

## Accepted Manuscript / Manuscrito Aceptado

Title Paper/Título del artículo:

### **Efecto del WBG<sub>Ti</sub> sobre la calidad seminal de garañones “Cuarto de Milla” en la región de los Tuxtlas, Veracruz**

### **Effect of Wet-Bulb Globe Temperature Index (WBG<sub>Ti</sub>) on the seminal quality of Quarter Horse stallions in Los Tuxtlas region, Veracruz**

Authors/Autores: López-Pérez, L. M., Domínguez-Mancera, B., Galindo-Solano, R. N., Cervantes Acosta, P., Ávalos-Rodríguez, A., Barrientos Morales, M., Avendaño-Reyes, L., Hernández Beltrán, A.

ID: e1683

DOI: <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1683>

Received/Fecha de recepción: May 28<sup>th</sup> 2024

Accepted /Fecha de aceptación: November 20<sup>th</sup> 2024

Available online/Fecha de publicación: January 7<sup>th</sup> 2025

Please cite this article as/Como citar este artículo: López-Pérez, L. M., Domínguez-Mancera, B., Galindo-Solano, R. N., Cervantes Acosta, P., Ávalos-Rodríguez, A., Barrientos Morales, M., Avendaño-Reyes, L., Hernández Beltrán, A. (2025). Effect of Wet-Bulb Globe Temperature Index (WBG<sub>Ti</sub>) on the seminal quality of Quarter Horse stallions in Los Tuxtlas region, Veracruz. *Revista Bio Ciencias*, 12, e1683. <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1683>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Este archivo PDF es un manuscrito no editado que ha sido aceptado para publicación. Esto es parte de un servicio de Revista Bio Ciencias para proveer a los autores de una versión rápida del manuscrito. Sin embargo, el manuscrito ingresará a proceso de edición y corrección de estilo antes de publicar la versión final. Por favor note que la versión actual puede contener errores de forma.

Artículo original

## Efecto del WBGTi sobre la calidad seminal de garañones “Cuarto de Milla” en la región de los Tuxtlas, Veracruz

### Effect of Wet-Bulb Globe Temperature Index (WBGTi) on the seminal quality of Quarter Horse stallions in Los Tuxtlas region, Veracruz

WBGTi y seminograma en caballos/

WBGTi and seminogram in horses

López-Pérez, L. M. <sup>1</sup> ; Domínguez-Mancera, B. <sup>1</sup> ; Galindo-Solano, R. N <sup>2</sup> ; Cervantes Acosta, P. <sup>1</sup> ; Ávalos-Rodríguez, A. <sup>3</sup> ; Barrientos Morales, M. <sup>1</sup> ; Avendaño-Reyes, L. <sup>4</sup> ; Hernández Beltrán, A. <sup>\*</sup> 

<sup>1</sup>Universidad Veracruzana, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Miguel Ángel de Quevedo S/N, esq. Yañez, Veracruz, Ver., México. <sup>2</sup>Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias. Av. Universidad #3000, Ciudad Universitaria, Coyoacán, Ciudad de México, México. <sup>3</sup>Universidad Autónoma Metropolitana, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Producción Agrícola y Animal. Calzada del Hueso 1100, Coyoacán, Ciudad de México, México. <sup>4</sup>Universidad Autónoma de Baja California Norte, Instituto de Ciencias Agrícolas. Boulevard Delta S/N, Ejido Nuevo León, Mexicali, B.C., México.

**\*Correspondence author:** Antonio Hernández Beltrán, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana, Veracruz, México, Teléfono +52 2299342075 anhernandez@uv.mx

#### RESUMEN

Con el objetivo de estudiar el efecto del clima a través del índice global del bulbo húmedo (WBGTi), sobre la calidad seminal de garañones Cuarto de Milla, en un criadero ubicado en Los Tuxtlas, Veracruz, en ambiente tropical. Se evaluaron las variables meteorológicas temperatura ambiental y humedad relativa durante nueve años (2013-2021), para determinar el WBGTi diario y promedio mensual, relacionándolo con las características macroscópicas (volumen) y microscópicas (porcentaje de movilidad, vitalidad, espermatozoides normales y la concentración espermática) del semen obtenido de cinco sementales. Hubo un ambiente de confort térmico de diciembre a febrero (WBGTi  $\leq$  26.99), dentro de la zona termo-neutral de los caballos; mientras que de marzo a octubre fue clasificado como térmicamente precautorio o estresante (WBGTi = 27 a 36.80). Se observó diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en el porcentaje de movilidad ( $73.75 \pm 2.58$  vs  $67.25 \pm 1.29$  en ambiente precautorio y  $65.99 \pm 3.32$  en estresante), vitalidad ( $79.62 \pm 2.22$  vs  $74.71 \pm 1.10$ ,  $73.69 \pm 2.82$ ) y espermatozoides normales ( $66.95 \pm 1.55$  vs  $62.84 \pm 0.78$ ,  $61.51 \pm 1.99$ ), siendo menor durante el periodo más caluroso. El volumen y concentración espermática no se vieron influenciadas por el aumento del índice. Ninguna de las características seminales tuvo un comportamiento estacional. Se concluye que el incremento del calor, medido en términos de WBGTi, tuvo un efecto negativo sobre la calidad seminal de los garañones.

**PALABRAS CLAVE:** Caballos, Seminograma, Índice de calor, Clima tropical, Estrés térmico

## ABSTRACT

The study aimed to evaluate the effect of climate, measured through the Wet-Bulb Globe Temperature index (WBGTi), on the seminal quality of Quarter Horses in a horse farm located in Los Tuxtlas, Veracruz, in a tropical environment. Meteorological variables, including ambient temperature and relative humidity, were assessed over nine years (2013-2021) to determine the daily and monthly average WBGTi. These values were then related to the macroscopic (volume) and microscopic characteristics (motility percentage, vitality, normal spermatozoa, and sperm concentration) of semen obtained from five stallions. A thermally comfortable environment ( $WBGTi \leq 26.99$ ), falling within the thermoneutral zone of horses, was observed from December to February. In contrast, from March to October, the environment was classified as thermally cautious or stressful ( $WBGTi = 27$  to  $36.80$ ). A significant difference ( $p \leq 0.05$ ) was found in the percentage of mobility ( $73.75 \pm 2.58$  vs  $67.25 \pm 1.29$  in precautionary environment and  $65.99 \pm 3.32$  in stressful environment), vitality ( $79.62 \pm 2.22$  vs  $74.71 \pm 1.10$ ,  $73.69 \pm 2.82$ ) and normal spermatozoa ( $66.95 \pm 1.55$  vs  $62.84 \pm 0.78$ ,  $61.51 \pm 1.99$ ), being lower during the warmest period. Sperm volume and concentration were not significantly affected by the WBGTi increase, and none of the seminal characteristics exhibited seasonal patterns. It was concluded that an increase in heat, as measured by WBGTi, negatively impacted the seminal quality of stallions.

## Introducción

Los caballos de diferentes razas poseen una capacidad eficaz para mantener el equilibrio térmico, sin embargo, esto depende del ambiente climático en el que se crían (Castanheir *et al.*, 2010). Los ambientes extremadamente cálidos-húmedos dificultan los mecanismos de termorregulación por evaporación que privan al animal de su zona termo-neutral o confortable, con un uso adicional de energía para mantener la temperatura corporal dentro de los límites fisiológicos estables, lo que induce la aparición de estrés térmico, que a su vez se traduce en una serie de cambios metabólicos y alteraciones reproductivas (Clavinder, 2020; Hansen, 2009; Kingma *et al.*, 2012). El ciclo espermatogénico de los caballos es un proceso termo-dependiente que funciona a temperaturas entre 33 y 35 °C (Shakeel y Yoon, 2023); cuando existe hipertermia testicular (>35 °C) la espermatogénesis sufre diversas modificaciones que generan espermatozoides de baja calidad con ADN dañado, y esto resulta en problemas de fertilidad (Kandiel & El-Khawagah, 2018; Shakeel & Yoon, 2023).

El índice de calor, conocido como índice de temperatura global del bulbo húmedo (WBGTi por sus siglas en inglés), es un parámetro que permite evaluar la sensación térmica que tienen los animales bajo determinadas condiciones meteorológicas para de ésta forma determinar si un animal se encuentra sometido a un ambiente estresante. En función de su valor, el índice puede clasificarse en: confort, en la que los animales se encuentran en una zona termo-neutral; precaución, en la que puede existir posible fatiga por exposición prolongada al sol o actividad física pero sin estrés manifiesto; precaución extrema, en la que se presenta insolación, deshidratación y tensión por golpe de calor, con presencia de signos de estrés; peligro, que provoca insolación con presencia muy manifiesta de estrés; y por último, peligro extremo, en el cual hay insolación inminente que con frecuencia conduce a la muerte (Agencia Estatal de Meteorología de España, AEMET, 2014; Domínguez, 2015; Kingma *et al.*, 2012).

Los caballos de la raza Cuarto de Milla (QH, por sus siglas en inglés) se consideran los más veloces en carreras de distancias cortas y este rasgo es un criterio de selección para

progresos en programas de mejoramiento genético de ésta raza, lo que ha permitido aumentar el número de crías de los garañones mejor evaluados (Petersen *et al.*, 2014). El QH es la raza más numerosa en México, en el año 2019 existían 47,719 ejemplares, lo que ubica al país como el tercer lugar de caballos con registro de raza a nivel mundial (HorsesMx, 2021). La cría de este linaje ha generado una industria con crecimientos económicos hasta del 10 % anual, aportando al sector pecuario ganancias por temporada de carreras hasta de 340 millones de dólares, convirtiéndose en una fuente de empleo, que genera microempresas que inciden en toda la cadena de producción de los sectores ecuestre y pecuario (HorsesMx, 2021; Corona, 2018; Mihok & Castejón, 2016).

Una parte considerable de estos animales subsisten en regiones cálidas y húmedas de México, como la región central del estado de Veracruz, entidad que cuenta con la mayor población de caballos en el país (INEGI, 2007). Veracruz presenta algunas regiones climáticas con calor extremo durante casi todo el año, lo que genera estragos importantes en la fisiología de los caballos (Domínguez, 2015); dichas condiciones climáticas presentan cambios constantes que parecen no ser significativos si se aprecian solo numéricamente, pero el aumento de la temperatura anual global de la tierra en tan solo 0.1 °C ha provocado, en una década, alteraciones importantes en la composición de la tierra y en consecuencia, en la disponibilidad de materia prima para el mantenimiento de los seres vivos, así como un aumento en la frecuencia de olas de calor que dificultan la capacidad de los animales para mantener el balance térmico (Hernández *et al.*, 2023; Tejeda *et al.*, 2020).

En este contexto, el objetivo de la investigación fue analizar las condiciones climáticas durante un periodo de ocho años y su efecto sobre la calidad seminal de garañones “Cuarto de Milla” que se ubican en la región de los Tuxtlas, en el estado de Veracruz, México.

## Material y Métodos

### Localización.

El estudio se realizó en el rancho “Haras Ixbiapan” ubicado en el municipio de San Andrés Tuxtla, ubicado en la región de Los Tuxtlas, en las coordenadas 18° 27” latitud norte y 95° 13” longitud oeste, a una altura de 420 masl, con un clima tropical húmedo tipo Aw (Gutiérrez – García & Ricker, 2011).

### Animales.

Se utilizaron cinco sementales QH, sexualmente maduros, clínicamente sanos de edades entre 4 y 16 años. Durante el estudio los animales estuvieron alojados en caballerizas individuales de 3.5 por 4 metros. Todos fueron alimentados con la misma ración de alimento concentrado comercial Omolene (Purina®; México) y Pel Roll (Malta Cleyton®; México) y forraje de temporada (*Pennisetum purpureum* y *Digitaria ciliaris*); agua *ad libitum*, y recibieron el mismo manejo general.

### Colecta de semen y análisis de las muestras.

La colección de la muestra seminal se efectuó por medio de la técnica de vagina artificial (Hernández y Fernández, 2010; Zarco y Boeta, 2000), durante los años 2013 a 2021, cada caballo fue muestreado al menos una vez al mes y en algunas ocasiones no se muestrearon todos los caballos atendiendo a la petición del propietario, con lo cual se obtuvo un total de 267 eyaculados. Cada muestra se colectó completa separando la fracción rica en espermatozoides del gel, esmegma y otras impurezas. Una vez obtenido el semen se transportó inmediatamente a la sala de procesamiento ubicado a 30 metros del lugar. En el seminograma se evaluaron los parámetros de volumen (ml), movilidad (%), concentración

( $10^6$ /ml), morfología (%) y vitalidad (%). El protocolo fue estandarizado para minimizar la variabilidad entre los datos, con el uso de materiales diseñados para ello, apegados a las técnicas establecidas para el análisis de semen en esta especie (Boichard *et al.*, 2016; Castro y González, 2019; Restrepo *et al.*, 2013).

Para el análisis macroscópico, la fracción libre de gel se colocó en un recipiente calibrado para medir el volumen seminal, para luego ser comparado con los parámetros establecidos (Tabla 1). En el análisis microscópico se evaluó la movilidad espermática mediante un microscopio de campo claro (IRO-MG-11PL, Iroscope®) en un objetivo de 40x, se contaron al menos 200 espermatozoides en 10 campos, y se consideraron tres categorías: espermatozoides con movimiento activo lineal o en círculos grandes, que se denominó movilidad progresiva, movilidad en círculos pequeños o *in situ* considerada no progresiva, y espermatozoides inmóviles (Castro y González, 2019; Cerezo y López, 2014a). Para medir la vitalidad espermática, se usó una tinción comercial (Espermavit®; MegaFértil, México) a base de eosina Y al 5 % (índice de color 45380; WHO, 2010). Con un objetivo de 40X se contabilizaron los espermatozoides hasta llegar al menos a 200 células, para diferenciar los vivos (no teñidos) de los muertos (teñidos); y se calculó el porcentaje de vitalidad de acuerdo con los autores (Cerezo y López, 2014b; Foster *et al.*, 2011). La determinación de la concentración espermática se evaluó con un hemocitómetro (método de campo), para lo cual se realizó una dilución 1:200 (Buzón, 2013; Rodríguez *et al.*, 2022). La evaluación morfológica se llevó a cabo en un frotis de la muestra fresca secado al aire, teñido con un producto comercial (Espermaform®; MegaFértil, México), en el cual se evaluaron 200 espermatozoides con un objetivo de 100X, se identificó cada estructura para agrupar las características del espermatozoide en dos categorías, normal o anormal de acuerdo con el criterio de Tygerberg (Banaszewska *et al.*, 2015; Castro y González, 2019).

### **Variables meteorológicas y cálculo del índice de calor.**

Para el registro de las variables meteorológicas, se consideraron los valores diarios de temperatura ambiental (°C), humedad relativa (%) y precipitación pluvial (mm), de los años 2013 a 2021, obtenidos en los archivos históricos de las bases de datos del Departamento de Hidrometeorología del Organismo de Cuenca Golfo Centro de la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) y la Estación de Biología Tropical de Los Tuxtlas (IB-UNAM).

Con la información, se procedió a calcular el WBGT<sub>i</sub> por día con la fórmula propuesta por Schroter *et al.* (1996) modificada por Domínguez (2015); (Ecuación 1).

$$i\text{TGBH} = (TA * 0.567) + (0.393 * (HR/100) * 6.105) * \text{EXP}((17.27 * TA) / (237.7 + HR)) + 3.94$$

Donde:

TA = temperatura ambiental (°C)

HR = humedad relativa (%)

EXP = exponencial

El resultado de la ecuación es un número que clasifica el ambiente en cinco categorías que miden la sensación térmica en el caballo: confort (20 - 26.99), precaución (27 - 32.99), precaución extrema (33 - 40.99), peligro (41 - 53.99) y peligro extremo ( $\geq 54$ ).

### **Análisis estadístico.**

Para el estudio, se obtuvo el WBGT<sub>i</sub> con la TA máxima por día y su correspondiente HR para con ello calcular el índice de calor máximo diario y el índice promedio mensual, con la finalidad de relacionarlos con los parámetros seminales.

Los resultados del seminograma en primera instancia fueron analizados con estadística descriptiva; y posterior a ello se realizó un análisis de varianza para determinar las diferencias por mes y por tipo de ambiente (dentro de la zona termo-neutral, precaución y precaución extrema).

El análisis de las medias se realizó con la prueba de Tukey para las diferencias por mes y por tipo de ambiente, con la finalidad de evaluar el efecto del clima. Con el objeto de reducir la variación debida a las diferencias de edad de los garañones, el modelo estadístico incluyó la edad del caballo como una co-variable. Para estudiar el grado de asociación entre las variables climáticas (TA, HR e WBGTi) y las seminales (volumen, movilidad, vitalidad, concentración y morfología), se efectuó una prueba de correlación de Spearman, obedeciendo al comportamiento no normal de los datos. Para todo lo anterior se usaron los programas SPSS v.17.0 (NYSE:IBM®, NY, USA) y SAS v.9 (Institute Inc., NC, USA). El nivel de significancia fue de 0.05.

## Resultados y Discusión

### Condiciones meteorológicas.

El clima se caracterizó por ser cálido húmedo durante al menos 9 meses al año, con una temperatura máxima promedio anual de  $28.5 \pm 4.6$  °C y mínima promedio anual de  $20.7 \pm 2.5$  °C, la humedad relativa promedio anual fue muy elevada ( $72.63 \pm 8.7$  %) pero variante durante todo el año; en la época seca que duró aproximadamente 3 meses la humedad promedio anual descendió hasta  $49.11 \pm 8.2$  %. La velocidad del viento promedio anual fue de  $8.16 \pm 4.35$  km/h. El mes más caluroso en todos los años fue junio y la mayor precipitación pluvial promedio mensual se presentó de junio a diciembre con valores de 1982 a 3666 mm (Figura 1). Gutiérrez – García y Ricker (2011) estudiaron los cambios del clima en la región de los Tuxtlas, Veracruz entre 1925 y 2006, y reportaron durante los últimos 30 años de su investigación, valores promedio anuales de la temperatura ambiental en un rango de 24.1 a 27.2 °C, y de precipitación anual 1272 a 4201 mm; al compararlo con los resultados obtenidos en éste estudio se observa un aumento de la temperatura anual y una disminución en el promedio del volumen de la precipitación pluvial anual, además de una reducción en la duración del período de lluvias, reflejando los efectos que el cambio climático ha tenido en la región. Al analizar las características climáticas en términos del índice de calor, se observó que el WBGTi promedio anual fue de  $29.2 \pm 3.95$ , con oscilaciones de 18.86 a 28.30 durante la época de menor calor (diciembre a febrero), y de 23.80 a 36.80 durante la época de mayor calor (marzo a noviembre). En el mes más caluroso del año, en varias ocasiones el índice mostró valores que lo posicionaron en la categoría de precaución extrema durante un periodo de tres o más días consecutivos, fenómeno que se conoce como olas de calor, que provocan estrés térmico en los animales aun estando bajo la sombra (Figura 1; Hernández, *et al.*, 2023; Muñoz *et al.*, 2014).

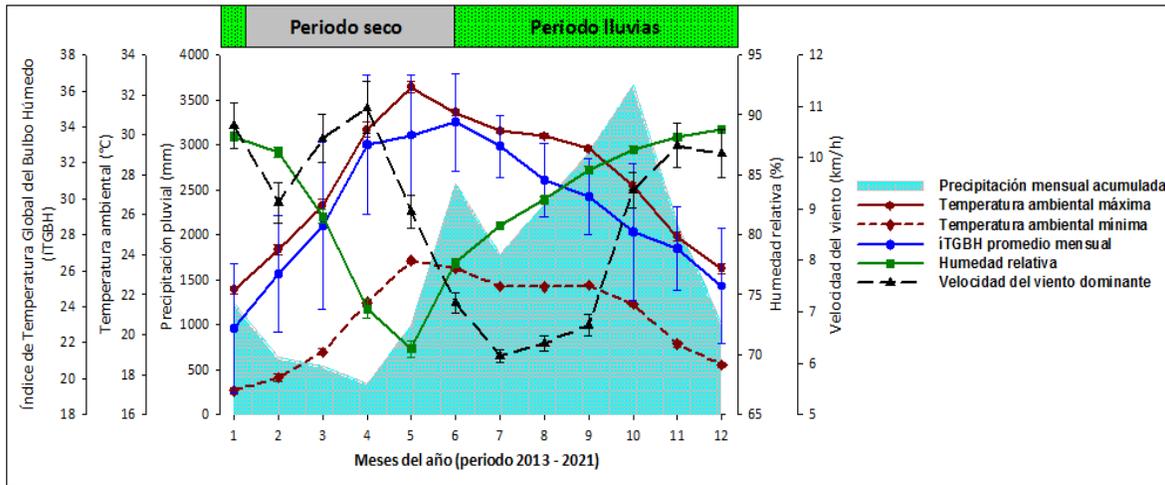


Figura 1. Climograma de San Andrés Tuxtla durante el periodo de 2013 a 2021.

### Características seminales.

Los resultados del análisis de las muestras seminales durante el periodo de estudio, se observan en la Tabla 1. Los valores de las características seminales presentaron alta dispersión con respecto a la media, lo cual puede atribuirse a las particularidades intrínsecas de cada caballo, a la frecuencia eyaculatoria, a la época del año y a la edad del garañón (Samper, 2009). Para el análisis se consideraron los espermatozoides vivos progresivos morfológicamente normales inmersos en una densidad espermática general, pues una reducción en el porcentaje de cualquiera de éstas características por debajo de los límites de referencia podría indicar un problema en el proceso espermatogénico asociado al fenómeno ambiental (Banaszewska *et al.*, 2015). La concentración espermática es uno de los valores que presentó más variación, pero en todas las muestras se mantuvo dentro del rango de referencia, en tanto que el volumen estuvo por debajo del límite de referencia reportado por los autores, en el 17.2 % de los eyaculados. En el 23 % de las muestras, la movilidad espermática estuvo por debajo del límite inferior que los autores consideran que garantiza la fertilidad; mientras que el 21 % de los eyaculados tuvieron un porcentaje de vitalidad que no cumplía con el parámetro mínimo (Tabla 1). No obstante, todos los garañones contaban con descendencia al momento del inicio del estudio.

### Efecto del WBGTi sobre la calidad seminal.

Para analizar el comportamiento de las variables seminales bajo periodos de alta TA y HR, se tomaron los valores promedio mensuales de WBGTi para observar su efecto sobre el conglomerado mensual de los datos obtenidos de los seminogramas que se realizaron durante el periodo de estudio, tomando en cuenta a la edad como co-variable. En marzo se observó un aumento de la vitalidad y movilidad, coincidiendo con el inicio de la temporada reproductiva de los equinos, siendo estadísticamente significativo únicamente el porcentaje de vitalidad ( $p \leq 0.05$ ; Tabla 2); sin embargo, a partir de abril, este parámetro mostró una reducción significativa, cuando el ambiente empezó a tornarse hostil (Tabla 2); manteniendo valores más bajos durante la temporada reproductiva, incluso reportando el menor porcentaje en septiembre (Figura 2). Durante nuestro estudio, el ambiente, medido en términos de índice de calor, reveló un periodo extremadamente cálido-húmedo durante lo que se supone era la temporada reproductiva, comprometiendo así la capacidad corporal de los caballos para regular tanto su temperatura corporal como la gonadal (Brownlow, *et al.*, 2016; Robert *et al.*, 2010). Está comprobado que una de las consecuencias del calor

ambiental es la disminución de la vitalidad espermática (Kim *et al.*, 2013; Pérez-Crespo *et al.*, 2008; Sinha *et al.*, 2003); en estudios hechos con toros y ratones, la hipertermia testicular condujo a la muerte celular; la apoptosis espermática empezó solo dos días después de la exposición al calor y redujo la cantidad de espermatozoides vivos en el eyaculado, y cuando el estrés térmico fue prolongado se observó disminución del diámetro de los túbulos seminíferos con su consecuente detrimento de la densidad espermática (Llamas-Luceño *et al.*, 2020; Rasooli *et al.*, 2010; Shahat *et al.*, 2020; Sinha *et al.*, 2003). La cantidad de espermatozoides móviles progresivos y la concentración por mililitro en el semen evaluado, no mostraron cambios estadísticamente significativos ( $p \geq 0.05$ ), pero tampoco se observó el aumento que se esperaba durante la temporada reproductiva (Bustos y Torres, 2012; Sulliman *et al.*, 2020), al contrario, la movilidad tuvo los menores porcentajes en julio y agosto ( $71.32 \pm 3.52$  y  $69.73 \pm 3.21$ , respectivamente), 30 días después de haberse presentado el valor más alto de WBGTi registrado (36.80), el cual se mantuvo en categoría estresante hasta septiembre (Tabla 2; Figura 2); mientras que la densidad espermática tuvo sus mayores valores en mayo, octubre y noviembre, ( $300.23 \pm 18.40$ ,  $294.37 \pm 14.68$ , y  $296.26 \pm 20.90$ , respectivamente) mostrando un patrón no estacional, y no relacionado a los cambios del WBGTi. Banaszewska *et al.* (2015) mencionaron que la movilidad es afectada por un estrés térmico ambiental que debe durar al menos el tiempo que tarda la maduración espermática (8 a 14 días en el caballo), debido a que el espermatozoide adquiere la habilidad para moverse en su trayecto por el epidídimo, y se encuentra especialmente vulnerable a los pequeños cambios de temperatura; por tal motivo es de suponerse que una hipertermia testicular que duró al menos 120 días en los caballos del estudio, afectó varios ciclos de maduración espermática, lo que provocó que ésta característica no solo no aumentara por efecto de la temporada reproductiva, sino que incluso disminuyera y se mantuviera debajo de los valores observados en diciembre y enero cuando el WBGTi reflejó un ambiente de confort (Figura 2). En un estudio hecho por Pereira *et al.* (2012), con el semen de ocho caballos fértiles ubicados en clima tropical, tampoco encontraron diferencias significativas en el porcentaje de movilidad progresiva y en la cantidad de espermatozoides por mililitro en la temporada reproductiva y no reproductiva.

La reducción significativa ( $p \leq 0.05$ ) que se observó en el porcentaje de espermatozoides normales en el mes de febrero, pudo deberse a la edad de los caballos, ya que fue en ese mes cuando empezó el muestreo del caballo con 16 años de edad, lo que alteró el promedio mensual, sin embargo el muestreo continuo con la totalidad de los caballos en los años posteriores, observándose nuevamente una disminución significativa ( $p \leq 0.05$ ) de los valores desde mayo a septiembre (Tabla 2), cuando el WBGTi estuvo en categoría estresante (Figura 2), lo que se le atribuyó al efecto del calor ambiental, pues está demostrado que la morfología es uno de los parámetros más sensibles al estrés térmico testicular, y cuando éste tiene una duración mayor a dos semanas, ocasiona que todos los tipos celulares que participan en el ciclo espermatogénico experimenten sobreproducción de especies oxido reactivas, degeneración proteica, disfunción enzimática y daño en el ADN; lo cual desemboca en esteroidogénesis ineficiente y por ende, morfología espermática alterada (Espinosa y Córdova-Izquierdo, 2018; Kandiel y El-Khawagah, 2018; Peña, *et al.*, 2019; Rasooli, *et al.*, 2010; Shakeel y Yoon, 2023; Sulliman, *et al.*, 2020). Inclusive, Brito (2007) reportó que caballos sometidos a insolación escrotal durante solo 48 horas, mostraron un aumento de espermatozoides anormales 10 días después de la exposición al calor; además, mencionó que cuando el insulto térmico es prolongado se incrementa la cantidad y los tipos de anomalías presentes en el eyaculado.

El volumen seminal no mostró tener algún efecto por los cambios del WBGTi, pero tampoco un patrón claro que pudiera relacionarse con la estacionalidad, pues aunque se registró un aumento no significativo a partir de abril, éste se mantuvo con valores similares hasta septiembre, cuando experimentó un aumento significativo ( $p \leq 0.05$ ), pero volvió a declinar en octubre mostrando valores no diferentes estadísticamente a los reportados durante los meses de abril a agosto (Tabla 2; Figura 2).

**Tabla 1. Valores promedio de las características seminales de los garañones ubicados bajo las condiciones climáticas de San Andrés Tuxtla, Veracruz, durante el 2013 al 2021, en comparación con los valores de referencia para semen de caballos fértiles.**

| Característica seminal                  | Media  | S.E.M. | Rango     | Parámetros de referencia                                                   |
|-----------------------------------------|--------|--------|-----------|----------------------------------------------------------------------------|
| Volumen (ml)                            | 45.04  | 1.19   | 7.5 – 120 | 30 – 100<br>(Samper, 2009)                                                 |
| Movilidad total (%)                     | 67.89  | 1.28   | 10 – 98   | $\geq 60$<br>(Samper, 2009; Hernández-Avilés & Ramírez-Agámez, 2021)       |
| Vitalidad (%)                           | 75.22  | 1.07   | 30 – 98   | $\geq 70$<br>(Samper, 2009)                                                |
| Concentración espermática ( $10^6/ml$ ) | 294.38 | 6.52   | 75 – 695  | 100 – 350 o más<br>(Samper, 2009; Hernández-Avilés & Ramírez-Agámez, 2021) |
| Espermatozoides normales (%)            | 66.33  | 0.87   | 32 – 78   | 30 – 70<br>(Samper, 2009; Zarco & Boeta, 2010)                             |

S.E.M: Error estandar de la media

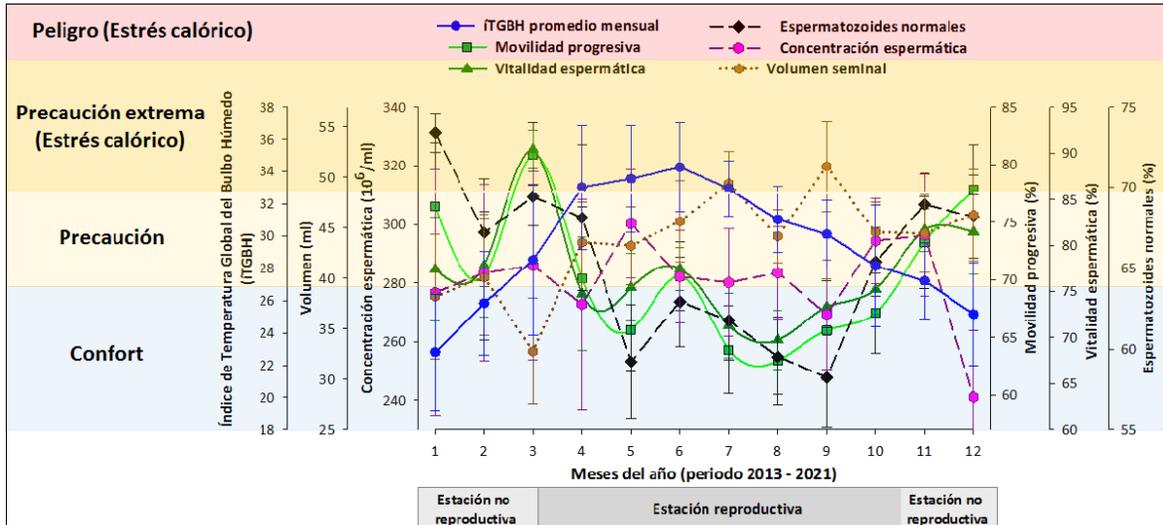
**Tabla 2. Valores promedio por mes de las características del semen de garañones muestreados durante el periodo del 2013 al 2021.**

| Mes        | Volumen (ml)                   | Movilidad progresiva (%)      | Vitalidad (%)                  | Concentración espermática ( $10^6/ml$ ) | Espermatozoides normales (%)   |
|------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------|
| Enero      | 38.20 $\pm$ 6.22 <sup>b</sup>  | 76.40 $\pm$ 5.45 <sup>*</sup> | 77.40 $\pm$ 5.65 <sup>ab</sup> | 276.78 $\pm$ 41.78 <sup>*</sup>         | 73.40 $\pm$ 1.21 <sup>a</sup>  |
| Febrero    | 40.10 $\pm$ 5.77 <sup>b</sup>  | 70.33 $\pm$ 5.57 <sup>*</sup> | 77.80 $\pm$ 5.60 <sup>ab</sup> | 283.41 $\pm$ 29.98 <sup>*</sup>         | 67.21 $\pm$ 3.32 <sup>ab</sup> |
| Marzo      | 32.78 $\pm$ 5.24 <sup>b</sup>  | 80.89 $\pm$ 2.70 <sup>*</sup> | 90.38 $\pm$ 2.10 <sup>a</sup>  | 285.94 $\pm$ 32.10 <sup>*</sup>         | 69.45 $\pm$ 1.80 <sup>ab</sup> |
| Abril      | 43.57 $\pm$ 4.00 <sup>ab</sup> | 70.14 $\pm$ 6.25 <sup>*</sup> | 74.72 $\pm$ 6.15 <sup>b</sup>  | 272.76 $\pm$ 35.78 <sup>*</sup>         | 68.14 $\pm$ 4.52 <sup>ab</sup> |
| Mayo       | 43.25 $\pm$ 3.85 <sup>ab</sup> | 65.68 $\pm$ 3.60 <sup>*</sup> | 75.43 $\pm$ 3.65 <sup>ab</sup> | 300.23 $\pm$ 18.40 <sup>*</sup>         | 59.22 $\pm$ 3.50 <sup>b</sup>  |
| Junio      | 45.65 $\pm$ 4.05 <sup>ab</sup> | 70.33 $\pm$ 3.00 <sup>*</sup> | 77.44 $\pm$ 2.31 <sup>ab</sup> | 282.18 $\pm$ 15.65 <sup>*</sup>         | 62.93 $\pm$ 2.75 <sup>b</sup>  |
| Julio      | 49.37 $\pm$ 3.24 <sup>ab</sup> | 63.94 $\pm$ 3.80 <sup>*</sup> | 71.32 $\pm$ 3.52 <sup>b</sup>  | 280.17 $\pm$ 18.40 <sup>*</sup>         | 61.77 $\pm$ 2.43 <sup>b</sup>  |
| Agosto     | 44.18 $\pm$ 2.61 <sup>ab</sup> | 62.99 $\pm$ 3.80 <sup>*</sup> | 69.73 $\pm$ 3.21 <sup>b</sup>  | 283.44 $\pm$ 15.65 <sup>*</sup>         | 59.53 $\pm$ 2.31 <sup>b</sup>  |
| Septiembre | 51.11 $\pm$ 4.43 <sup>a</sup>  | 65.61 $\pm$ 4.30 <sup>*</sup> | 73.32 $\pm$ 3.00 <sup>b</sup>  | 269.32 $\pm$ 18.70 <sup>*</sup>         | 58.25 $\pm$ 3.11 <sup>b</sup>  |
| Octubre    | 44.59 $\pm$ 3.00 <sup>ab</sup> | 67.11 $\pm$ 3.45 <sup>*</sup> | 75.21 $\pm$ 2.68 <sup>ab</sup> | 294.37 $\pm$ 14.68 <sup>*</sup>         | 65.40 $\pm$ 2.10 <sup>ab</sup> |
| Noviembre  | 44.48 $\pm$ 3.90 <sup>ab</sup> | 73.27 $\pm$ 4.00 <sup>*</sup> | 81.68 $\pm$ 2.35 <sup>ab</sup> | 296.26 $\pm$ 20.90 <sup>*</sup>         | 68.96 $\pm$ 1.95 <sup>ab</sup> |
| Diciembre  | 46.28 $\pm$ 4.50 <sup>ab</sup> | 77.78 $\pm$ 3.92 <sup>*</sup> | 81.44 $\pm$ 4.55 <sup>ab</sup> | 241.15 $\pm$ 22.81 <sup>*</sup>         | 68.20 $\pm$ 2.58 <sup>ab</sup> |

Media  $\pm$  S.E.M. <sup>ab</sup> Valores por columna con diferente literal son significativamente diferentes (ANOVA, Tukey,  $p \leq 0.05$ ). <sup>\*</sup> Valores por columna sin diferencia significativa ( $p > 0.05$ ).

Ninguna de las variables seminales evaluadas en este estudio, presentaron un comportamiento estacional. Algunas investigaciones hechas con caballos de diferentes razas, en regiones tropicales, han documentado que las características del semen tampoco mostraron un patrón estacional (McCue, 2014; Pereira, *et al.*, 2012; Sancler-Silva, *et al.*, 2016); por un lado debido a que en climas tropicales la variación en la duración de luz natural es más pequeña que en climas templados o latitudes superiores a los 30° norte (Clay y Clay, 1992; Jakubiec *et al.*, 2019) pero también a que existe evidencia que indica que el núcleo supraquiasmático es sensible a los cambios de temperatura ambiental,

sugiriendo que es una forma adicional de identificar las diferencias estacionales, y en climas tropicales los cambios de temperatura ambiental son menos notorios que en otros climas (Burgoon y Boulant, 2001; Marai, *et al.*, 2009; Sancler-Silva, *et al.*, 2016).



**Figura 2. Comportamiento del valor promedio mensual ( $\pm$  S.E.M.) del índice de temperatura global del bulbo húmedo (WBGTi) en asociación con los valores promedio mensuales ( $\pm$  S.E.M.) de las características seminales (volumen, movilidad progresiva, vitalidad, concentración y morfología), de los garañones muestreados durante un periodo de nueve años. El color determina el cambio de categoría de la sensación térmica pasando de confort hasta peligro. Fuente: Elaboración propia.**

### Efecto del tipo de ambiente sobre la calidad seminal.

Se evaluaron los resultados de los análisis seminales en relación con los diferentes valores de WBGTi por día, que posicionaban al ambiente térmico en tres categorías: dentro de la zona termo-neutral o confort, en precaución o en categoría estresante, se consideró la edad como co-variable. En la región de los Tuxtlas, durante el periodo de estudio, se observó un ambiente de confort únicamente durante la última semana de noviembre a las dos primeras de marzo, cuando el WBGTi fue menor o igual a 26.99, es decir, cuando el ambiente se consideró dentro de la TNZ de los caballos, mientras que, de abril a la primera quincena de octubre, el ambiente se categorizó fuera de la zona de confort, cuando el índice tomó valores desde 27 hasta 36.80. Al analizar estadísticamente los resultados seminales en relación al tipo de ambiente, se observó que cuando el WBGTi estuvo dentro de la TNZ, la cantidad de espermatozoides vivos ( $79.62 \pm 2.22$ ), móviles ( $73.75 \pm 2.58$ ) y normales ( $66.95 \pm 1.55$ ) fue significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) que cuando el ambiente fue precautorio o térmicamente estresante (Tabla 3). En un estudio hecho con tres caballos Mangalarga Marchadores en un clima tropical del suroeste de Brasil, se observó una reducción significativa en el porcentaje de espermatozoides móviles, pero también en la cantidad de espermatozoides por mililitro durante las épocas de primavera-verano, cuando los animales estaban fuera de su TNZ, argumentando que el clima pudo ser el factor que causara esos resultados (Waddington *et al.*, 2016). Sin embargo, éstos resultados no pueden generalizar la respuesta que tendrán todos los sementales en climas extremos, pues en una investigación hecha en otra zona cálida-húmeda del sureste de Brasil, no se observó

influencia significativa del estrés térmico, medido a través de un índice de calor, sobre la producción de testosterona y la calidad seminal general de 10 caballos criollos (Leão, *et al.*, 2023). Existen más estudios hechos en caballos que han comprobado que la calidad seminal puede ser alterada por el estrés calórico (Brito, 2007; Kandiel y El-Khawagah, 2018; Ramirez *et al.*, 2013), aunque, la fertilidad de los garañones es un estado multifactorial donde participan otros componentes como la edad, la alimentación, el estado clínico y la genética (Espinosa y Córdova-Izquierdo, 2018; Gottschalk, *et al.*, 2016; Kandiel y El-Khawagah, 2018); y en ciertos climas y latitudes, la estacionalidad reproductiva es otro factor a considerar (Leão, *et al.*, 2023; Pereira, *et al.*, 2012). Los resultados de nuestra investigación dejan otra evidencia científica de que cuanto más se aleja un caballo de su zona térmicamente confortable, mayormente se afectará su calidad seminal, lo que demuestra que, aunque los caballos de la raza QH poseen una alta capacidad de adaptación, un ambiente cálido puede provocarles un gasto de energía adicional para mantener la homeotermia y las funciones vitales, restándole importancia fisiológica a su desempeño reproductivo, y que cuando el ambiente se torna hostil, pueden desencadenarse mecanismos de estrés que influyen en la producción espermática (Álvarez, 2008; Shakeel y Yoon, 2023). En investigaciones hechas en toros y machos cabríos se ha informado el efecto negativo que el calor intenso, expresado en índices térmicos, provoca en la movilidad, vitalidad y morfología de espermatozoides que se generaron durante la temporada más calurosa del año (Bhakat, *et al.*, 2014; Llamas-Luceño, *et al.*, 2020; Ranjan, *et al.*, 2020; Sharma, *et al.*, 2017), no obstante, los estudios con toros reportaron reducción en la concentración espermática por mililitro (Sharma *et al.*, 2017; Llamas-Luceño, *et al.*, 2020), al igual que Waddington *et al.* (2016) quienes además reportaron un aumento en el volumen seminal, sin embargo nuestros resultados no mostraron cambios significativos en éstos parámetros con relación a la intensidad del calor (Tabla 3), pero tampoco se observó aumento por la influencia del fotoperiodo durante los meses de marzo a octubre, como ocurre naturalmente en ciertos climas durante la temporada reproductiva equina. Esta ausencia de cambios en las características generales durante la época de reproducción puede deberse a los motivos ya expuestos.

**Tabla 3. Valores promedio de las características seminales de garañones ubicados en tres tipos de ambientes térmicos durante el periodo del 2013 al 2021.**

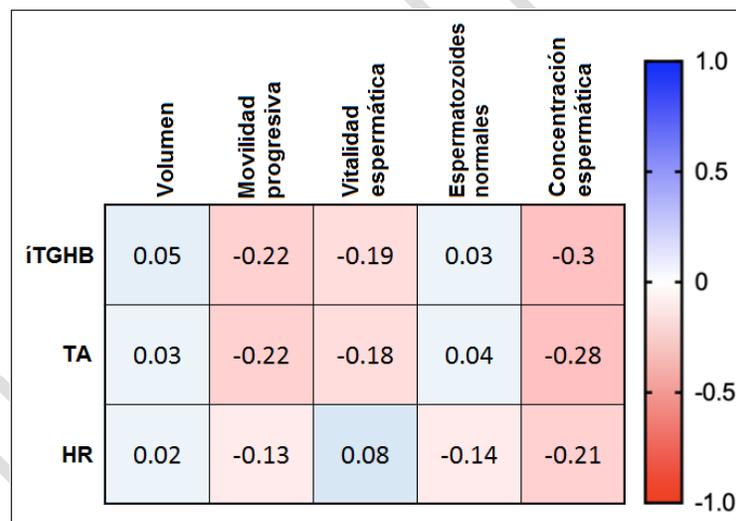
| Característica seminal                          | Ambiente térmico                |                                    |                                            |
|-------------------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------------|
|                                                 | Termoneutral<br>(WBGTi ≤ 26.99) | Precaución<br>(WBGTi = 27 – 32.99) | Precaución extrema<br>(WBGTi = 33 – 36.80) |
| Volumen (ml)                                    | 44.85 ± 2.47                    | 45.80 ± 1.28                       | 41.92 ± 3.19                               |
| Movilidad progresiva (%)                        | 73.75 ± 2.58 <sup>a</sup>       | 67.25 ± 1.29 <sup>b</sup>          | 65.99 ± 3.32 <sup>b</sup>                  |
| Vitalidad (%)                                   | 79.62 ± 2.22 <sup>a</sup>       | 74.71 ± 1.10 <sup>b</sup>          | 73.69 ± 2.82 <sup>b</sup>                  |
| Concentración espermática (10 <sup>6</sup> /ml) | 279.34 ± 15.07                  | 294.35 ± 7.60                      | 305.54 ± 19.76                             |
| Espermatozoides normales (%)                    | 66.95 ± 1.55 <sup>a</sup>       | 62.84 ± 0.78 <sup>b</sup>          | 61.51 ± 1.99 <sup>b</sup>                  |

Media ± S.E.M. <sup>ab</sup> Valores por fila con diferente literal son significativamente diferentes (ANOVA, Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

### Relación entre las variables climáticas y las características seminales.

Se determinó la intensidad de la relación entre las variables seminales y las variables climáticas por medio de análisis de correlación. Algunos coeficientes de correlación fueron de magnitud moderada, negativa y significativa ( $p \leq 0.05$ ). Los valores de la correlación entre el WBGTi con el porcentaje de movilidad ( $r = -0.22$ ,  $p = 0.000$ ), vitalidad ( $r = -0.19$ ;  $p = 0.003$ ) y espermatozoides normales ( $r = -0.30$ ;  $p = 0.000$ ) se muestran en la Figura 3. Por

su parte, la temperatura máxima presentó coeficientes de correlación muy similares al anterior, siendo de -0.22 ( $p = 0.000$ ) con el porcentaje de movilidad, con vitalidad de -0.18 ( $p = 0.003$ ) y con espermatozoides normales de -0.28 ( $p = 0.000$ ). Finalmente, la humedad relativa fue la variable climática con los coeficientes de correlación más bajos, siendo de -0.13 con movilidad ( $p = 0.040$ ), de -0.14 con concentración ( $p = 0.030$ ) y de -0.21 para la cantidad de espermatozoides normales ( $p = 0.001$ ; Figura 3). Una TA por arriba de 26 °C conjugada con una HR de al menos 40 % genera escenarios que complican los mecanismos que permiten que la temperatura escrotal se mantenga dentro del nivel ideal, causando hipertermia testicular (Brownlow *et al.*, 2016; Girard *et al.*, 2008; Kastelic *et al.*, 2019). Ramires *et al.* (2013), obtuvieron correlaciones moderadas al relacionar la temperatura escrotal de caballos sometidos a varios protocolos de insolación, con la cantidad de espermatozoides anormales ( $r = 0.32$ ) y el volumen testicular ( $r = -0.23$ ). Otros estudios en diversas especies han comprobado que la hipertermia testicular puede alterar el metabolismo de los lípidos, la resistencia antioxidante y causar hipoxia predisponiendo al espermatozoide a desencadenar cambios estructurales, apoptosis, degeneración del intersticio testicular que se reflejan en una disminución de la vitalidad, movilidad y concentración espermática, además de aumento de espermatozoides anormales. (Kandiel y El-Khawagah, 2018; Rasooli, *et al.*, 2010; Sharma *et al.*, 2017; Suriyasomboon *et al.*, 2004).



**Figura 3. Coeficientes de correlación de Spearman entre las variables atmosféricas y seminales.** WBGTi = índice de temperatura global del bulbo húmedo, TA = Temperatura ambiental, HR = Humedad relativa. \* La correlación es significativa. Fuente: Elaboración propia

### Conclusiones

La calidad seminal de los garañones QH se vio afectada por las condiciones climáticas extremas de la región de los Tuxtlas, pues aunque algunos parámetros como el volumen y la concentración espermática no mostraron cambios significativos, los valores de movilidad, vitalidad y morfología fueron significativamente reducidos cuando el ambiente salió de la zona termo-neutral, lo que puede representar una disminución importante en la capacidad fecundante de un eyaculado, sobre todo si se piensa en procesos de criopreservación donde el estado del semen fresco es determinante. El WBGTi permitió evaluar de forma práctica los efectos del clima sobre el comportamiento seminal de los garañones

estudiados, pero es importante considerar otras variables que influyen la fertilidad del semental, para tener un panorama más completo del estado reproductivo, de salud y de bienestar de éstos animales. La ausencia de un patrón estacional en las características seminales podría sumarse a las evidencias que existen sobre el comportamiento reproductivo de los garañones en climas tropicales. Se recomienda a los propietarios de caballos que viven en condiciones ambientales similares, utilizar sistemas más efectivos de enfriamiento y suplementar la alimentación con elementos antioxidantes para contrarrestar, en alguna medida, las consecuencias del calor.

### **Contribución de los autores**

Se realizó un trabajo en equipo en el que se desarrollaron las siguientes actividades: Conceptualización del trabajo: Luna López, Belisario Domínguez, Antonio Hernández; desarrollo de la metodología: Luna López; manejo de software: Todos los autores; validación experimental: Luna López, Antonio Hernández, Belisario Domínguez, Leonel Avendaño; análisis de resultados: Todos los autores; Manejo de datos: Todos los autores; escritura y preparación del manuscrito: Luna López; redacción, revisión y edición: Belisario Domínguez, Leonel Avendaño, Antonio Hernández; administrador de proyectos: Antonio Hernández; adquisición de fondos: Luna López.

Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo. Para nombrar a los participantes, deberán usarse siglas de su nombre.

### **Declaración ética:**

Todos los procedimientos de manejo realizados en los caballos del estudio cumplieron con todas las condiciones de bienestar animal aprobados por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana (COBIBA011/2021).

### **Agradecimientos**

Se agradece al criadero de caballos "Haras Ixbiapan" por permitir el muestreo de sus valiosos sementales y por permitir la utilización de los datos presentados en ésta publicación; al Departamento de Hidrometeorología de la Cuenca Golfo Centro de la CONAGUA y a la Estación de Biología Tropical de los Tuxtlas por proporcionar sus bases de datos para el análisis climático.

**Conflicto de interés:** Los autores declaran no tener conflicto de interés.

### **Información de autores**

Primer autor <sup>1</sup>  0000-0001-6056-9395

Segundo autor <sup>1</sup>  0000-0001-9291-5037

Tercer autor <sup>2</sup>  0000-0002-6034-0125

Cuarto autor <sup>1</sup>  0000-0002-6695-4793

Quinto autor <sup>3</sup>  0000-0003-3799-2704

Sexto autor <sup>1</sup>  0000-0002-8394-1046

Séptimo autor <sup>4</sup>  0000-0001-5477-5707

Octavo autor <sup>1</sup>  0000-0001-9719-6537

## Referencias

- Agencia Estatal de Meteorología [AEMET]. (2014, November 14). Sensación térmica frío-calor. Gobierno de España. [http://www.aemet.es/documentos/es/conocermas/montana/sensacion\\_termica/SensacionTermicaPorFrio-Calor-AEMET.pdf](http://www.aemet.es/documentos/es/conocermas/montana/sensacion_termica/SensacionTermicaPorFrio-Calor-AEMET.pdf)
- Álvarez, L. (2008). Efectos negativos del estrés sobre la reproducción en animales domésticos. *Archivos de Zootecnia* 57(R), 39-59. [https://www.produccion-animal.com.ar/etologia\\_y\\_bienestar/bienestar\\_en\\_general/24-EfectosAlvarez.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/etologia_y_bienestar/bienestar_en_general/24-EfectosAlvarez.pdf)
- Banaszewska, D., Andraszek, K., Szostek, M., Wójcik, E., Danielewicz, A., & Walczak-Jedrzejowska, R. (2015). Analysis of stallion semiotic semen parameters. *Medycyna Weterynaryjna*, 71(9), 563-567. <http://www.medycynawet.edu.pl/images/stories/pdf/pdf2015/092015/201509563567.pdf>
- Bhakat, M., Kumar, M.T., Kumar, G.A., & Abdullah, M. (2014). Effects on season on semen quality of crossbred (karan Fries) bulls. *Advances in Animal Veterinary Sciences*, 2(11), 632-637. <http://dx.doi.org/10.14737/journal.aavs/2014/2.11.632.637>
- Boichard, D., Ducrocq, V., Croiseau, P., & Fritz, S. (2016). Genomic selection in domestic animals: Principles, applications and perspectives. *Comptes Rendus Biologies*, 339(7-8), 274-277. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2016.04.007>
- Brito, L.F. (2007). Evaluation of stallion sperm morphology. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 6(4), 249-264. <https://doi.org/10.1053/j.ctep.2007.09.004>
- Brownlow, M.A., Dart, A.J., & Jeffcott, L.D. (2016). Exertional heat illness: a review of this syndrome affecting racing Thoroughbreds in hot and humid climates. *Australian Veterinary Journal*, 94(7), 40-247. <https://doi.org/10.1111/avj.12454>
- Burgoon, P.W., & Boulant, J.A. (2001). Temperature-sensitive properties of rat suprachiasmatic nucleus neurons. *American Journal of Physiology and Regulatory Integrative Comparative Physiology*, 281(3): 706-715.
- Bustos, O.E., & Torres, D.L. (2012). Reproducción estacional en el macho. *International Journal Morphology*, 30(4), 1266-1279. <https://www.scielo.cl/pdf/ijmorphol/v30n4/art04.pdf>
- Buzón, A. (2013). Análisis cinético y morfométrico del espermatozoide del caballo empleando el sistema Sperm Class Analyzer [Tesis de Doctorado, Universidad de Córdoba, Facultad de Veterinaria] <https://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/11586/201400000902.pdf?sequence=1>
- Castro, M.K. & González, C.S. (2019). Métodos modernos de evaluación seminal en equinos [Tesis de Pregrado, Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Ciencias de la Salud, Medicina Veterinaria y Zootecnia] <http://repository.ucc.edu.co/handle/ucc/12318>
- Cerezo, P.G. & López, P.L.M. (2014a). Movilidad espermática. In: Cerezo, P.G., Castilla, A.J.A. & Rodríguez, H. H. Manual para el análisis básico de semen (pp. 73-85) Ed. Yao Díaz.
- Cerezo, P.G. & López, P.L.M. (2014b). Vitalidad espermática In: Cerezo, P.G., Castilla, A.J.A. & Rodríguez, H. H. (Ed.), Manual para el análisis básico de semen (pp. 87-94) Ed. Yao Díaz.
- Clavinder, C. (2020). Does summer's heat impact stallion fertility? Mississippi State University, Starkville, MS. *Agricultural Communication*. [http://extension.msstate.edu/sites/default/files/publications/publications/P3789\\_web.pdf](http://extension.msstate.edu/sites/default/files/publications/publications/P3789_web.pdf)
- Clay, C.M., Clay, J.N. (1992). Endocrine and testicular changes associated with season, artificial photoperiod and the peripubertal period in stallion. In: Blanchard, T.L., Varner, D.D. (eds), Stallion management. Veterinary Clinics of North America. Equine practice, 8. Saunders, Philadelphia, pp. 31-56.
- Corona, L. (2018, diciembre 27). El deporte ecuestre, entre el negocio y el hobby. *Expansión* pp. 18-21. <https://expansion.mx/empresas/2018/12/27/el-deporte-ecuestre-entre-el-negocio-y-el-hobby>
- Domínguez, S.C. (2015). Relación del polimorfismo del gen hspb1 y la estructura genética con el confort, la tolerancia al calor y la respuesta fisiológica en caballos de Veracruz, México [Tesis de maestría, Universidad Veracruzana, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia]
- Espinosa, C.R., & Córdova-Izquierdo, A. (2018). El efecto del estrés calórico y el estrés oxidativo en la función espermática de los mamíferos. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 12(1), 27-39. <http://dx.doi.org/10.5209/RCCV.59850>
- Foster, M.L., Love, D.D., Varner, S.P., Brinsko, K., Hinrichs, S., Teague K., LaCase, K., & Blanchard, T.L. (2011). Comparison of methods for assessing integrity of equine sperm membranes. *Theriogenology*, 76(2), 334-341. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.02.012>
- Girard, F., Antoni, M., Faure, S., & Steinchen, A. (2008). Influence of heating temperature and relative humidity in the evaporation of pinned droplets. *Colloids and Surfaces a Physicochemical and Engineering Aspects*, 323(1), 36-49. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.12.022>
- Gottschalk, M., Sieme, H., Martinsson, G., & Distl, O. (2016). Analysis of breed effects on semen traits in light horse, warmblood, and draught horse breeds. *Theriogenology*, 85(8), 1375-1381. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.11.030>
- Gutiérrez-García, G., & Ricker, M. (2011). Climate and climate change in the region of Los Tuxtlas (Veracruz, Mexico): A statistical analysis. *Atmósfera*, 24(4), 347-373. <https://www.scielo.org.mx/pdf/atm/v24n4/v24n4a1.pdf>
- Hansen, P. J. (2009). Effects of heat stress on mammalian reproduction. *Philosophical Transactions the Royal Society B: Biol Sci*, 364(1534), 3341-3350. <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rstb.2009.0131>
- Hernández, A., Cervantes P., Domínguez, B., Córdoba, M., Romero, L.A., & Vallecillo, M.A. (2023). Barcina Fur as an indicator of adaptation to high heat in the región of Veracruz, México. *AICA*, 18, 18-22. [https://s59b6dfe9e4460e7.jimcontent.com/download/version/1687279641/module/19692791425/name/AICA\\_Vol18\\_Trabajo009.pdf](https://s59b6dfe9e4460e7.jimcontent.com/download/version/1687279641/module/19692791425/name/AICA_Vol18_Trabajo009.pdf)
- Hernández-Aviles, C., & Ramírez-Agámez, L. (2021). Semen evaluation. En: Walton, R.M., Cowell, R.L. & Valenciano, A.C. Equine Hematology Cytology, and Clinical Chemistry (pp. 257-274). Ed. Wiley Publisher.

- Hernández, P.J.E., & Fernández, R.F. (2010). Reproducción de siete especies domésticas. Cuadernos CBS, Vol. 38. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Producción Agrícola y Animal. Ciudad de México, México.
- HorsesMX (2021, March 31). 45 mil de caballos Cuarto de Milla en México. Ciudad de México. <https://www.revistahorsesmx.com/news/45-mil-caballos-cuarto-de-milla-en-mexico/#:~:text=La%20raza%20de%20caballos%20Cuarto,en%20la%20disciplina%20de%20carreras>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. [INEGI]. (2007, June 15). Censo Agrícola, Ganadero y Forestal. México <https://www.inegi.org.mx/programas/caqf/2007/#Tabulados>
- Jakubiec, J.A., Srisamranrungruang, T., Kong, Z., Quek, G., & Talami, R. (2019). Subjective and measured evidence for residential lighting metrics in the tropics. Proceedings of the 16th IBPSA Conference Rome, Italy, Sept. 2-4, 2019. [https://publications.ibpsa.org/proceedings/bs/2019/papers/BS2019\\_210898.pdf](https://publications.ibpsa.org/proceedings/bs/2019/papers/BS2019_210898.pdf)
- Kandiel, M.M.M., & El-Khawagah, A.R.M. (2018). Evaluation of semen characteristics, oxidative stress, and biochemical indices in Arabian horses of different ages during the hot summer season. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 19(4), 270-275. <http://dx.doi.org/10.22099/ijvr.2018.5055>
- Kim, B., Park, K., & Rhee, K. (2013). Heat stress response of male germ cells. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 70(15), 2623-2636. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1165-4>
- Kastelic, J.P., Wilde, R.E., Bielli, A., Genovese, P., Rizzoto, G., & Thundathil, J. (2019). Hyperthermia is more important than hypoxia as a cause of disrupted spermatogenesis and abnormal sperm. *Theriogenology*, 131, 177-181. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.03.040>
- Kingma, B., Frijns, A., & Lichtenbelt, W. (2012). The thermoneutral zone: implications for metabolic studies. *Frontiers in Bioscience (Elite edition)*, 4(5), 1975-1985. <https://doi.org/10.2741/e518>
- Leão, F.M., Moreira, V.J., Nudes, D.M., Maggioletto, S.R., Pivato, I., Rodrigues, C.T., Gomes, L.A.I., & Arruda de Oliveira, R. (2023). Seasonality does not influence cortisol or testosterone production, or seminal quality of stallions located at low latitudes. *Animal Reproduction Science*, 250, 207202. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2023.107202>
- Llamas-Luceño, N., Hostens, M., Mullaart, M., Broekhuijsse, M., Lonergan, P., & Van S. A. (2020). High temperature-humidity index compromises sperm quality and fertility of Holstein bulls in temperate climates. *Journal of Dairy Science*, 103(10), 9502-9512. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-18089>
- Marai, I.F.M., Zeidan, A.F.B., Abdel-Samee, A.M., Abizaid, A., & Fadiel, A. (2009). Camels' reproductive and physiological performance traits as affected by environmental conditions. *Tropical and Subtropical Agroecosystem*, 10(2), 129-149 <https://www.redalyc.org/pdf/939/93912989002.pdf>
- McCue, P.M. (2014). Evaluation of pH and osmolarity of semen. En: Dascanio, J.J., & McCue, P.M. *Equine Reproductive Procedures* (pp. 521-522) Ed. John Wiley and Sons. <http://dx.doi.org/10.1002/9781118904398.ch122>
- Tejeda-Martínez A., Méndez P. I. R., Catalina R. N., & Tejeda Z. E. (2018). La humedad del aire y los seres vivos. En: Tejeda, M.A. *La humedad en la atmósfera* (Ed). Editorial Universidad de Colima, Colima, México. Pp. 203-230.
- Mihók, Z.S., & Castejón, M. (2016). El sector ecuestre y la economía. *Archivos de Zootecnia*, 65(252), 481-488. <https://www.redalyc.org/pdf/495/49549091002.pdf>
- Muñoz, G., Rondelli, F., Maiztegui, L., Gherardi, S., Tolini, F., Amelong, J., Fernández, G., & Coronel, A. (2014). Efectos de la ola de calor. *Revista Ciencias Veterinarias*, 16(1): 113-127. <https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/veterinaria/article/download/1729/1709/>
- Peña, F.J., O'Flaherty, C., Ortíz, R. J.M., Martín, C.F., Gaitskill-Phillips, G.L., Gil, M.C., & Ortega, F.C. (2019). Redox regulation and oxidative stress: The particular case of the stallion spermatozoa. *Antioxidants*, 8(11), 657-679. <https://doi.org/10.3390/antiox8110567>
- Pereira, L.D., Ozanam, P.F., & Foster, J.F. (2012). Reproductive Characteristics of stallions during the breeding and non-breeding season in a tropical region. *Tropical Animal Health and Production*, 44(7), 1703-1707. <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0127-z>
- Pérez-Crespo, M., Pintado, B., & Gutiérrez-Adán, A. (2008). Scrotal heat stress effects on sperm viability, sperm DNA integrity, and the offspring sex ratio in mice. *Molecular Reproduction and Development*, 75(1), 40-47. <http://doi.org/10.1002/mrd.20759>
- Petersen, J.L., Mickelson, J.R., Cleary, K.D., & McCue, M.E. (2014). The American Quarter Horse: population structure and relationship to the Thoroughbred. *The Journal of Heredity*, 105(2), 148-162. <https://doi.org/10.1093%2Fjhered%2Fest079>
- Ranjan, R., Sing, P., Kharche, S.D., Gangwar, C., Ramachandran, N., Singh, S.P., & Singh, M.K., (2020). Effect of temperature humidity index on sexual behavior and semen quality in Barbari buck under Indian climatic condition. *Small Ruminant Research*, 193 (5): 106263. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106263>
- Ramires, N.C., Augusto, M.G., Zanzarini, D.D., Cavalcanti, F.M., Dell'aqua, J.A., Ozanam, P.F., & Alvarenga, M.A. (2013). The relationships between scrotal surface temperature, age and sperm quality in stallions. *Livestock Science*, 157 (1), 358-363. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2013.06.026>
- Rasooli, A., Taha-Jalali, M., Nouri, M., Mohammadian, B., & Barati, F. (2010). Effects of chronic heat stress on testicular structures, serum testosterone and cortisol concentrations in developing lambs. *Animal Reproduction Science*, 117(1-2), 55-59. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.03.012>
- Restrepo Betancur, G., Usuga Suárez, A., & Alberto Rojano, B. (2013). Técnicas para el análisis de la fertilidad potencial del semen equino. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 8(1), 115-127. <http://www.scielo.org.co/pdf/cmvez/v8n1/v8n1a10.pdf>
- Robert, C., Goachet, A., Fraipont, A., Votion, D., Erck, E., & Leclerc, J. (2010). Hydration and electrolyte balance in horses during endurance season. *Equine Veterinary Journal*, 42(38), 98-104. <http://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2010.00198.x>
- Rodríguez, H.H.M., Medina de la Rosa, A.M., Alejo, E.M., & Cerezo, P.G. (2022). Concentración espermática. In: Cerezo, P.G., López, P.L.M. & Rodríguez, H.H.M. *Manual para el análisis del semen humano* (pp. 95-110) Ed. Yao Díaz.

- Samper, J.C. 2009. Equine breeding management and artificial insemination (pp. 57-68) Ed. Saunders Elsevier.
- Sancler-Silva, Y.F.R., Cavalero, T.M.S., Silva-Junior, E.R., & Papa, F.O. (2016). The effect of season on semen parameters in stallions from the southeastern region of Brazil. *Journal of Equine Veterinary Science (Abstracts)*, 43, 79. [https://scholar.google.com/citations?view\\_op=view\\_citation&hl=pt-BR&user=3ahvOegAAAAJ&citation\\_for\\_view=3ahvOegAAAAJ:d1gkVwhDpl0C](https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=pt-BR&user=3ahvOegAAAAJ&citation_for_view=3ahvOegAAAAJ:d1gkVwhDpl0C)
- Shahat A.M., Rizzoto G., & Kastelic, J.P. (2020). Amelioration of heat stress-induced damage to testes and sperm quality. *Theriogenology*, 158, 84-96. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.08.034>
- Shakeel, M., & Yoon, M. (2023). Heat stress and stallion fertility. *Journal of Animal Science and Technology*, 65(4), 683-697. <https://doi.org/10.5187%2Fjast.2023.e29>
- Sharma, M., Yaqoob, B., Singh, A., Sharma, N., & Rawat, S. (2017). Effect of temperature humidity index on semen quality of bovine bull. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(12), 1822-1830. <https://www.ijcmas.com/6-12-2017/Mridula%20Sharma,%20et%20al.pdf>
- Sinha, H.A.P., Lue, Y., Yamamoto, C.M., Vera, Y., Rodríguez, S., Yen, P.H., Soeng, K., Wang, C., & Swerdloff, R.S. (2003). Key apoptotic pathways for heat-induced programmed germ cell death in the testis. *Endocrinology*, 144(7), 3167-3175. <https://doi.org/10.1210/en.2003-0175>
- Schroter, R.C., Marlin, D.J., & Jecott, L.B. (1996). Use of the wet bulb globe temperature (WBGT) index to quantify environmental heat loads during three-day-event competitions. *Equine Veterinary Journal*, 28(S22), 3-6. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1996.tb05025.x>
- Sulliman, Y., Becker, F., Tuchscherer, A., & Wimmers, K. (2020). Seasonal variations in quantitative and qualitative sperm characteristics in fertile and subfertile stallions. *Archives Animal Breeding*, 63(1), 145-154. <https://doi.org/10.5194%2Ffaab-63-145-2020>
- Suriyasomboon, A., Lundeheim, N., Kunavongkrit, A., & Einarsson, S. (2004). Effect of temperature and humidity on sperm production in Duroc boars under different housing systems in Thailand. *Livestock Production Science*, 89(1), 19-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livprodsci.2003.12.008>
- Tejeda, M.A., del Valle, C.B., Welsh, R.C., Ochoa, M.C., & Méndez, P.I. (2020). Veracruz, una década ante el cambio climático. Editorial del Estado de Veracruz. Veracruz, México. <https://www.uv.mx/peccuv/files/2020/07/Veracruz-una-decada-ante-el-cambio-climatico.pdf>
- Waddington, B., Penitente-Filho, J.M., Neves, J.G.S., Pinho, R.O., Chaya, A.Y., Maitan, P.P., Silveira, C.O., Neves, M.G., Guimaraes, S., de Carvalho, G.R., & Guimaraes, J.D. (2016). Testosterone serum profile, semen characteristics and testicular biometry of Mangalarga Marchador stallions in a tropical environment. *Reproduction in Domestic Animals*, 52(2), 335-343. <https://doi.org/10.1111/rda.12918>
- World Health Organization [WHO]. (2010). WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen (5a ed.). [https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/44261/9789241547789\\_eng.pdf;jsessionid=33302B9CE71C3EF39CA8C6036F0C3109?sequence=1](https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/44261/9789241547789_eng.pdf;jsessionid=33302B9CE71C3EF39CA8C6036F0C3109?sequence=1)
- Zarco L. S., & Boeta A. M. (2000). *Reproducción equina* (3.ª ed.). UNAM, Facultad de Medicina, Veterinaria y Zootecnia.