidad y más de 4 repeticiones, variando en sus tiempos con 10 segundos en la raza Mestiza y 8 segundos en la raza Criolla.

### 4.2.3. Sintomatología de conducta sexual antes de la monta

- **Actividad refractaria**

Cuadro 19. Sintomatología de la actividad refractaria de los grupos raciales estudiados

Después de la monta	Intensidad (%)	Raza		
		Criolla	Mestiza	Árabe
Actividad Refractaria	Frecuencia (reps)	-	-	-
		-	-	-
	Tiempo (s)	36,66	30,66	29,66

Fuente: el autor

El Cuadro 19 indica el tiempo de actividad refractaria que tienen los sementales desde su último eyaculado hasta la monta siguiente en el mismo día, siendo la raza Árabe la de menor tiempo refractario con 29,66 segundos, seguido de la raza Mestiza con un promedio de 30,66 segundos y la raza Criolla con el mayor tiempo con 36,66 segundos.

### 4.3. Evaluación seminal

Para esta evaluación fueron necesarios realizar registros con datos de las características físicas y morfológicas del semen equino; mientras que para la evaluación seminal se dio en dos partes, la primera analizando las características macroscópicas y microscópicas.

#### 4.3.1. Características microscópicas

Cuadro 20. Evaluación de las características microscópicas del semen equino en los grupos raciales estudiados

Raza	Evaluación seminal			
	Características microscópicas			
	Motilidad (%)	Vigor (1-5)	Concentración (millones/ml)	Defectos mayores (%)
Criolla	56,66 <sup>a</sup>	2,50 <sup>a</sup>	84,60 <sup>b</sup>	16,83 <sup>b</sup>
Mestiza	58,33 <sup>a</sup>	2,83 <sup>a</sup>	137,33 <sup>a</sup>	16,33 <sup>b</sup>
Árabe	68,33 <sup>b</sup>	2,60 <sup>a</sup>	131,66 <sup>a</sup>	7,33 <sup>a</sup>

Letras distintas en una misma columna indican diferencia estadística  $p < 0.05$ .

En el Cuadro 20 se indica que la raza Árabe posee una mejor calidad seminal ya que tiene un mayor porcentaje de motilidad, al tener un bajo porcentaje de defectos mayores en la morfología (7,33 %) y una elevada concentración de 131,66 millones/ml, siendo estadísticamente diferente ( $p < 0.05$ ) al resto de los grupos raciales, seguida esta calidad del semen proveniente de la raza Mestiza y finalmente el semen de la raza Criolla, que fue la que presentó la más baja calidad seminal en el examen microscópico con un elevado porcentaje de defectos mayores, una menor concentración, menor vigor y motilidad espermática, lo que no sugeriría utilización como semen para un proceso de inseminación.

#### 4.3.2. Características macroscópicas

Cuadro 21. Evaluación de las características macroscópicas del semen equino en los grupos raciales estudiados

Raza	Evaluación seminal		
	Características macroscópicas		
	Volumen (cc)	pH	Color
Criolla	80,00 <sup>b</sup>	7,5	Blanco acuoso
Mestiza	45,00 <sup>a</sup>	7,5	Blanco acuoso
Árabe	36,66 <sup>a</sup>	7,5	Blanco acuoso

Letras distintas en una misma columna indican diferencia estadística  $p < 0.05$ .

Las características macroscópicas del semen estudiado nos indica que la raza Criolla es la que presenta un mayor volumen de eyaculado, que difiere estadísticamente con el resto de grupos, siendo los otros parámetros como el pH y color similares en todos los grupos.

## 5. DISCUSIÓN

A partir de los hallazgos encontrados se puede establecer que la raza Criolla presenta una mejor conducta sexual antes y durante la monta, en comparación a las otras razas estudiadas; debemos considerar que los ejemplares de raza Criolla, son manejados de forma extensiva a campo abierto, lo que puede repercutir en dicho comportamiento sexual, pues los ejemplares de las otras dos razas estudiadas (Mestiza y Árabe) son manejados de forma semiestabulada; esto concuerda con lo citado por McDonnell (2006), quien en su estudio manifiesta una mejor respuesta sexual por parte de caballos no estabulados.

La falta de registros reproductivos no permite determinar el grado de parentesco en todos los ejemplares haciendo difícil controlar la consanguinidad de los equinos, esto puede repercutir en la calidad seminal y en el grado de anomalías presentes, como menciona Van Eldik (2006), que habla sobre el “inbreeding” principal causante de la llamada “depresión endogámica”.

En cuanto a la calidad seminal de los ejemplares en caballo de raza Árabe obtuvo el mejor resultado a diferencia de los otros grupos raciales, posiblemente se relacione con el tipo que de manejo y nutrición ya que este ejemplar era manejado de forma estabulada, con acceso a alimento y sal mineral constante; esto concuerda con Romero (2015) en donde menciona que la calidad seminal está ligada a diversos factores, dentro de estos tenemos genéticos, nutricionales, manejo y salud del animal, individualidad, integridad física y mental, libido y comportamiento sexual, planes zoonosanitarios, y algunos desordenes reproductivos presentes como la degeneración testicular, hipoplasia testicular y criptorquidismo (Romero, 2015).

La raza que tuvo un mayor perímetro escrotal fue la raza Árabe, en relación a los otros ejemplares de las razas estudiadas, sin embargo esta raza no obtuvo un volumen de eyaculado en relación a su tamaño testicular, como afirma Foote (1978), en donde menciona que el tamaño testicular afecta directamente el potencial de salida del esperma.

En cuanto al volumen de semen de cada ejemplar con relación al tiempo de coito, se evidenció una relación directa entre estos dos parámetros en cuanto al ejemplar de raza Criolla, quien tuvo mayor cantidad de volumen y mayor tiempo de coito, lo que confirma con lo mencionado por Álvarez et al. (2009).

El color de cada eyaculado fue blanco grisáceo en todos los grupos raciales estudiados, en este caso no se encontró ninguna alteración normal del semen pudiendo aparecer colores u olores anormales que suelen ser indicativos de problemas (Samper y Estrada, 2007).

El porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva se ha asociado a la fertilidad y se considera un parámetro fundamental para la determinación de la capacidad fertilizante de los espermatozoides (Varner, 2008).

La motilidad muestra que todas las razas presentaron motilidad aceptable, presentando también movimiento rotatorio de 360°, siendo este característico de la especie, por lo que se omitieron los análisis de motilidad individual y progresiva que se usan generalmente en la evaluación seminal. Esto concuerda con lo mencionado por Long (1993) sobre el movimiento rotatorio y al estar ausente se descarta en el conteo de motilidad total. Así mismo, Kenney (1983) menciona que en caballos hay que tener en cuenta que en un 50 % de los casos y de forma fisiológica la inserción del flagelo en la cabeza es abaxial, lo que determina que el patrón de movilidad progresiva no sea tan rectilíneo como en otras especies.

En los resultados de motilidad y vigor existe una relación con los estudios de Varner (2008), que relaciona a la motilidad total y progresiva y adicionalmente se puede realizar una estimación de la velocidad o vigor espermático ya que el vigor del ejemplar de raza Mestiza tuvo el vigor más alto y la motilidad más alta.

El ejemplar con menos defectos en la morfología fue el de la raza Árabe, en relación a los otros grupos raciales estudiados que obtuvieron un porcentaje similar, si bien ningún ejemplar sobrepasa el 20 % de defectos mayores todos

los caballos son fértiles de acuerdo con de Samper y estrada (2007) y Katila (2001) en donde se menciona que los sementales fértiles tienen más del 60 % de espermatozoides morfológicamente normales, y que la fertilidad se ve comprometida cuando los niveles de la morfología normal caen por debajo del 40 %.

La fertilidad tampoco se vio comprometida en cuanto a los defectos menores de morfología que presentaron los ejemplares, estos fueron de un porcentaje muy bajo, esto concuerda con Varner (2008), quien menciona que los defectos morfológicos menores, como gotas citoplasmáticas, colas dobladas, etc., tienen menor efecto sobre la fertilidad que otros que son defectos mayores, como cabezas sueltas, formas anormales de la cabeza o pieza intermedia, colas enrolladas, células germinales prematuras, etc. También menciona que existe una correlación positiva entre el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales y la motilidad espermática, de modo que los porcentajes de morfología normal y motilidad progresiva espermática de una muestra suelen ser similares, ofreciendo esto mucha similitud con los resultados obtenidos por parte del ejemplar de raza Árabe, teniendo una elevada motilidad y un bajo porcentaje de defectos mayores.

## 6. CONCLUSIONES

- Las razas Criollo y Árabe presentaron una mejor condición corporal en relación al ejemplar Mestizo, así mismo la raza Árabe obtuvo un mayor perímetro escrotal, mientras que la raza Mestiza presentó una menor consistencia testicular en relación a las otras razas estudiadas.
- La raza Criolla manifiesta de forma más preponderante los signos relacionados con la conducta sexual sin embargo en la concentración, motilidad y vigor fueron inferiores a los referentes Árabe y Mestizo.
- La raza Criolla presentó mayor volumen seminal sin embargo su pH y su color fueron similares a los animales Árabe y Mestizo.
- La raza Árabe manifiesta mayor concentración por cc y motilidad espermática, así mismo las deformidades son menores en relación a los animales Mestizo y Criollo.

## 7. RECOMENDACIONES

En cuanto al comportamiento sexual y cómo se puede mejorarlo se recomienda lo siguiente:

- El manejo debe ser orientado a la liberación de stress del animal, combinado con estabulación por cortos periodos, ya que el caballo es un animal gregario y libre por naturaleza, su mayor práctica con el cortejo las yeguas esta en el campo.
- Mantener en contacto a los machos equinos con las hembras desde el periodo de la pubertad (15 a 24 meses).
- Tomar en cuenta si existe alguna patología en cuanto a los aplomos, pudiendo este ser un gran problema en un semental.
- Mantener un programa de nutrición en el cual se brinden los elementos necesarios como oligoelementos y minerales para la producción óptima de espermatozoides.
- Llevar registros reproductivos en el hato equino para evitar el “inbreeding”, ya que esto puede causar problemas en la calidad seminal y por ende en el momento de la reproducción.
- Tomar en cuenta que el uso de estimulantes reproductivos puede afectar la calidad de semen, siendo su uso recomendado a 30 días antes de la monta.
- Continuar con investigaciones en el ámbito de conducta sexual equina asi mismo en el tema de Valoración seminal.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta. M. (1997). *Inseminación artificial en equinos* (Tesis de pregrado) Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Coahuila, México.
- Álvarez, A.; Pérez, H.; Martín, T.; Quincosa, J. y Sánchez, A. (2009). *Fisiología animal aplicada*. Medellín, Colombia: Editorial Universidad de Antioquia.
- Barker C. A. V. and Gandier J. C. C. (1957). Pregnancy in A Mare Resulting From Frozen Epididymal Spermatozoa *Can J Comp Med Vet Sci.* 21(2), 47–51.
- Ball, B. (2004) Técnicas de inseminación histeroscópica y con dosis baja en el equino. En: (Ed.). *Recent Advances In Equine Reproduction*; Ithaca.
- Bearden, H. J., Fuquay, J. W. (1982). Evaluación del semen. En: *Reproducción animal aplicada*. México, D.F.: El Manual Moderno, S. A. de C. V2: 153-185.
- Blanchard, T., Varner, D., Schumacher, J., Love, Ch., Brinsko, S., Rigby, Sh. (2003). *Manual of Equine Reproduction*. Mosby. Pp, 143-157.
- CIRE (Curso Internacional de Reproducción Equina). (1993). *Inseminación artificial en equinos*. UNAM, México.
- Bornemann, J. (1988). Race, Ethnicity, Species, Breed: Totemism and Horse-Breed Classification in America. *Comparative Studies in Society and History*, 30(01).
- Crump. J.; Crump. J. (1994). Manual semen collection from a Grevy`s Zebra stallion (*Equus grevyi*) onset of sperm production. Semen characteristics,

and cryopreservation of semen, with a comparison to the sperm production from a Grant's Zebra stallion (*Equus burchelli boehmi*). *Theriogenology*, 41:1011-1021.

Davies, Morel M. (2003). Equine reproductive physiology, breeding and stud management. *CABI*. Pp. 16-24, 253-259.

Davies, Morel, M. (2005). Breeding Horses. *Blackwell*. 2005. Pp 13-18, 51-54.

Frappe, D. (2004). Equine Nutrition and Feeding. *Blackwell*. Pp 274-275.

Foote, R.H. (1978). Factors influencing the quantity and quality of semen harvested from bulls, rams, boars and stallions. *Journal of Animal Science*, Volume 47, Issue 1, Pg. 1-11

Foote, R.H. (1978) *Journal of Animal Science*, Volume 47, Issue suppl\_II, 1 January 1978, Pages 1-11

Galina, C. (2008). Reproducción de animales domésticos. (3ª. Ed.). México: Limusa.

Gómez-Cuétara, C. (2011). El examen de compra en los sementales. *Equine Medicine. Improve Ibérica*. Módulo 13.

Janett, F., Stump, R., Burger, D., & Thun, R. (2009). Suppression of testicular function and sexual behavior by vaccination against GnRH (Equity™) in the adult stallion. *Animal Reproduction Science*, 115(1-4), Pp 88-102.

Katila, T. (2001). In Vitro Evaluation of Frozen-Thawed Stallion Semen: A Review. *Acta Veterinaria Scandinavica*; Vol. 42; No. 2

Kenney, R. M. (1983). Manual for clinical fertility evaluation of the stallion. Hastings, NE: *Society for Theriogenology*.

- Long, P. L., Pickett, B. W., Sawyer, H. R., Shideler, R. K., Amann, R. P., & Squires, E. L. (1993). Relationship between morphologic and seminal characteristics of equine spermatozoa. *Journal of Equine Veterinary Science*, 13(3), 143–149.
- Samper, J. C. & Estrada, A. J. (2007). Evaluation of Raw Semen. En: *Current Therapy in Equine Reproduction*. Samper J; Pycock JF; McKinnon AO (Eds.); St. Louis, Missouri, USA: Saunders Elsevier.
- Mann, T. (1975). Biochemistry of stallion semen. *J Reprod Fert*, Vol. 23 pp 47-52. Morel MCD. Equine artificial insemination CABI Publishing New York.
- Manteca, X. (2009). *Etología veterinaria*. Barcelona, España: Editorial Multimedia Ediciones Veterinarias.
- McDonnell, S. (1986). *Reproductive Behavior of the Stallion*. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice.
- Miró, J., Ocaña, M. (2006). El análisis seminal. Importancia, posibilidades y su relación con la fertilidad. *Equinus*. Nº 16. 53-68.
- Muiño, R. (2008). *Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino mediante el uso de sistemas CASA y citometría de flujo: identificación de subpoblaciones espermáticas* (Tesis doctoral). Universidad de Santiago de Compostela, España.
- Muiño, R., Fernández, M., Areán, H., Viana, J.L., López, M., Fernández, A., Peña, (2005). A.I. Nuevas tecnologías aplicadas al proceso y evaluación del semen bovino en centros de inseminación artificial. *Itea*. Vol 101 (3). 175-191.
- Olegario, C., Tamargo, C., Díez, C. (2012). Análisis del semen bovino. *Boletín informativo del SERIDA*. Asturias. nº 2.

- Palma, G. (2008). *Biotecnología de la reproducción. Inseminación artificial en la especie equina*. Karin Brass y Gustavo Palma.
- Pickett, B. W., Faulkner, L. C., & Sutherland, T. M. (1970). Effect of Month and Stallion on Seminal Characteristics and Sexual Behavior. *Journal of Animal Science*, 31(4), Pp 713–728.
- Pineda, Y., Santander, J. (2007). Evaluación de la flora bacteriana del semen de verracos en granjas porcinas de Venezuela. *Zootecnia Tropical*, Vol. 25, No. 3, 2007, pp.173-177.
- Pycock, J. (2008). *Management of the breeding stallion*. Proceedings of the 10th international congress of the world equine veterinary association.
- Rossdale, P. (1991). *Cría y reproducción del caballo*. Zaragoza, España: Acribia.
- Romero, S. (2015). *Diagnóstico, evolución y manejo de la degeneración testicular en el semental bovino, reporte de caso*. Bogotá, Colombia: Universidad La Salle.
- Sandoval, C. (2010). *Efecto sobre motilidad espermática de distintas leches descremadas comerciales utilizadas como diluyente de refrigeración*. Santiago de Chile: Universidad de Chile.
- Squires, E. (2003). *Understanding the Stallion*. Blood-horse Publications.
- Thomson, D. L., Pickett, B. W., Berndtson, W. E., Voss, J. L., & Nett, T. M. (1977). Reproductive Physiology of the Stallion. VIII. Artificial Photoperiod, Collection Interval and Seminal Characteristics, Sexual behavior and Concentrations of LH and Testosterone in Serum<sup>1</sup>. *Journal of Animal Science*, 44(4), 656–664.

- Turner, R., McDonnell, S. M., Hawkins, J. F. (1995). *Use of pharmacologically induced ejaculation to obtain semen from a stallion with a fractured radio*  
JAVMA 206,1906- 1908
- UBA. (2016). *Manual de semiología veterinaria*. (T. 2). Buenos Aires. Argentina:  
Autor.
- UCO, Universidad de Córdoba. (2005). *Temario de etología aplicada, protección animal etnología*. Departamento de producción animal. Córdoba, España: Autor.
- Varner DD, (2008). Developments in stallion semen evaluation. *Theriogenology* 70, 448-462.
- Van Eldik P, Van Der Waajj E.H, Ducro B. Kooper, A.W, Stout T.A, Colenbrander, B. (2016). Possible Negative Effects of Inbreeding on Semen Quality in Shetland Pony Stallions. *Theriogenology*. Volumen 65. Issue 6. Pp 1159 – 1170.
- Vincenté, R.A. (2006). *Extracción, evaluación y procesamiento de semen equino* (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, Coahuila, México.
- Warrer, E. (1977). *El caballo*. (2ª. Ed.). Zaragoza, España: Acribia.
- Wernli, J. (2010). *Actualidad sobre la congelación de semen equino y análisis de nuevas propuestas en la composición de los diluyentes. Reporte de caso: Artritis séptica en potros* (Tesis de maestría). Universidad de la Salle, Bogotá, Colombia.
- Zarco, L., Boeta, M. (2000). *Reproducción equina*. (3ª. Ed.). UNAM. México: Universidad Nacional Autónoma de México.



## ANEXO 2

Evidencia fotográfica de las montas para la evaluación de la conducta sexual



Figura 1. Preparación de uno de los sementales para inducir la excitación



Figura 2. Acercamiento y olfateo de uno de los sementales demostrando sintomatología sexual



Figura 3. El hociqueo es parte de la sintomatología del comportamiento sexual



Figura 4. Demostración del reflejo de Flehmen previos a la embestida



Figura 5. Embestida del semental a la hembra



Figura 6. Mordidas por parte del semental en el momento de la cópula



Figura 7. Capacitación del tesista para la realización de la evaluación seminal



Figura 8. Obtención de la vagina artificial y sus envases para colección de semen equino



Figura 9. Preparación del kit de laboratorio básico para análisis seminal



Figura 10. Preparación del horno Baño de María para el mantenimiento de las muestras seminales



Figura 11. Medición de la circunferencia escrotal y palpación testicular como parte del examen clínico



Figura 12. Preparación y aseo de los genitales de los sementales previos a la extracción

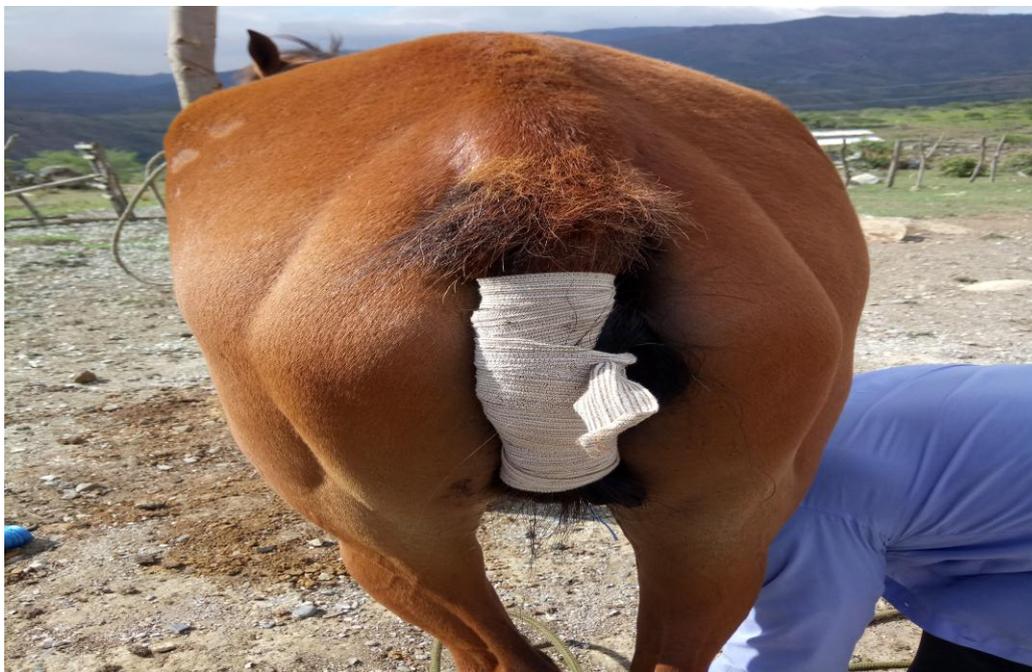


Figura 13. Vendaje colocado a la cola de la yegua para evitar la penetración



Figura 14. Control de temperatura de la vagina artificial manteniéndola a 45 °C



Figura 15. Extracción de semen equino mediante vagina artificial



Figura 16. Uso de casco para protección durante la extracción



Figura 17. Filtrado de semen y separación de la porción de gel en el semen equino posterior a la colecta



Figura 18. Uso de cámara de Neubauer para la concentración



Figura 19. Platina calefactora para el mantenimiento de las placas de observación



Figura 20. Observación de las muestras mediante el uso del microscopio

### ANEXO 3. Registro andrológico para el reproductor

Localización:

#### EXAMEN CLÍNICO

1. Anamnesis:	2. General: Condición corporal (1-5):
3. Genitales: Perímetro Escrotal:	Consistencia testicular (1-5):
4. Comportamiento Sexual:	5. Aplomos: -

#### ESPERMIOGRAMA

<p>1. MÉTODO DE COLECTA:</p> <hr/> <p>2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS</p> <p>Volumen del Eyaculado (mL)..... mL</p> <p>Turbillonomiento (0-5) .....</p> <p>Motilidad (%) .....</p> <p>Vigor (1-5) .....</p> <p>Concentración (x10<sup>6</sup>/mL).....</p> <p>Otro .....</p> <hr/> <p>3. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS</p> <p>DEFECTOS MAYORES .....</p> <p>ACROSOMA .....</p> <p>GOTA CITOPLASMÁTICA PROXIMAL .....</p> <p>ALTERACIÓN DE CABEZA:</p> <p>Subdesarrollada .....</p> <p>Cola enrollada en la cabeza .....</p> <p>Cabeza sola patológica .....</p> <p>Estrecha en la base .....</p> <p>Piriforme .....</p> <p>Pequeña anormal .....</p> <p>Coloración anormal .....</p> <p>Contorno anormal .....</p> <p>"Pouch formation" .....</p> <p>FORMAS TERATOLÓGICAS .....</p>	<p>ALTERACIÓN DE PIEZA INTERMEDIARIA:*fibrilación, fractura total o parcial, edema, pseudogotas, otros .....</p> <p>ALTERACIÓN DE COLA:</p> <p>Fuertemente doblada o enrollada .....</p> <p>Doblada con gota citoplasmática distal anexa .....</p> <hr/> <p><b>TOTAL de Defectos Mayores</b> .....</p> <hr/> <p>DEFECTOS MENORES.....%</p> <p>ALTERACIÓN DE CABEZA:</p> <p>Delgada .....</p> <p>Gigante, corta, larga, pequeña normal .....</p> <p>Sola normal.....</p> <p>ABAXIAL, RETROAXIAL, OBLÍQUA .....</p> <p>COLA DOBLADA O ENROLADA .....</p> <p>GOTA CITOPLASMÁTICA DISTAL.....</p> <hr/> <p><b>TOTAL de Defectos Menores</b> .....</p> <hr/> <p><b>TOTAL DE ALTERACIONES MORFOLÓGICAS</b></p> <p>4. OTROS ELEMENTOS</p> <p>Medusas .....</p> <p>Células primordiales .....</p> <p>Células gigantes .....</p> <p>Leucocitos.....</p> <p>Hemácias.....</p> <p>Epiteliales .....</p> <p>Observaciones:</p>
---	--

**ANEXO 4.** Cuadros de análisis de varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Volumen (ml)	9	0,51	0,34	41,95

## Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3172,22	2	1586,11	3,1	0,1188
Raza	3172,22	2	1586,11	3,1	0,1188
Error	3066,67	6	511,11		
Total	6238,89	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05

DMS=45.16794

Error: 511.1111 gl: 6

Raza	Medias	n	E.E.	
Árabe	36,67	3	13,05	A
Mestiza	45	3	13,05	A
Criolla	80	3	13,05	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

## Motilidad (%)

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Motilidad (%)	9	0,61	0,49	8,18

## Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,02	2	0,01	4,78	0,0574
Raza	0,02	2	0,01	4,78	0,0574
Error	0,02	6	2,50E-03		
Total	0,04	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05

DMS=0.09989

Error: 0.0025 gl: 6

Raza	Medias	n	E.E.	
Criolla	0,57	3	0,03	A
Mestiza	0,58	3	0,03	A
Árabe	0,68	3	0,03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

## Concentración

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Concentración	9	0,28	0,04	39,38

## Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5047,71	2	2523,85	1,17	0,3722
Raza	5047,71	2	2523,85	1,17	0,3722
Error	12937,13	6	2156,19		
Total	17984,84	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05

DMS=92.77178

Error: 2156.1878 gl: 6

Raza	Medias	n	E.E.	
Criolla	84,6	3	26,81	B
Árabe	131,67	3	26,81	A
Mestiza	137,5	3	26,81	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

## D\_Mayores (%)

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
D_Mayores (%)	9	0,71	0,61	25,3

## Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	171,5	2	85,75	7,35	0,0244
Raza	171,5	2	85,75	7,35	0,0244
Error	70	6	11,67		
Total	241,5	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05

DMS=6.82411

Error: 11.6667 gl: 6

Raza	Medias	n	E.E.	
Árabe	7,33	3	1,97	A
Mestiza	16,33	3	1,97	B
Criolla	16,83	3	1,97	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )