

75653

ROSSETTO, LILIANA

Deben incluir los nombres completos de los países de sus orígenes.

2016

75653



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN EQUINA

**DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DE
LOS PADRILLOS DE RAZA CRIOLLA EN ENTRENAMIENTO
INTENSIVO**

TESIS

TESISTA

Liliana Rossetto, MV

*Ayudante de Primera de la Cátedra de Obstetricia y Fisiopatología de la Reproducción,
Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, Argentina*

DIRECTOR

Marcelo H. Miragaya, DVM, MSc, PhD

*Profesor Titular Cátedra de Teriogenología, INITRA, Facultad de
Ciencias Veterinarias Universidad de Buenos Aires, Argentina.*

CO-DIRECTOR

Julián A. Bartolomé, MV., MSc., PhD

*Profesor Titular de la Cátedra de Obstetricia y Fisiopatología de la Reproducción,
Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, Argentina.*

Río Cuarto – Argentina

Noviembre de 2016



CREAR. CREAR. CREAR

REF
Clasif:
T. 1074

25653

JURADO DE TESIS

Alonso, Ana Elisa; MV, PhD

Ayudante de Primera, Cátedra de Teriogenología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Vazquez, María Isabel; MV, PhD

Profesora Adjunta efectiva. Departamento de Reproducción Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

Bianchi, Carolina; MV, PhD

Jefe de Trabajos Prácticos. Área de Endocrinología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, Buenos Aires, Argentina.

AGRADECIMIENTOS

La presente tesis es el final de un largo camino, que sin la colaboración de muchas personas, no hubiera sido posible. Quisiera agradecer en primera instancia a mi familia, Alberta, Martin y a mis hijos Segundo y Sofía. Sin su apoyo incondicional, no hubiera sido posible dedicar el tiempo necesario para finalizar la Maestría en Producción Equina. También quiero agradecer al PhD., MSc., DVM, Marcelo Miragaya, por brindarme su amistad, por alentarme a superarme en todo momento y por aceptar ser mi director de tesis. Su apoyo, su confianza y su guía ha sido un aporte invaluable tanto en el desarrollo de esta tesis como en mi formación de investigadora. A mi codirector PhD., MSc., MV., Julián Bartolomé, por ofrecerme su tiempo, su paciencia, su amistad y su generosidad en la transmisión de sus conocimientos científicos. Al PhD., MV, Luis Losinno, por aceptarme como alumna de la maestría, por su dedicación incondicional como maestro y por ser consejero y amigo desde hace muchos años.

A todos aquellos que brindaron los animales, necesarios para este estudio: señor Carlos Allende y su Cabaña Santa Aurelia; señor Victor Esevich y su cabaña La Escondida; señor Martin Esevich y su Cabaña Yeguada del Monte; señores Santiago y Nicolás Martínez y su Cabaña El Recado. Al personal de las cabañas por su tiempo y colaboración. Finalmente, a la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, por permitirme desarrollar mi carrera académica.

Este trabajo está dedicado a mis padres Alberta y Gianni, por brindarme la oportunidad de estudiar y apoyarme en la elección de mi profesión.

Índice

I. INTRODUCCIÓN	9
II. HIPÓTESIS	13
III. OBJETIVO.....	14
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
V. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	18
VI. RESULTADOS	19
VII. DISCUSIÓN	34
VIII. CONCLUSIÓN	37
IX. PROYECCIONES	38
X. REFERENCIAS	39

Índice de figuras y tablas

Figura 1. Volumen de eyaculado para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,07; Tratamiento P <0,0001; *Interacción P= 0,0003).	20
Figura 2. Volumen de gel para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,61; Tratamiento P= 0,19; *Interacción P= 0,0003).	20
Figura 3. Movilidad de semen puro para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,09; Tratamiento P< 0,0001; *Interacción P< 0,0001).	21
Figura 4. Movilidad de semen diluido para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,0016; Tratamiento P< 0,0001; *Interacción P< 0,0001).	21
Figura 5. Vigor de semen puro para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,11; *Tratamiento P= 0,0007; Interacción P= 0,2).....	22
Figura 6. Vigor de semen diluido para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,52; Tratamiento P= 0,001; *Interacción P= 0,04).	22
Figura 7. Concentración espermática por mililitro (10 ⁶) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,53; Tratamiento P= 0,70; * Interacción P= 0,07).	23
Figura 8. Número total de espermatozoides (10 ⁶) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,15; *Tratamiento P= 0,0001; Interacción P= 0,11).	23

Figura 9. Número total de espermatozoides con movilidad progresiva (10^6) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,30; *Tratamiento P< 0,0001; Interacción P= 0,31).....	24
Figura 10. Número total de espermatozoides normales con movilidad progresiva (10^6) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,04; *Tratamiento P< 0,0001; Interacción P= 0,32).	24
Figura 11. Supervivencia de semen puro (horas) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,38; *Tratamiento P< 0,0001; Interacción P= 0,14).25	
Figura 12. Supervivencia de semen diluido (horas) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,90; Tratamiento P< 0,0001; *Interacción P= 0,001).	25
Figura 13. Porcentaje de espermatozoides con daño acrosomal (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,59; *Tratamiento P< 0,0001; Interacción P= 0,27).	26
Figura 14. Porcentaje de espermatozoides con cabeza suelta (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,36; *Tratamiento P< 0,0001; Interacción P= 0,84).	26
Figura 15. Porcentaje de anomalías de cabeza (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,03; *Tratamiento P< 0,0001; Interacción P= 0,86).	26
Figura 16. Porcentaje de gota citoplasmática proximal (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,0008; *Tratamiento P= 0,006; Interacción P= 0,66).	27
Figura 17. Porcentaje de gota citoplasmática distal (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,11; Tratamiento P= 0,005; *Interacción P= 0,008).	27
Figura 18. Porcentaje de pieza intermedia (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,10; Tratamiento, *P= 0,0009; Interacción P= 0,01)	28
Figura 19. Porcentaje de cola enrollada (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,06; Tratamiento P= 0,003; *Interacción P= 0,07)	29
Figura 20. Porcentaje de cola en ansa (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,12; *Tratamiento P= 0,004; Interacción P= 0,15)	29
Figura 21. Porcentaje de cola en ansa con gota (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,29; Tratamiento P= 0,003; *Interacción P= 0,02).....	29

Figura 22. Porcentaje de cola quebrada (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,02; *Tratamiento P= 0,001; Interacción P= 0,12) 30

Figura 23. Porcentaje de condensación de cromatina (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,03; Tratamiento P< 0,0001; *Interacción P= 0,05)..... 31

Figura 24. Medidas testiculares para padrillos criollos G1 (n= 9) y G2 (n=9) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (*Testículo izquierdo ancho P= 0,0001; Testículo izquierdo largo P= 0,05; *Testículo izquierdo alto P= 0,002; Testículo derecho ancho P= 0,22; Testículo derecho largo P= 0,05, *Testículo derecho alto P< 0,0001)..... 31

Tabla 1. Parámetros seminales en padrillos de raza Criolla, para G1 (n=9) y para G2 (n=9), muestreados cada 15 días durante los meses de agosto, septiembre y octubre. 32

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue comparar la calidad seminal mediante la evaluación de la movilidad progresiva, número total de espermatozoides normales y tipo de anomalías espermáticas entre padrillos de raza criolla con y sin entrenamiento intensivo de competición. Otros parámetros fueron evaluados con el fin de describir las características reproductivas de padrillos de raza Criolla. Padrillos de raza Criolla ($n=18$) fueron evaluados reproductivamente, durante los meses de agosto, septiembre y octubre del 2014, Grupo Ejercicio (G1, $n=9$) bajo un régimen de entrenamiento para competición y Grupo Control (G2, $n=9$) bajo condición de no entrenamiento. Los padrillos del G1 tuvieron una rutina de entrenamiento de una hora diaria, y participaron en competencias durante el período del estudio. Se evaluó semanalmente la temperatura ($^{\circ}\text{C}$), por vía rectal con termómetro digital, y la frecuencia cardíaca (latidos por minuto), con un fonendoscopio. Las mediciones se realizaron en ambos grupos previo al ejercicio ($T=0$) y a los 30 minutos después de iniciado el mismo ($T=30$) a los del G1. Previo al comienzo del estudio, a los padrillos de ambos grupos experimentales se les colectó semen 2 veces por día, durante 7 días consecutivos, para vaciar sus reservas espermáticas y así tenerlos en daily sperm output (DSO). Comenzado el estudio, las muestras de semen se tomaron cada 15 días, obteniendo dos eyaculados consecutivos, separados por un intervalo de 1 hora.

Los resultados obtenidos demuestran que hubo efecto de ejercicio sobre los siguientes parámetros del semen: volumen, ($P<0,001$); movilidad de semen puro, ($P<0,0001$); movilidad de semen diluido, ($P<0,0001$); vigor espermático del semen puro, ($P=0,0007$); vigor espermático del semen diluido, ($P=0,001$); número total de espermatozoides, ($P=0,0001$); número total de espermatozoides con movilidad progresiva, ($P<0,001$); número total de espermatozoides normales con movilidad progresiva, ($P<0,001$); supervivencia de semen puro, ($P<0,001$); supervivencia del semen diluido, ($P<0,001$). Los resultados de los tipos de anomalías espermáticas son los siguientes: daño acrosomal de los espermatozoides, ($P<0,0001$); anomalías de cabeza, ($P<0,0001$); porcentaje de cabezas sueltas, ($P<0,0001$); gotas citoplasmáticas proximales de los espermatozoides, ($P<0,006$); gotas citoplasmáticas distales de los espermatozoides, ($P=0,005$); porcentaje de defectos de pieza media de los espermatozoides, ($P=0,0009$); colas enrolladas de los espermatozoides, ($P=0,0003$); colas en ansa de los espermatozoides, ($P=0,004$); colas en ansa con gota de los espermatozoides, ($P=0,003$); porcentaje de colas quebradas de los espermatozoides, ($P=0,001$); porcentaje de condensación de cromatina, ($P=0,001$). No se observó efecto del ejercicio en los siguientes parámetros del semen: color, pH, concentración espermática por ml, porcentaje en las anomalías de cuello de los espermatozoides, porcentaje de defectos de pieza media de los espermatozoides, porcentaje de células germinales, número de montas previo al eyaculado. De los resultados obtenidos se observó que hubo diferencias significativas entre grupos en cuanto a la calidad seminal encontrada principalmente en los parámetros como: el número total de espermatozoides normales con movilidad progresiva, y la viabilidad espermática. Este estudio demuestra que el entrenamiento intensivo de competición en padrillos de raza Criolla disminuye la calidad seminal.

Palabras claves: ejercicio, estrés, temperatura corporal, semen equino.

ABSTRACT

The objective of this study was to compare the seminal quality using parameters as progressive motility, total number of morphologically normal and sperm abnormalities rate between Criollo stallions under training conditions with those of stallions under regular field conditions. Other parameters were evaluated in order to describe the reproductive characteristics of stallions. Criollo bred stallions (n = 18) were evaluated reproductively, during a period of 12 weeks, from August until October 2014. The Exercise Group (G1, n = 9) under a regime of intensive exercise to high competition and Control Group (G2, n = 9) under no exercise condition. Stallions from Exercise Group had a routine of one hour of exercise per day, and participated in competitions during the experimental period. Rectal temperature (° C) and heart rate (beats per minute) was assessed prior to exercise (T = 0) in both group and after 30 minutes (T = 30) was assessed weekly, only in G1. Before beginning with the experiment, sperm from stallions of G1 and G2 sperm was collected twice a day for 7 days empty their sperm reserves and thus keep them in daily sperm output (DSO). Once started the study, semen samples were taken every 15 days with 2 separate outlets every 1 hour.

The results showed that there was an effect of exercise on the following semen parameters: gel-free volume, (P<0,001); percentage motility of semen, (P<0,0001); percentage motility of extended semen, (P <0,0001); vigor of semen, (P= 0,0007); vigor of extended semen, (P= 0,001); total number of sperm/ ejaculate, (P= 0,0001); total sperm motility, (P<0,001); total number of morphologically normal and motile sperm, (P<0,001); longevity of sperm motility, (P<0,001); longevity of extended semen motility, (P<0,001); normal sperm, (P<0,0001). The results for sperm abnormalities types are as follows: acrosome defects, (P <0,0001); tailless head, (P <0,0001); head defects, (P<0,0001); proximal cytoplasmic droplets, (P<0,006); distal cytoplasmic droplets, (P=0,005); entire tail-coiled, (P=0,0003); colled tail, (P=0,004); colled tail with droplets, (P=0,003); percent swollen midpiece, (P=0,0009); bent tails, (P=0,001); abnormal DNA, (P= 0,0015); lives, (P= 0,01). No effect of exercise was found in the following semen parameters: color, pH, sperm concentration, abnormalities of neck sperm, percent swollen midpiece, percentage of germ cells, and number of pre-ejaculate ride. The results showed that there were differences between groups regarding semen quality parameters found mainly as: total number of morphologically normal and motile sperm, and viability semen. The results showed that there was an effect of exercise on decreases the sperm quality.

Keywords: exercise, stress, body temperature, equine semen.

I. INTRODUCCIÓN

En el año 2012 la Asociación Criadores de Caballos Criollos de la Argentina (ACCC) aprobó la utilización de la técnica de inseminación artificial con semen fresco, refrigerado y congelado en animales inscriptos en la raza. A partir de ello una de las demandas concretas de los criadores de caballos criollos es la obtención de muestras de semen de padrillos que están en competencia para inseminar con semen fresco, refrigerado o para criopreservarlo. En este aspecto no hay mucha información disponible sobre las características reproductivas del padrillo Criollo y el efecto del entrenamiento sobre las mismas.

Los datos obtenidos en el 2006 indican que la Raza Criolla representa el 52% de los caballos inscriptos en el país, con un total de 778.600 ejemplares; seguida por la raza Polo Argentino con el 32% (477.000 ejemplares totales). En los últimos años se vio un importante crecimiento en la raza Criolla, tanto en el número de criadores como en el de potrillos inscriptos, siendo una de las razas equinas que más productos (reproductores machos y hembras, y potrillos) exporta en la Argentina, datos de la Sociedad Rural Argentina (SRA).

La raza Criolla Argentina se origina del caballo español de la época de la conquista, que llegó a Sudamérica en el segundo viaje de Colón. En su mayoría eran caballos de origen andaluz, descendientes de los viejos y rústicos troncos europeos que recibieron un influjo de sangre oriental, a través del primitivo Berberisco. Así se inició la cría local que es la génesis del caballo que existe actualmente en Argentina, Brasil, Chile, Uruguay y Paraguay, y se conoce con la denominación genérica de "Caballo Criollo". En 1918 se abrió un registro para caballos Criollos que se denominó Caballo Argentino (Dowdall, 1983). El Caballo Criollo tiene como una de sus características principales la rusticidad, que le confiere una especial habilidad para el trabajo a campo, así como una adecuada resistencia para recorrer amplias extensiones de territorio. En la actualidad, se lo utiliza con un doble propósito: morfología y deporte. Los caballos Criollos con propósito deportivo compiten en diferentes pruebas funcionales: Prueba Corral de Aparte, Prueba de Rodeos, Marcha, Marcha de Criadores, Rodeo Cuyano, Felipe Z Ballester (FZB), Freno de Oro, Aparte Campero, Roberto J. Dowdall que son reglamentadas por la Asociación de Criadores de Caballos Criollos. En la SRA en el período comprendido desde el primero de julio del año 2012 hasta el primero de julio del año 2013, se han inscripto 7.086 nacimientos. De los cuales 3.405 ejemplares corresponden al género macho y 3.681 al género hembra, (Registros Genealógicos de la SRA, 2013).

La eficiencia reproductiva es de fundamental importancia en la cría de caballos. Para que una inseminación artificial (IA) sea exitosa, la calidad del semen es de fundamental importancia. El semen equino es evaluado en las diferentes razas con parámetros

seminales establecidos, entre los cuales podemos citar: pH de 7,2 a 7,9; movilidad de semen de $56,0 \pm 15,3$ %; concentración espermática de $168 \times 10^6 \pm 8,6$ ml; número total de espermatozoides $5,8 \times 10^9 \pm 4,8$; porcentaje de espermatozoides anormales $28,6 \pm 12,8$ % (Magistrini, 2000).

El examen andrológico permite determinar las características del tracto genital del reproductor y caracterizar la calidad seminal en padrillos de diferentes razas. Sin embargo, y según nuestro conocimiento de la bibliografía en la raza Criolla, no se han realizado estudios para estandarizar los parámetros andrológicos y/o seminales, ni en condiciones de reposo ni de entrenamiento.

Los parámetros para la evaluación del semen del padrillo que se evalúan de rutina, son los siguientes: volumen libre de gel, volumen de gel, pH, movilidad progresiva del semen puro y diluido, concentración espermática, número total de espermatozoides, número total de espermatozoides con movilidad progresiva, número total de espermatozoides normales con movilidad progresiva, supervivencia del semen puro y diluido y morfología espermática.

Se ha descrito tanto en animales como en humanos que el estrés podría suprimir la capacidad reproductiva (Rivier y Rivest, 1991). Las hormonas relacionadas con el estrés pueden afectar las funciones sexuales en los tres niveles del eje Hipotálamo - Hipofisario - Gonadal. A nivel hipotalámico por la inhibición de la liberación de GnRH, en la hipófisis interfiriendo en la inducción de GnRH a la secreción de LH y por último en las gónadas se altera el efecto estimulador de las gonadotropinas sobre la secreción de esteroides (Rivier y Rivest, 1991). Las principales causas que producen estrés incluyen enfermedades infecciosas, enfermedades endócrinas, traumas quirúrgicos y situaciones de manejo y/o propósito como el transporte y/o el ejercicio intensivo.

Algunos de los parámetros reproductivos pueden estar influenciados por la liberación de glucocorticoides inducida por estrés. No obstante, los efectos del estrés sobre la fertilidad se han estudiado solo de forma limitada en el equino (Aurich y Aurich, 2008). Algunos autores afirman que el estrés puede comprometer la calidad del semen fresco y pos-congelado (Rivier y Rivest, 1991; Janett *et al.*, 2006; Janicki *et al.*, 2013), mientras que otros autores afirman que no influye (Dinger *et al.*, 1986; Lange *et al.*, 1997; Aurich y Aurich, 2008). Sólo cuando se prolonga el estrés, es probable que la secreción de gonadotropinas sea suprimida, mientras que en el estrés transitorio o agudo este efecto es menos claro (Tilbrook *et al.*, 2000; Aurich y Aurich, 2008). Diversos estudios demuestran que ante una situación de estrés como el ejercicio, monta o transporte de los equinos, el cortisol plasmático aumenta (Baker, 1982; Rabb, 1989; Nogueira y Barnabe, 1997; Turner, 2002; Janett *et al.*, 2006). Ante un estrés agudo los niveles GnRH, LH y FSH aumentan a corto plazo (Irvine, 1991), o se mantienen sin variación significativa con ejercicio moderado (Gordon *et al.*, 2014).

Las concentraciones de testosterona en caballos de carrera asumiendo que experimentaban estrés asociado con el entrenamiento fueron más bajas que en los controles no entrenados (Baker *et al.*, 1982). Esto contrasta con los resultados de Janett *et al.* (2006), quienes observaron que los niveles de testosterona, cortisol y lactato aumentaron significativamente en caballos en entrenamiento. Estudios similares se han realizado en humanos que sufrieron estrés durante los últimos meses previos al análisis de semen observándose una asociación entre el estrés y una menor concentración espermática, número total de espermatozoides, y porcentaje de espermatozoides móviles y morfológicamente normales, o sea con una disminución de la calidad seminal (Eskiocak *et al.*, 2006). Una de las hipótesis que se postula con mayor fortaleza es que esto sucede porque el estrés influye sobre los factores endocrinos (Gollenberg *et al.*, 2010).

El estrés social como ocurre por ejemplo en la reagrupación de caballos, afecta el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal de caballos subordinados, elevando las concentraciones de cortisol libre en estos individuos, (Alexander e Irvine, 1998; Aurich y Aurich, 2008). También se ha reportado que la competición aumenta los niveles de ACTH y cortisol en plasma, siendo este aumento menor en padrillos experimentados que en los padrillos jóvenes (Cayado *et al.*, 2006). Esto indicaría una adaptación al estrés a lo largo del tiempo. Una rápida adaptación de los caballos al estrés también se reportó en un estudio realizado en caballos que viajaban en tráiler (Shanahan, 2003). La movilidad espermática y el número de espermatozoides totales durante la temporada de servicios son mayores para los padrillos que sólo actúan como reproductores en comparación con aquellos que compatibilizan actividad deportiva con la función reproductiva (Lange *et al.*, 1997).

El mantenimiento de la temperatura escrotal por debajo de la temperatura corporal es fundamental para la realización de una normal espermatogénesis (Waites *et al.*, 1964). La evaluación de la temperatura escrotal por medio de la termografía dejó en evidencia que, la temperatura escrotal es de 33° C, siendo la temperatura testicular de 30° C a 32,5° C (Chernier, 2000). Los mecanismos de regulación de la temperatura escrotal en el padrillo incluyen: la túnica dartos, el músculo cremaster, el plexo pampiniforme y la pared fina del escroto, libre de pelos y con numerosas glándulas sebáceas y sudoríparas (Amann, 2011). Cuando el aumento de la temperatura escrotal es de 1,4 a 2,2° C decrece la concentración espermática, el porcentaje de espermatozoides vivos y móviles y por lo tanto, la fertilidad (Friedman *et al.*, 1991; Mieusset *et al.*, 1992; Blanchard *et al.*, 1996; Rosenberg *et al.*, 2013).

Ha sido descrito que el entrenamiento intensivo, considerando al mismo cuando el padrillo presenta signos de agotamiento y no puede mantener la velocidad en la cinta (Janett *et al.*, 2006), puede afectar los parámetros reproductivos en padrillos, mientras que según Mawyer *et al.* (2012), en periodos de entrenamiento controlados y cortos (4 días por semana, durante 12 semanas, incluyendo: 8 minutos de caminata, 15 minutos de trote/galope extendido, 7 minutos de caminata), no tendrían efecto adverso.

Por lo tanto el objetivo de nuestro estudio es comparar los parámetros reproductivos en padrillos de raza Criolla en entrenamiento de competición (una hora diaria de entrenamiento, 6 días por semana) con padrillos sin entrenamiento.

II. HIPÓTESIS

- El entrenamiento intensivo de competición en padrillos de raza Criolla disminuye la calidad seminal.

III. OBJETIVO

- Comparar la calidad seminal mediante la evaluación de la movilidad progresiva, número total de espermatozoides normales y tipo de anomalías espermáticas entre padrillos de raza Criolla con y sin entrenamiento intensivo de competición.



IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Población en estudio: Se utilizaron 18 padrillos, entre 7 y 12 años de edad, de Raza Criolla, inscriptos en el Stud Book Argentino, bajo las normativas genealógicas y de estándar racial de la Asociación de Criadores de Caballos Criollos.

Lugar y desarrollo: Los grupos experimentales: Grupo Ejercicio (G1) y Grupo Control (G2) se localizaron en la zona de General Pico (G1: n=4 y G2: n=2), provincia de La Pampa (latitud Sur 35° 37,602', longitud Oeste 63° 55,650'), en la zona de la localidad de Juan José Paso (G1: n=5 y G2: n=1), provincia de Buenos Aires (latitud Sur 35°44' 8,94", longitud Oeste 62° 18'45,69"), y en la zona de la localidad de González Moreno (G2: n=6), provincia de Buenos Aires (latitud Sur 35° 32,322', longitud Oeste 63° 29,774'), Argentina. La temperatura y humedad ambiente se midió con un termómetro digital (marca TFA®, Alemania) en cada día de muestreo. Los valores promedios de temperatura y humedad relativa ambiente para la localidad de provincia. de Buenos Aires y las de la provincia de La Pampa se compararon mediante la Prueba de t-Student. Los datos han sido relevados por una misma persona, y analizados en un laboratorio móvil y en la Cátedra de Obstetricia y Fisiopatología de la Reproducción Animal, de la Facultad de Ciencias Veterinarias, de la UNLPam (La Pampa, Argentina). Todos los padrillos de ambos Grupos estuvieron alojados en corrales de 5 metros x 4 metros, con sombra y agua *ad libitum*. La dieta consistió en heno de alfalfa a voluntad y 7 kilos diarios de avena.

Diseño experimental: Grupo Ejercicio (G1): 9 padrillos en condiciones de entrenamiento de competición y el Grupo Control (G2): 9 padrillos sin entrenamiento, durante los meses del experimento.

Ejercicio: Los padrillos del G1 participaron en la prueba de corral de aparte categoría A, prueba de rodeo, y Felipe Z Ballester categoría A. El entrenamiento del grupo, durante los meses del experimento, consistió en una hora de actividad física diaria, con ejercicios aeróbicos y anaeróbicos en todos los casos, durante 6 días por semana. Los animales del G1 iniciaron el ejercicio 30 días antes de la primera obtención de semen. Se evaluó semanalmente la temperatura (°C), por vía rectal con termómetro digital, y la frecuencia cardíaca (latidos por minuto), con un fonendoscopio. Las mediciones se realizaron en ambos grupos previo al ejercicio (T=0) y solo en G1, a los 30 minutos después de iniciado el mismo (T=30).

Evaluación Reproductiva: Previo comienzo del estudio a los padrillos de ambos grupos se le obtuvo semen 2 veces por día, durante 7 días consecutivos, para vaciar sus reservas espermáticas y así tenerlos en DSO (Daily Sperm Output). Durante los meses de Agosto, Septiembre y Octubre, se obtuvieron muestras de semen, cada 15 días de

ambos grupos, de todas las localidades. Las muestras fueron obtenidas por un mismo operador en todos los padrillos durante el periodo del estudio.

El semen fue obtenido por el método de vagina artificial, utilizando el modelo Missouri y una yegua en celo. Se obtuvieron dos eyaculados, separados por intervalo de una hora, muestreados 1 vez cada 15 días, (en G1, la extracción de semen fue previa al ejercicio diario). Se registraron los números de saltos previos a la obtención del eyaculado. Inmediatamente obtenida la muestra se filtró para remover el gel, y el semen libre de gel se evaluó macroscópicamente (color, volumen y pH), y se colocó en baño termostático a 37°C para su posterior evaluación. La evaluación del semen fue realizada por el mismo operador en todas las ocasiones.

La evaluación del semen se realizó en semen puro y diluido con diluyente de semen a base de leche descremada/glucosa (BotuSemen®, Botupharma, Botucatu, Brazil) en una concentración de 25-50 x 10⁶ ml, a 37° C. Se realizó una evaluación de los parámetros del eyaculado que se detallan a continuación.

Evaluación Macroscópica: el color, se evaluó de forma visual (utilizando una escala que va desde el color gris-transparente hasta el blanco-cremoso, según lo descrito por Kenney, 1983); el volumen del eyaculado (ml) libre de gel se midió con una probeta de vidrio atemperada; y el pH se midió al total del volumen de semen libre de gel, utilizando un pH- metro (modelo HI 8424, marca HANNA®, según lo descrito por Baumber-Skaife, (2011).

Evaluación Microscópica: Se evaluó la movilidad progresiva (porcentaje de espermatozoides que poseen un movimiento lineal, progresivo y uniforme) por observación directa empleando un microscopio en contraste de fase (200x y 400x) con platina térmica regulada a 37°C. El vigor espermático se evaluó utilizando una escala del 1 al 3, siendo 1 aquel semen de mayor vigor y 3 aquel semen de menor vigor. La concentración espermática, expresada en millones de espermatozoides por ml, se determinó por hemocitometría utilizando una cámara de Neubauer y una dilución 1/200 en buffer salino formado (BSF). Para evaluar la morfología espermática se fijaron las células en BSF, y se observaron utilizando un microscopio con contraste de fase (según el método descrito por Malmgren, 1992). La morfología espermática se determinó contando un mínimo de 100 espermatozoides para evaluar las anomalías (según el método adaptado por Hermet, 1993). Se tipificaron las anomalías espermáticas en: daño de acrosoma, defectos de forma de cabeza, cabezas sueltas, gota citoplasmática proximal, gota citoplasmática distal, defecto de cuello, defecto de pieza intermedia, cola enrollada, cola en ansa, cola en ansa con gota, cola quebrada, presencia o no de células germinales (Rao Veeramachaneni, 2011).

Para la evaluación de células polimorfonucleares se realizaron frotis finos y gruesos y se utilizó la Tinción 15 (Tinción 15®, Biopur S.R.L., Rosario, Argentina), según técnica descripta por Baumber-Skaife, 2011.

Luego de realizadas estas determinaciones, se calcularon los siguientes parámetros: número total de espermatozoides por eyaculado, el número total de espermatozoides con movilidad progresiva y el número total de espermatozoides morfológicamente normales con movilidad progresiva.

Se realizó el test de supervivencia espermática a temperatura ambiente (22°C), en semen puro y semen diluido. Las muestras de semen puro se observaron hasta que la movilidad espermática llegó a un 10%, al igual que las muestras del semen diluido con diluyente de semen a base de leche descremada/glucosa (BotuSemen®, Botupharma, Botucatu, Brazil) en una concentración de 25-50 x 10⁶/ml (Brinsko, 2011).

Se evaluó, de acuerdo al protocolo descripto por Carretero *et al.* (2009), el grado de condensación de la cromatina espermática. Para ello se realizaron 2 frotis, se fijaron con etanol 96° durante 2 minutos, se dejaron secar al aire y se tiñeron con azul de toluidina durante 5 minutos. Los espermatozoides que se tiñeron de color celeste (negativo sin alteración en la condensación normal), violeta claro (intermedios algún grado de descondensación), violeta oscuro (positivo alto grado de descondensación). Se observó el número de montas que realizaban los padrillos previo a la obtención del eyaculado.

Tamaño testicular: las medidas de los testículos se expresaron en centímetros (cm) y se determinaron utilizando ecografía y calibre (en los casos que el alcance del transductor no permitía medir el largo del testículo). Se evaluó alto, ancho y largo de ambos testículos, a todos los padrillos de ambos grupos experimentales. Las mencionadas mediciones se obtuvieron previo al inicio de la obtención de semen, 1 vez cada 15 días.

V. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables independientes fueron: Padrillo, Eyaculado, Grupo (Ejercicio versus Control), y el Día experimental de obtención del semen (6 días de colecta de semen durante los meses de agosto, septiembre y octubre, cada 15 días, con 2 muestras de semen separadas por 1 hora). El modelo experimental incluyó padrillo, eyaculado 1 y 2 anidado en el Grupo, Día, y la interacción Grupo por Día.

Las variables dependientes fueron: DSO (número total de espermatozoides normales con motilidad progresiva), color (transparente/blanquecino), volumen (ml), pH (unidad), motilidad progresiva (%), vigor (1,2,3), concentración espermática (millones de espermatozoides/ml), número total de espermatozoides (millones totales), número total de espermatozoides con movilidad progresiva (millones totales), número total de espermatozoides morfológicamente normales con movilidad progresiva (millones), relación de espermatozoides vivos y muertos (% vivos), supervivencia espermática (horas), condensación de cromatina (% de espermatozoides con cromatina descondensada), número de montas previas a la obtención del eyaculado (unidad), tamaño testicular (centímetros).

El efecto de las variables independientes y su interacción sobre las variables dependientes con distribución normal (volumen, gel, pH, movilidad puro y diluido, concentración por ml, concentración total, concentración total con movilidad progresiva, concentración total con movilidad progresiva morfológicamente normales, supervivencia de semen puro y diluido, morfología espermática, anormalidades espermáticas de acrosoma, cabeza, cabeza suelta, gota citoplasmática proximal, gota citoplasmática distal, cola enrollada, cola en ansa, cola en ansa con gota, cola quebrada, condensación de cromatina, porcentaje de vivos y muertos) fueron analizadas por ANOVA, anidado con el procedimiento de medidas repetidas en el programa de SAS (SAS Inst. Inc, Cary, NC, versión 9.3, 2011). El efecto de las variables independientes y su interacción sobre las variables con distribución no paramétricas fueron analizadas con el procedimiento de Proc Genmod en el programa SAS (número de montas, anormalidades de espermatozoides en cuello, pieza intermedia y presencia de células germinales). La distribución de Poisson se utilizó para analizar el vigor espermático del semen puro y diluido. El Test de Student (SAS Inst. Inc. Cary, NC, versión 9.3, 2011) se utilizó para analizar temperatura corporal, frecuencia cardíaca, tamaño testicular.

Los valores fueron expresados como media \pm error estándar de la media y el nivel de significancia estadística fue $P \leq 0,05$ y de $P \leq 0,10$ para expresar tendencias.

VI. RESULTADOS

La temperatura y la humedad relativa ambiente se registraron en cada día de muestreo. Si bien las localidades en las que se realizaron dichos nuestros pertenecen a la Región de la Pampa Húmeda y se encuentran en un rango de 50 - 180 km de distancia, se compararon los promedios de los registros obtenidos para las dos localidades más distantes, una en Pcia. de Buenos Aires y la otra en Pcia. de La Pampa. El promedio de temperatura ambiente registrada en las localidades de Pcia de Bs As fue de $14,72^{\circ}\text{C} \pm 1,08^{\circ}\text{C}$ y en las localidad de Pcia. de La Pampa $12,33^{\circ}\text{C} \pm 1,58^{\circ}\text{C}$ ($P=0,21$). El promedio de humedad relativa registrada cada día de muestreo en la localidades de Pcia de Bs As fue de $48,21\% \pm 1,78\%$ y en la localidad de Pcia. de La Pampa $46,22\% \pm 2,76\%$ ($P=0,53$). Al no registrarse diferencias, referimos la temperatura y humedad relativa ambiente promedio, de $13,78^{\circ}\text{C}$ y $47,43\%$ respectivamente.

Para el G1, la temperatura rectal media para $T=0$ fue de $37,54 \pm 0,11^{\circ}\text{C}$ y para $T=30$ fue de $39,6 \pm 0,41^{\circ}\text{C}$ ($P<0,0001$). No se observó efecto del Día, ni tampoco de la interacción Día por Tiempo. La frecuencia cardíaca promedio para $T=0$ fue de $38,43 \pm 3,27$ latidos por minuto, y para $T=30$ fue de $79,32 \pm 3,98$ latidos por minuto ($P<0,0001$). No se observó efecto del Día, ni tampoco de la interacción Día por Tiempo.

En la Tabla 1 se pueden observar los resultados obtenidos en los parámetros seminales evaluados en los eyaculados 1 y 2, de cada uno de los grupos experimentales.

No hubo diferencia significativa en el color del semen, siendo la totalidad de la muestras de color blanquecino. El volumen promedio del eyaculado fue menor para el G1 ($41,46 \pm 6,1$ ml) que para el G2 ($53,33 \pm 6,3$ ml; $P<0,001$) durante la totalidad del estudio. Siendo dicho parámetro para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $44,7 \pm 3,0$ ml y $40,1 \pm 3,2$ ml, respectivamente. Mientras que para el G2 fue de $66,3 \pm 4,3$ ml y de $64,4 \pm 1,3$ ml, respectivamente. También fue significativa la interacción entre Día y Grupo (ver Figura 1, $P=0,003$). El volumen de gel del eyaculado no fue diferente entre el G1 y el G2 (Tabla 1). Tampoco se observó un efecto del Día, aunque sin embargo, hubo una interacción entre Día y Grupo (ver Figura 2, $P=0,0003$). Los valores del pH del eyaculado para el Grupo Control y Grupo Ejercicio no fueron diferentes (Tabla 1), tampoco se observó un efecto del Día, ni de interacción Día-Grupo.

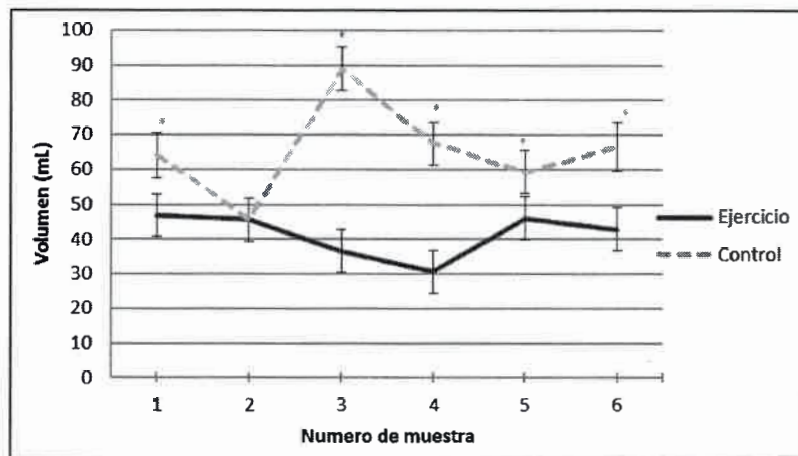


Figura 1. Volumen de eyaculado para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,07; Tratamiento P <0,0001; *Interacción P= 0,0003).

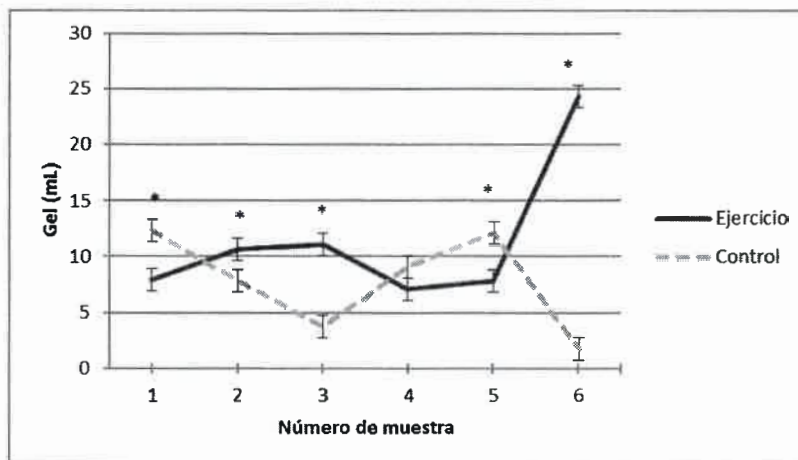


Figura 2. Volumen de gel para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,61; Tratamiento P= 0,19; *Interacción P= 0,0003).

La movilidad del semen puro del eyaculado fue menor para el G1 ($47,8 \pm 2,53$ %) que para el G2 ($63,56 \pm 2,5$ %; $P < 0,0001$). Siendo dicho parámetro para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $47,3 \pm 2,0$ % y $50,1 \pm 1,8$ %, respectivamente. Mientras que para el G2 fue de $62,4 \pm 1,0$ % y $64,8 \pm 0,9$ %, respectivamente. El efecto del Día sobre el volumen tendió a ser diferente ($P=0,09$), pero la interacción Día y Grupo fue significativa (ver Figura 3, $P < 0,0001$). La movilidad del semen diluido del eyaculado fue menor para el G1 ($50,13 \pm 2,41$ %) que para el G2 ($65,25 \pm 2,4$ %; $P < 0,0001$). Siendo dicho parámetro para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $48,3 \pm 2,0$ % y $52,0 \pm 1,7$ %, respectivamente. Mientras que para el G2 fue de $63,9 \pm 1,0$ % y $66,6 \pm 0,8$ %, respectivamente. También fue significativo el efecto del Día ($P= 0,001$) e interacción Día y Grupo (ver Figura 4, $P < 0,0001$).

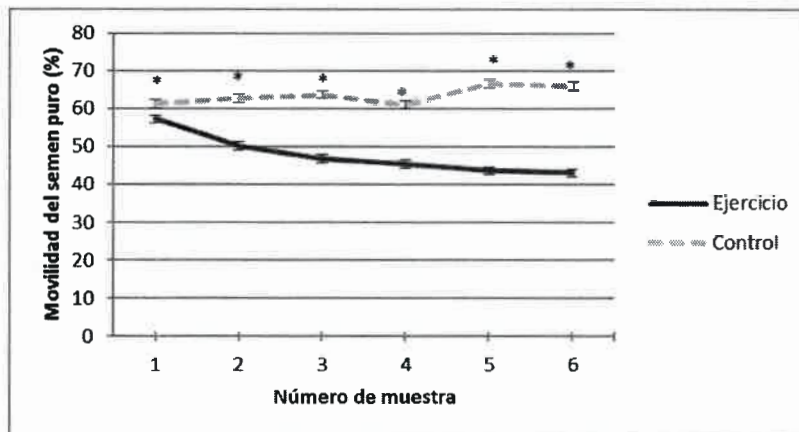


Figura 3. Movilidad de semen puro para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,09; Tratamiento P< 0,0001; *Interacción P< 0,0001).

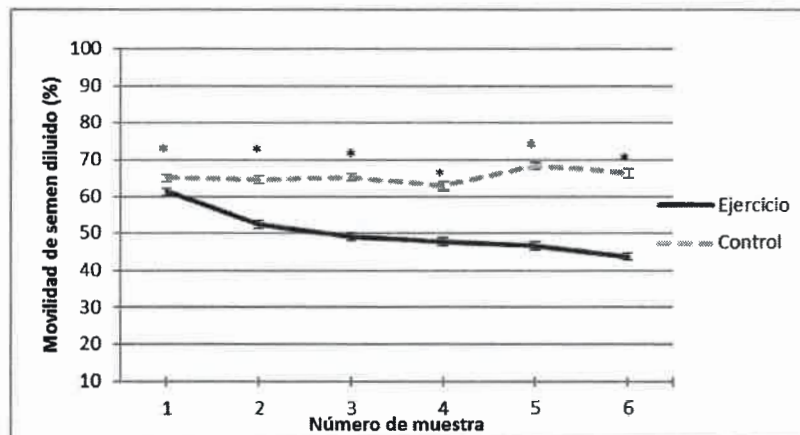


Figura 4. Movilidad de semen diluido para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,0016; Tratamiento P< 0,0001; *Interacción P< 0,0001).

El vigor espermático en el eyaculado puro, fue menor para el G1 ($2,32 \pm 0,12$) con respecto a G2 ($2,63 \pm 0,12$; $P= 0,0007$). Siendo dicho parámetro para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $2,2 \pm 0,0$ y $2,3 \pm 0,0$, respectivamente. Mientras que en el G2 fue de $2,6 \pm 0,0$ y $2,7 \pm 0,0$, respectivamente. No se observó un efecto del Día, ni tampoco en la interacción entre Día y Grupo (ver Figura 5). El vigor del semen diluido del eyaculado fue menor para el G1 ($2,56 \pm 0,1$) con respecto a G2 ($2,88 \pm 0,1$; $P= 0,001$). Siendo dicho parámetro para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $2,5 \pm 0,0$ y $2,7 \pm 0,0$, respectivamente. Mientras que para el G2 fue de $2,8 \pm 0,0$ y $2,9 \pm 0,0$, respectivamente. No se observó un efecto significativo del Día, como tampoco de la interacción entre Día y Grupo (ver Figura 6).

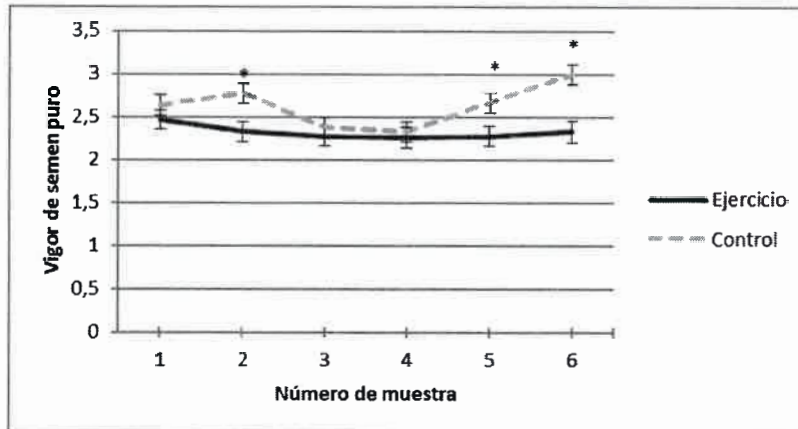


Figura 5. Vigor de semen puro para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,11; *Tratamiento P= 0,0007; Interacción P= 0,2).

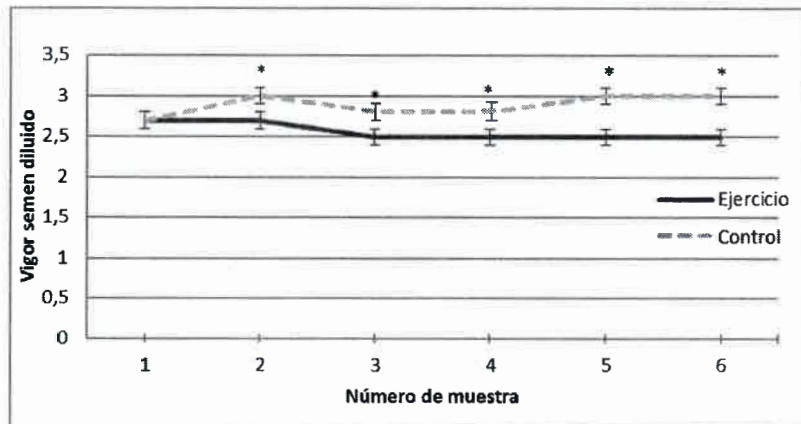


Figura 6. Vigor de semen diluido para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,52; Tratamiento P= 0,001; *Interacción P= 0,04).

No hubo diferencia significativa en la concentración espermática (P=0,70). La misma fue para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $(259,8 \pm 17,9) \times 10^6$ /ml y $(186,9 \pm 12,5) \times 10^6$ /ml, respectivamente. Mientras que para el G2 fue de $(239,8 \pm 21,2) \times 10^6$ /ml, y $(181,0 \pm 11,4) \times 10^6$ /ml, respectivamente. Se observó que el efecto del Día sobre la concentración no fue significativo (P=0,53), sin embargo se observó una tendencia en la interacción Día Grupo (ver Figura 7, P=0,07). El número total de espermatozoides (10^6) fue menor para el G1 ($8104,91 \pm 1267,16$) con respecto con el G2 ($12124,16 \pm 1252,58$; P= 0,0001). Dicho valor para el G1, en el eyaculado 1 y 2 fue de $(9521,9 \pm 617,3) \times 10^6$ y $(6692,3 \pm 646,5) \times 10^6$, respectivamente. Mientras que para el G2 fue de $(13009 \pm 826,9) \times 10^6$ y $(11178,6 \pm 762,4) \times 10^6$, respectivamente. No se observaron diferencias en el Día, como tampoco en la interacción Día Grupo (ver Figura 8). El número total de espermatozoides con movilidad progresiva (10^6) fue menor para el G1 ($3805,21 \pm 1088,2$) con respecto al G2 ($8029,68 \pm 1074,26$; P<0,001). Siendo dicho parámetro para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $(4193,0 \pm 361,0) \times 10^6$ y de $(3469,7 \pm 419,2) \times 10^6$, respectivamente.

Mientras que para el G2 fue de $(8945,9 \pm 969,1) \times 10^6$ y $(7080,0 \pm 519,6) \times 10^6$, respectivamente. No se observó diferencia en Día, como tampoco en la interacción Día y Grupo (ver Figura 9).

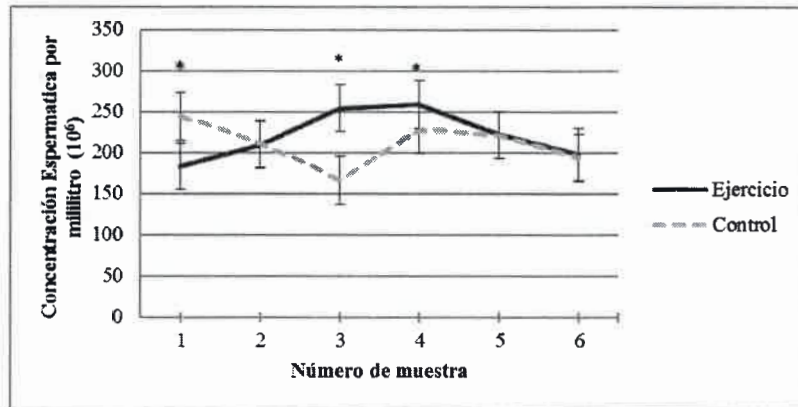


Figura 7. Concentración espermática por mililitro (10^6) para padrillos criollos G1 ($n= 9$, Ejercicio) y G2 ($n= 9$, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día $P= 0,53$; Tratamiento $P= 0,70$; * Interacción $P= 0,07$).

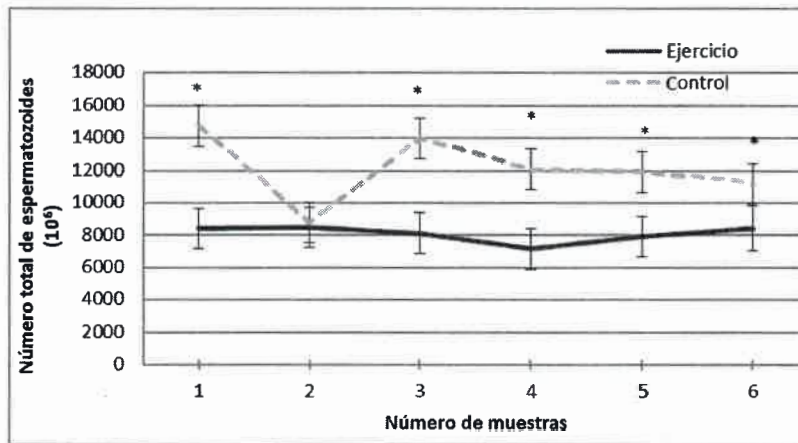


Figura 8. Número total de espermatozoides (10^6) para padrillos criollos G1 ($n= 9$, Ejercicio) y G2 ($n= 9$, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día $P= 0,15$; * Tratamiento $P= 0,0001$; Interacción $P= 0,11$).

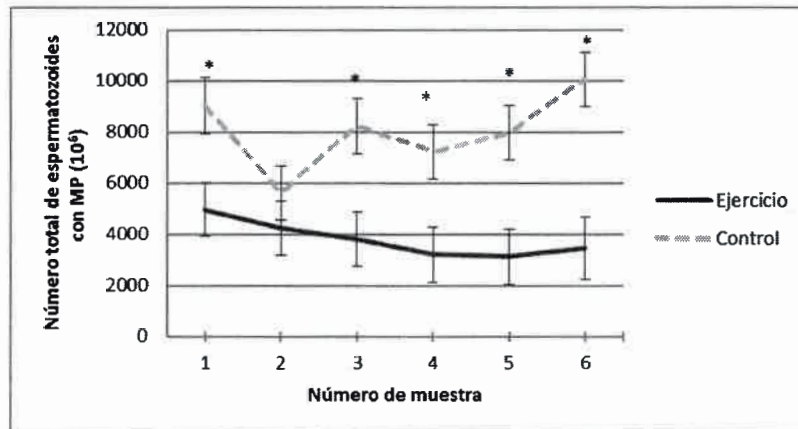


Figura 9. Número total de espermatozoides con movilidad progresiva (10^6) para padrillos criollos G1 ($n= 9$, Ejercicio) y G2 ($n= 9$, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día $P= 0,30$; *Tratamiento $P< 0,0001$; Interacción $P= 0,31$).

El número total de espermatozoides normales con movilidad progresiva, fue menor para el G1 ($2277,65 \pm 564,2$) $\times 10^6$ con respecto al G2 ($5730,54 \pm 557,3$) $\times 10^6$; ($P<0,001$). Siendo dicho parámetro para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de ($2453,9 \pm 219,8$) $\times 10^6$ y ($2113,8 \pm 261,5$) $\times 10^6$, respectivamente. Mientras que para el G2 fue de ($6025,1 \pm 407,1$) $\times 10^6$ y ($5417,8 \pm 377,1$) $\times 10^6$, respectivamente. También se observó diferencia en relación al Día ($P= 0,04$), sin embargo no se observó diferencia en la interacción Día Grupo (ver Figura 10).

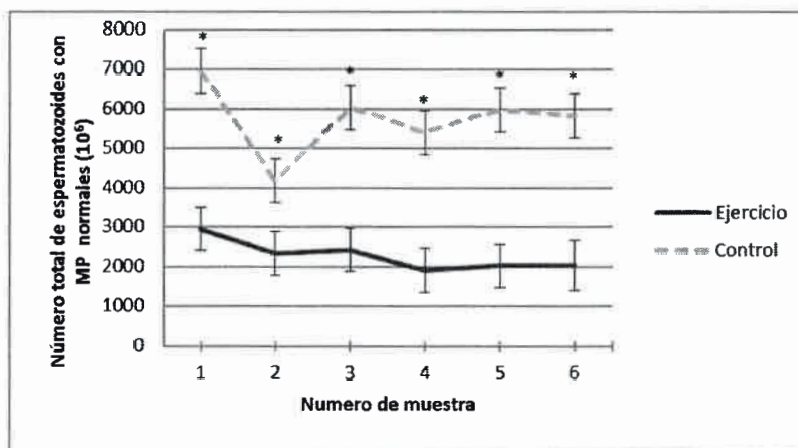


Figura 10. Número total de espermatozoides normales con movilidad progresiva (10^6) para padrillos criollos G1 ($n= 9$, Ejercicio) y G2 ($n= 9$, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día $P= 0,04$; *Tratamiento $P< 0,0001$; Interacción $P= 0,32$).

La supervivencia de semen puro (en horas) fue menor para el G1 ($3,76 \pm 0,29$ hs.) con respecto al G2 ($5,11 \pm 0,29$ hs.; $P<0,001$). No se observó diferencia en el Día, como tampoco en la interacción Día Grupo (ver Figura 11). La supervivencia de semen diluido (en horas) fue menor para el G1 ($8,3 \pm 0,64$ hs.) con respecto al G2 ($12,75 \pm 0,63$ hs., $P<0,001$). Siendo dicho parámetro para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $8,1 \pm 0,3$ hs. y $8,5 \pm 0,3$ hs., respectivamente. Mientras que para el G2 fue de $12,6 \pm 2,6$ hs. y $12,9 \pm$

0,4 hs., respectivamente. No se observó diferencia en el Día, sin embargo se observó diferencia en la interacción Día y Grupo (ver Figura 12, $P=0,001$).

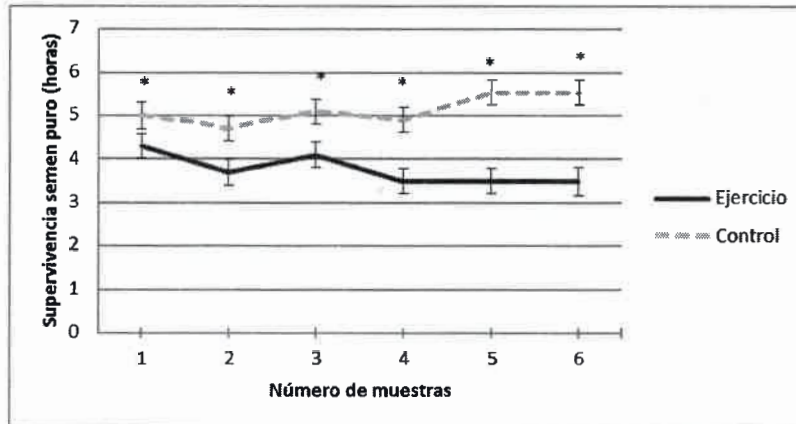


Figura 11. Supervivencia de semen puro (horas) para padrillos criollos G1 ($n=9$, Ejercicio) y G2 ($n=9$, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día $P=0,38$; *Tratamiento $P<0,0001$; Interacción $P=0,14$).

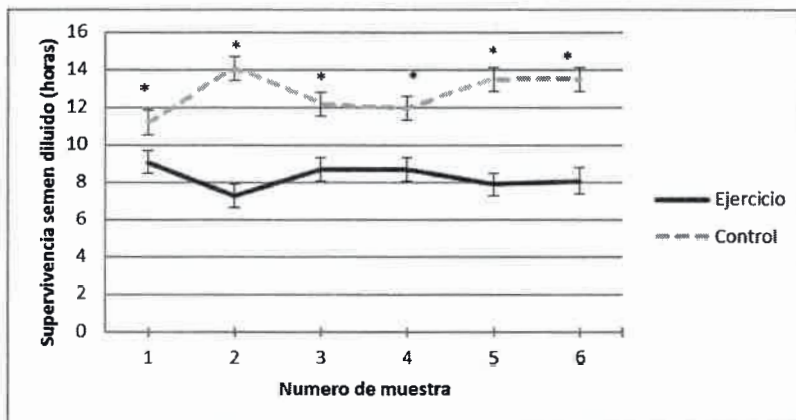


Figura 12. Supervivencia de semen diluido (horas) para padrillos criollos G1 ($n=9$, Ejercicio) y G2 ($n=9$, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día $P=0,90$; Tratamiento $P<0,0001$; *Interacción $P=0,001$).

El daño acrosomal de los espermatozoides fue mayor para el G1 ($2,01 \pm 0,33$ %) con respecto al G2 ($0,31 \pm 0,33$ %; $P<0,0001$). Dicho parámetro fue para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $1,9 \pm 0,2$ % y $2,1 \pm 0,2$ %, respectivamente. Mientras que para el G2 fue de $0,4 \pm 0,1$ % y $0,1 \pm 0,1$ %, respectivamente. No se observó diferencia en Día, como tampoco se observó diferencia en la interacción Día y Grupo (ver Figura 13). El porcentaje de cabezas sueltas fue mayor para el G1 que para el G2 ($P<0,0001$). Siendo dicho parámetro para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $2,1 \pm 0,2$ % y $2,00 \pm 0,3$ %, respectivamente. Mientras que para el G2 fue de $0,8 \pm 0,3$ % y $0,5 \pm 0,1$ %, respectivamente. No hubo diferencia en Día, como tampoco en la interacción Día y Grupo (ver Figura 14). Los defectos de cabeza fueron mayores para el G1 ($2,01 \pm 0,48$ %) que para el G2 ($0,68 \pm 0,48$ %; $P<0,0001$). No se observó efecto en el Día, ni tampoco hubo efecto de interacción entre el Día y Grupo (ver tabla 1, Figura 15).

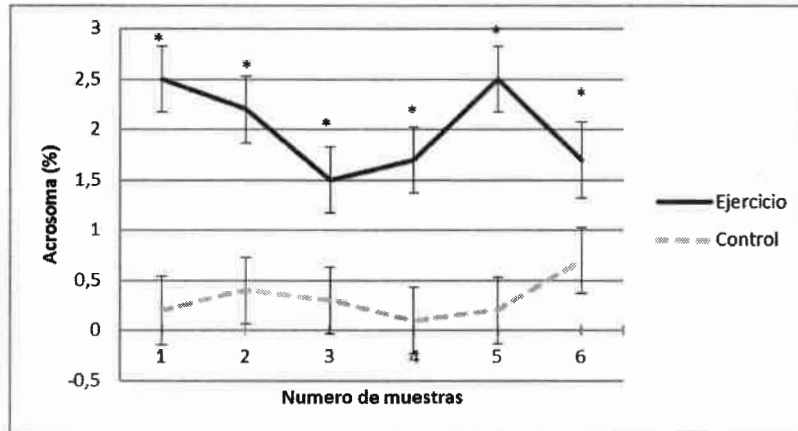


Figura 13. Porcentaje de espermatozoides con daño acrosomal (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,59; *Tratamiento P< 0,0001; Interacción P= 0,27).

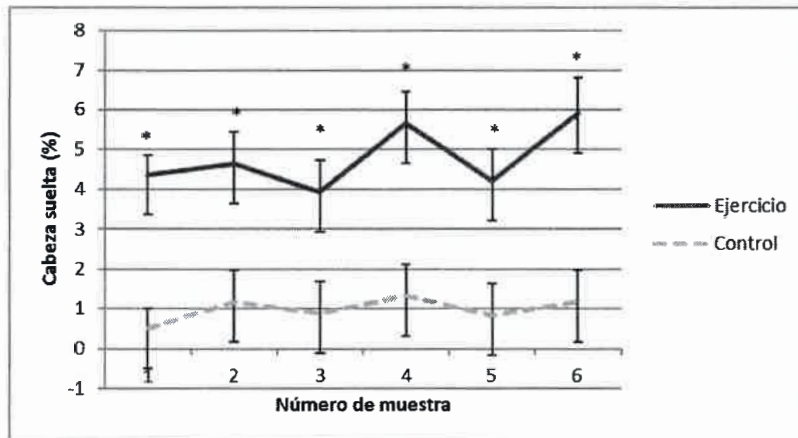


Figura 14. Porcentaje de espermatozoides con cabeza suelta (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,36; *Tratamiento P< 0,0001; Interacción P= 0,84).

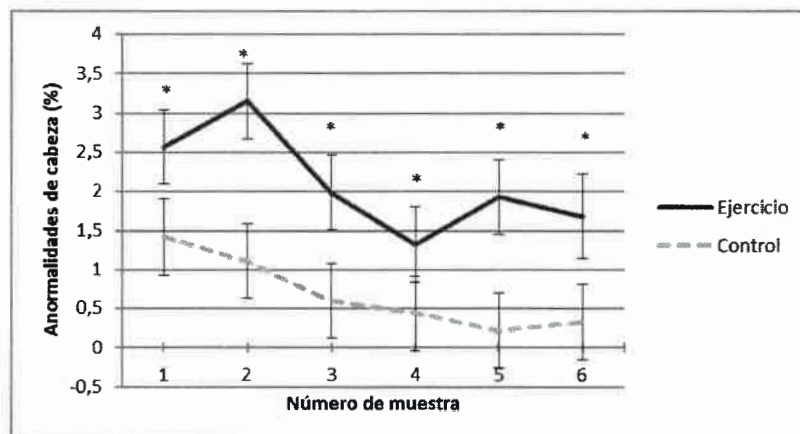


Figura 15. Porcentaje de anomalías de cabeza (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,03; *Tratamiento P< 0,0001; Interacción P= 0,86).

La proporción de gotas citoplasmáticas proximales de los espermatozoides fue mayor para el G1 ($3,89 \pm 0,58$) con respecto al G2 ($2,14 \pm 0,57$; $P < 0,006$). Siendo dicho parámetro para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $3,3 \pm 0,3$ % y $3,4 \pm 0,4$ %, respectivamente. Mientras que para el G2 fue de $2,0 \pm 0,2$ % y $2,2 \pm 0,2$ %, respectivamente. También se observó diferencia en el Día ($P = 0,0008$), pero no hubo efecto entre la interacción Día y Grupo (ver Figura 16). La proporción de gotas citoplasmáticas distales de los espermatozoides fue mayor para el G1 ($3,98 \pm 0,76$) con respecto al G2 ($2,01 \pm 0,76$; $P = 0,005$). Siendo dicho parámetro para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $4,4 \pm 0,6$ % y $3,4 \pm 0,4$ %, respectivamente. Mientras que para el G2 fue de $2,5 \pm 0,3$ % y $1,6 \pm 0,2$ %, respectivamente. No se observó efecto en el Día, pero la interacción Día y Grupo fue significativa (ver Figura 17, $P = 0,008$).

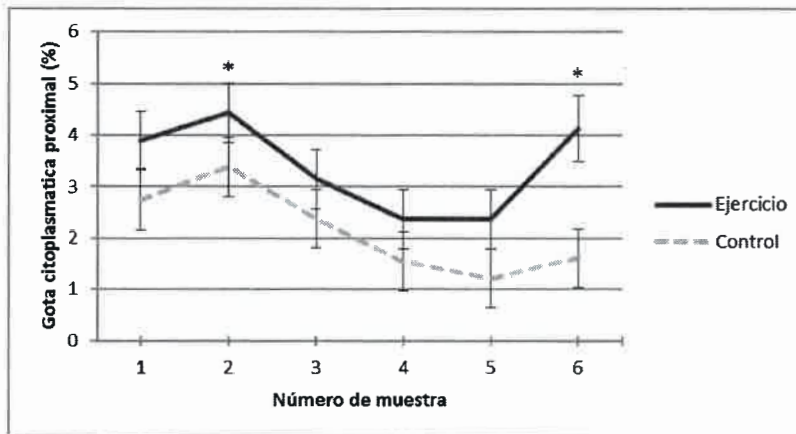


Figura 16. Porcentaje de gota citoplasmática proximal (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día $P = 0,0008$; *Tratamiento $P = 0,006$; Interacción $P = 0,66$).

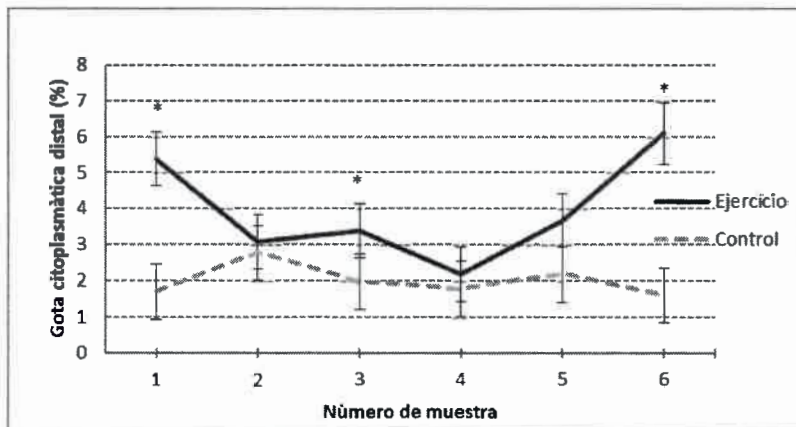


Figura 17. Porcentaje de gota citoplasmática distal (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día $P = 0,11$; Tratamiento $P = 0,005$; *Interacción $P = 0,008$).

Con respecto al porcentaje de anomalías de cuello de los espermatozoides no se observó efecto en el Día, Grupo eyaculado, interacción Día y entrenamiento, día y eya-

culado, Grupo por eyaculado, ni tampoco entre día, Grupo y eyaculado (ver Tabla 1). El porcentaje de pieza intermedia de los espermatozoides fue mayor para el G1 ($0,86 \pm 0,28$) con respecto al G2 ($0,23 \pm 0,28$; $P = 0,0009$). No se observaron diferencias significativas en Día, mientras si hubo diferencia en la interacción Día y Grupo ($P = 0,01$; ver Figura 18).

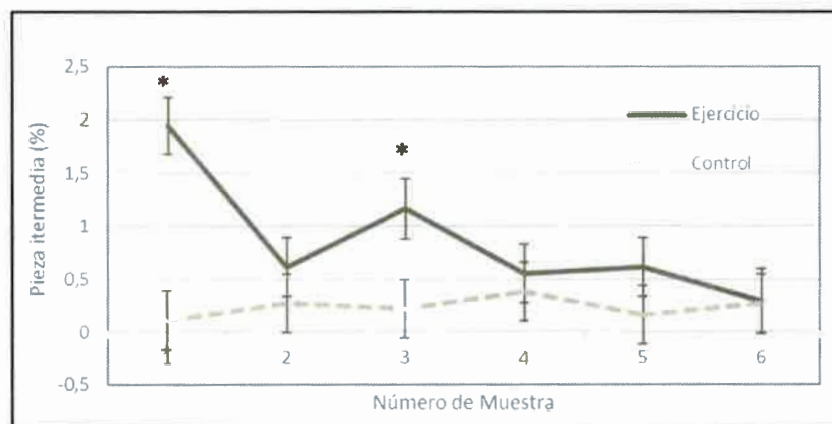


Figura 18. Porcentaje de pieza intermedia (%) para padrillos criollos G1 ($n = 9$, Ejercicio) y G2 ($n = 9$, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día $P = 0,10$; Tratamiento, $*P = 0,0009$; Interacción $P = 0,01$).

La proporción de colas enrolladas de los espermatozoides fue mayor para el G1 ($5,38 \pm 1,01$) con respecto al G2 ($1,55 \pm 1,00$; $P = 0,0003$). Siendo dicho parámetro para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $5,9 \pm 0,3$ % y $5,7 \pm 0,7$ %, respectivamente. Mientras que para el G2 fue de $1,9 \pm 0,3$ % y $1,2 \pm 0,2$ %, respectivamente. También se observó una tendencia del Día ($P = 0,06$) al igual que la interacción Día y Grupo (ver Figura 18, $P = 0,07$). La proporción de colas en ansa de los espermatozoides fue menor para el G1 ($5,55 \pm 1,08$) con respecto al G2 ($7,78 \pm 1,07$; $P = 0,004$). Dicho parámetro fue para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $5,0 \pm 0,6$ % y $6,3 \pm 0,6$ %, respectivamente. Mientras que para el G2 fue de $7,3 \pm 0,6$ % y $8,2 \pm 0,5$ %, respectivamente. No se observaron diferencias significativas en Día, como tampoco en la interacción Día y Grupo (ver Figura 19). La proporción de colas en ansa con gota de los espermatozoides fue mayor para el G1 ($2,61 \pm 1,01$) con respecto al G2 ($1,5 \pm 1,00$; $P = 0,003$). Siendo dicho parámetro para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $2,4 \pm 0,3$ % y $2,9 \pm 0,3$ %, respectivamente. Mientras que para el G2 fue de $1,8 \pm 0,2$ % y $1,2 \pm 0,2$ %, respectivamente. No se observó diferencia en Día, ni tampoco en la interacción Día y Grupo (ver Figura 20). El porcentaje de colas quebradas de los espermatozoides fue mayor para el G1 ($8,65 \pm 0,97$) con respecto al G2 ($5,81 \pm 0,96$; $P = 0,001$). Dicho parámetro fue para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $9,1 \pm 0,6$ % y $8,1 \pm 0,6$ %, respectivamente. Mientras que para el G2 fue de $5,9 \pm 0,5$ % y $5,8 \pm 0,4$ %, respectivamente. También se observó diferencia en el Día ($P = 0,02$), pero no en la interacción Día y Grupo (ver Figura 21).

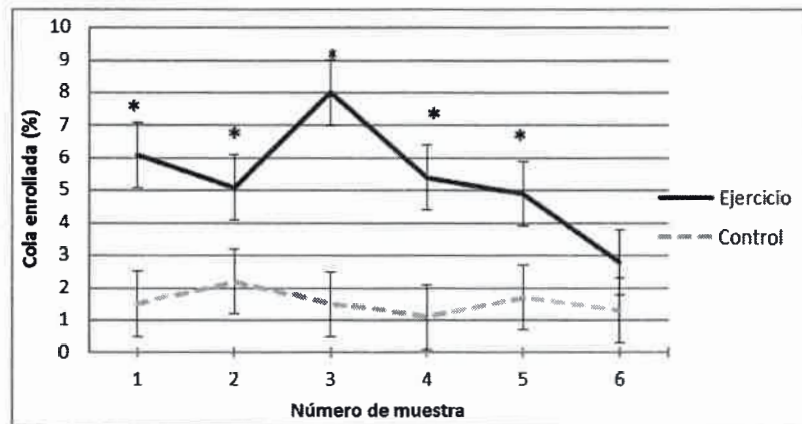


Figura 19. Porcentaje de cola enrollada (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,06; Tratamiento P= 0,003; *Interacción P= 0,07).

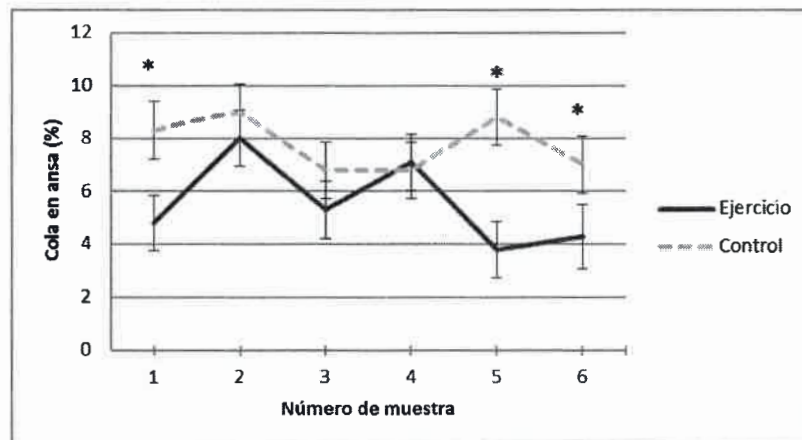


Figura 20. Porcentaje de cola en ansa (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,12; *Tratamiento P= 0,004; Interacción P= 0,15).

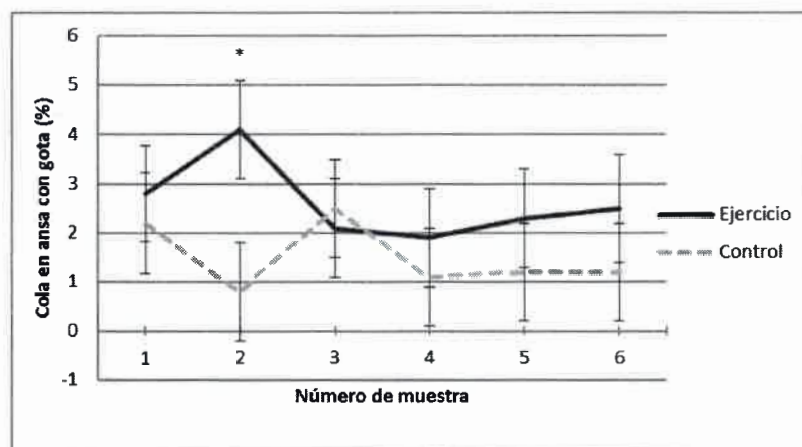


Figura 21. Porcentaje de cola en ansa con gota (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,29; Tratamiento P= 0,003; *Interacción P= 0,02).

En el porcentaje de células germinales no hubo efecto Grupo, como tampoco hubo efecto para el día, eyaculado, interacción día y entrenamiento, día y eyaculado, Grupo por eyaculado, ni tampoco entre día, Grupo y eyaculado (Tabla 1).

El porcentaje de condensación de cromatina fue menor para el G1 ($94,81 \pm 0,53$) con respecto al G2 ($98,31 \pm 0,53$; $P= 0,0015$). Siendo dicho parámetro para el G1, en el eyaculado 1 y 2 de $94,6 \pm 0,3 \%$ y $94,4 \pm 0,3 \%$, respectivamente. Mientras que para el G2 fue de $98,2 \pm 0,2 \%$ y $98,5 \pm 0,2 \%$, respectivamente. También se observó diferencia en Día ($P= 0,02$), sin embargo no hubo diferencia en la interacción Día y Grupo (ver Figura 22).

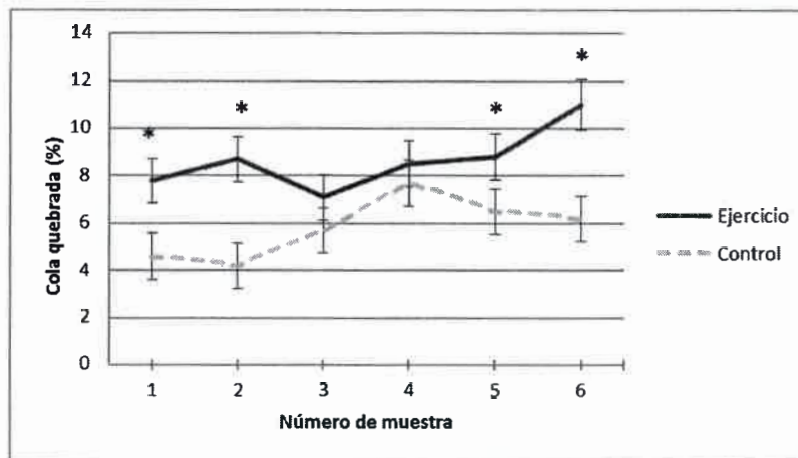


Figura 22. Porcentaje de cola quebrada (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día $P= 0,02$; *Tratamiento $P= 0,001$; Interacción $P= 0,12$).

En el número de monta previas al eyaculado no hubo un efecto Grupo, ni tampoco para el día, eyaculado, interacción día y entrenamiento, día y eyaculado, Grupo por eyaculado, ni tampoco entre día, Grupo y eyaculado (Tabla 1).

Las medidas testiculares para el testículo izquierdo fueron las siguientes: el ancho fue para el G1 de $5,0 \text{ cm} \pm 0,28$, mientras que para el G2 fue de $4,9 \text{ cm} \pm 0,36$; el largo fue para el G1 de $9,18 \text{ cm} \pm 0,73$, mientras que para el G2 fue de $9,45 \text{ cm} \pm 1,05$; y el alto fue para el G1 de $5,41 \text{ cm} \pm 0,53$, mientras que para el G2 fue de $5,2 \text{ cm} \pm 0,37$. Las medidas testiculares para el testículo derecho fueron las siguientes: el ancho para el G1 fue de $5,0 \text{ cm} \pm 0,36$, mientras que para el G2 fue de $4,9 \text{ cm} \pm 0,41$; el largo para el G1 fue de $9,2 \text{ cm} \pm 0,59$, mientras que para el G2 fue de $9,45 \text{ cm} \pm 1,07$; y el alto para el G1 fue de $5,47 \text{ cm} \pm 0,54$, mientras que para el G2 fue de $4,98 \text{ cm} \pm 0,45$ (Figura 23).

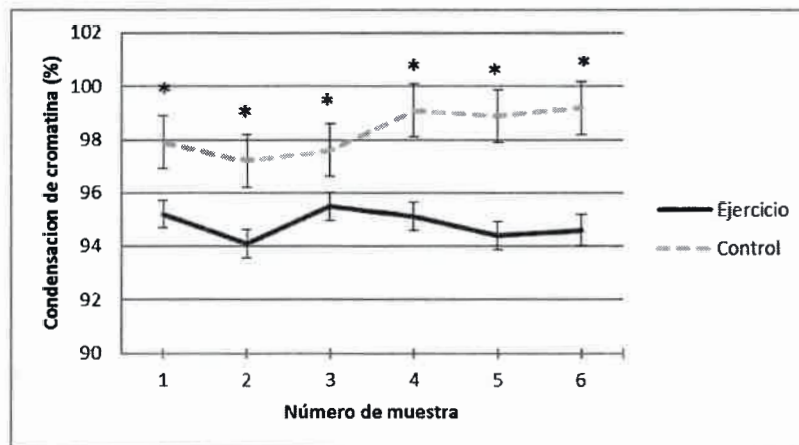


Figura 23. Porcentaje de condensación de cromatina (%) para padrillos criollos G1 (n= 9, Ejercicio) y G2 (n= 9, Control) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (Día P= 0,03; Tratamiento P< 0,0001; *Interacción P= 0,05).

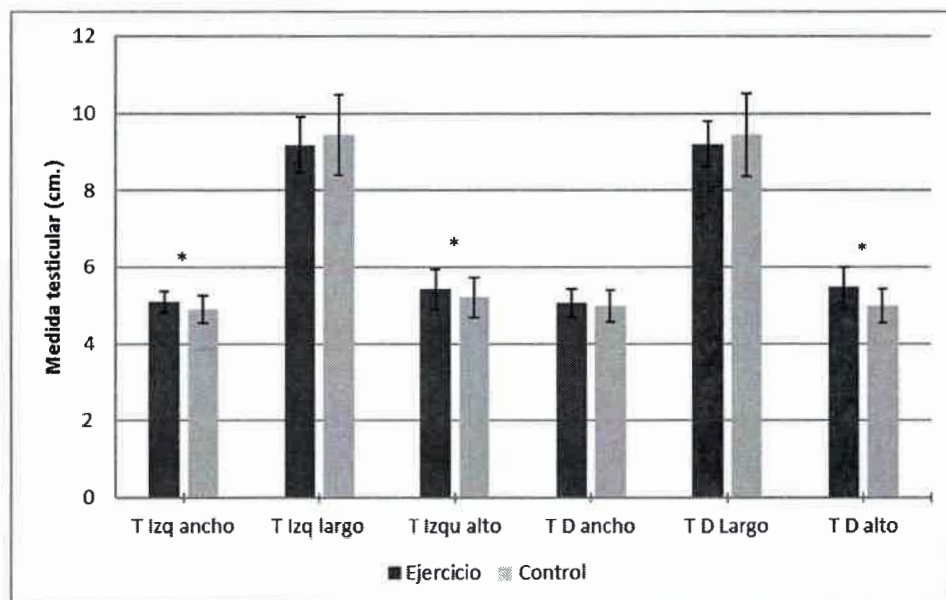


Figura 24. Medidas testiculares para padrillos criollos G1 (n= 9) y G2 (n= 9) muestreados 6 veces: 1 vez cada 15 días durante 3 meses. (*Testículo Izquierdo ancho P= 0,0001; Testículo Izquierdo largo P= 0,05; *Testículo Izquierdo alto P= 0,002; Testículo derecho ancho P= 0,22; Testículo derecho largo P= 0,05, *Testículo derecho alto P< 0,0001).

Tabla 1. Parámetros seminales en padrillos de raza Criolla, para G1 (n=9) y para G2 (n=9), muestreados cada 15 días durante los meses de agosto, septiembre y octubre.

Parámetros seminales	Grupo				Valor P		
	G1		G2		D	G	I
	Eyaculado 1	Eyaculado 2	Eyaculado 1	Eyaculado 2			
Volumen (ml)	44,7 ± 3,0	40,1 ± 3,2	66,3 ± 4,3	64,4 ± 1,3	0,07	<0,0001	0,0003
Gel (ml)	13,7 ± 2,4	8,4 ± 1,5	8,6 ± 1,8	6,6 ± 2,3	0,61	0,19	0,0003
pH	7,2 ± 0,0	7,1 ± 0,1	7,2 ± 0,0	7,1 ± 0,1	0,19	0,90	0,94
MP semen puro (%)	47,3 ± 2,0	50,1 ± 1,8	62,4 ± 1,0	64,8 ± 0,9	0,09	<0,0001	<0,0001
MP semen diluido (%)	48,3 ± 2,0	52,0 ± 1,7	63,9 ± 1,0	66,6 ± 0,8	0,001	<0,0001	<0,0001
Vigor semen puro (1-3)	2,2 ± 0,0	2,3 ± 0,0	2,6 ± 0,0	2,7 ± 0,0	0,11	0,0007	0,20
Vigor semen diluido (1-3)	2,5 ± 0,0	2,7 ± 0,0	2,8 ± 0,0	2,9 ± 0,0	0,52	0,001	0,04
C. E. (106/ ml)	259,8 ± 17,9	186,9 ± 12,5	239,8 ± 21,2	181,0 ± 11,4	0,53	0,70	0,07
Nº total de espermatozoide (106)	9521,9±617,3	6692,3 ± 646,5	13009,0±826,9	11178,6±762,4	0,15	0,0001	0,11
N.T.E. con MP (106)	4193,0 ± 361,0	3469,7 ± 419,2	8945,9±969,1	7080,0 ± 519,6	0,30	<0,0001	0,31
N.T.E. normales MP (106)	2453,9 ± 219,8	2113,8 ± 261,5	6025,1 ± 407,1	5417,8 ± 377,1	0,04	<0,0001	0,32
S. semen puro hs.	3,8 ± 0,2	3,8 ± 0,1	5,1 ± 0,1	5,1 ± 0,1	0,38	<0,0001	0,14
S. semen diluido hs.	8,1 ± 0,3	8,5 ± 0,3	12,6 ± 2,6	12,9 ± 0,4	0,90	<0,0001	0,001
Espermatozoides normales (%)	58,8 ± 1,3	60,5 ± 1,1	75,7 ± 2,6	77,8 ± 0,5	<0,0001	<0,0001	0,003
Acrosoma (%)	1,9 ± 0,2	2,1 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,1±0,1	0,59	<0,0001	0,27
Cabeza (%)	2,1 ± 0,2	2,0 ± 0,3	0,8 ± 0,3	0,5 ± 0,1	0,03	<0,0001	0,86
Cabeza suelta (%)	5,6 ± 0,7	3,9 ± 0,4	1,2 ± 0,7	0,7 ± 0,1	0,36	<0,0001	0,84
Gota Proximal (%)	3,3 ± 0,3	3,4 ± 0,4	2,0 ± 0,2	2,2 ± 0,2	0,0008	0,006	0,66
Gota Distal (%)	4,4 ± 0,6	3,4 ± 0,4	2,5 ± 0,3	1,6 ± 0,2	0,11	0,005	0,008
Cuello (%)	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,67	0,98	0,99
Pieza Intermedia (%)	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,10	0,0009	0,01
Cola enrollada	5,9 ± 0,3	5,7 ± 0,7	1,9 ± 0,3	1,2 ± 0,2	0,06	0,0003	0,07
Cola en ansa	5,0 ± 0,6	6,3 ± 0,6	7,3 ± 0,6	8,2 ± 0,5	0,12	0,004	0,15
Cola en ansa con gota (%)	2,4 ± 0,3	2,9 ± 0,3	1,8 ± 0,2	1,2 ± 0,2	0,29	0,003	0,02
Cola quebrada (%)	9,1 ± 0,6	8,1 ± 0,6	5,9 ± 0,5	5,8 ± 0,4	0,02	0,001	0,12
Células germinales (%)	0,5 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1± 0,1	0,31	0,01	0,05
C. de Cromatina (negativo)	94,6 ± 0,3	94,9 ± 0,3	98,2 ± 0,2	98,5 ± 0,2	0,03	<0,0001	0,05
Nº de montas	1,1 ± 0,0	1,1 ± 0,0	1,1 ± 0,0	1,0 ± 0,0	0,99	0,98	0,99

MP semen puro %: Porcentaje de la Movilidad Progresiva del semen puro.

MP semen diluido %: Porcentaje de la Movilidad Progresiva del semen diluido.

C.E.: Concentración Espermática (10⁶/ ml).

N.T.E. con MP (10⁶): número total de espermatozoides con movilidad progresiva.

N.T.E. normales MP (10⁶): número total de espermatozoides normales con movilidad progresiva.

S. semen puro: Supervivencia espermática de semen puro a 22° C hasta 10% movilidad en hs.

S. semen diluido: Supervivencia espermática de semen diluido a 22° C hasta 10% movilidad en hs.

D: día, G: grupo, I: interacción.

VII. DISCUSIÓN

El objetivo principal del presente estudio fue comparar la calidad seminal mediante la evaluación de la movilidad progresiva, número total de espermatozoides normales y tipo de anomalías espermáticas entre padrillos de raza Criolla con y sin entrenamiento intensivo de competición. Los resultados evidencian que hubo diferencias significativas entre grupos, demostrando que el entrenamiento redujo la calidad seminal afectando diversos parámetros.

Estos cambios podrían deberse a diferentes suposiciones como el aumento de la temperatura corporal. Es sabido que como resultante de una lesión testicular, por ejemplo una inflamación del escroto o epidídimo puede causar el aumento de la temperatura testicular, alterando el cuadro seminal y como consecuencia producir la degeneración testicular (Friedman *et al.*, 1991). El aumento de la temperatura ambiente puede afectar la espermatogénesis y esto ha sido bien documentado en toros (Casady *et al.*, 1953; Austin *et al.*, 1961; Gerona y Sikes, 1970; Ross y Entwistle, 1979), carneros (Glover, 1955; Moule y Waites, 1963; Waites y Setchell, 1964; Braden y Mattner, 1970), conejos (Zogg *et al.*, 1968; Ploen, 1972, 1973). Friedman *et al.* (1991), realizó una experiencia muy interesante en padrillos en la cual utilizando un apósito de lana y algodón cubriendo el escroto, por 24 horas y 48 horas en 2 grupos experimentales, comprobó que se elevó la temperatura testicular y que esta fue la causante de un cambio severo en el cuadro seminal.

Los padrillos en competición son sometidos a regímenes de ejercicio para mantener una aptitud física que los haga altamente competitivos en sus respectivas disciplinas. En el presente estudio pudimos observar que la temperatura rectal luego de un período de 30 minutos de ejercicio fue de $39,6^{\circ}\text{C} \pm 2,83$ aumentando más de 2°C , en tanto que la frecuencia cardíaca aumentó a $79 \pm 1,37$ latidos por minuto. Estos resultados son similares a los publicados por Mawyer *et al.* (2012), mientras que otras investigaciones han demostrado que el ejercicio excesivo puede provocar temperaturas corporales centrales aún mayores acercándose a $41,1^{\circ}\text{C}$ (Webb *et al.*, 1987; Scott, 1992; Kohn *et al.*, 1999).

Los equinos tienen un 50 % menos de área de superficie de la piel por unidad de masa corporal que los seres humanos, lo que limita la cantidad de pérdida de calor de la piel para el medio ambiente a través de la convección, radiación y evaporación del sudor (Geor *et al.*, 1995, Lindinger de 1999). La disipación de calor se reduce aún más cuando la temperatura ambiente alcanza 36°C debido a la pérdida de calor cutánea, por radiación y convección (Geor *et al.*, 1995). En el presente estudio la temperatura ambiental no la consideramos como una posible causa de las diferencias encontradas entre grupos, ya que ambos grupos fueron muestreados simultáneamente, en la época

de invierno - primavera donde la temperatura y humedad ambiente promedio fueron de 13,78°C y 47,43 %, respectivamente.

El presente estudio sugiere que el entrenamiento afectó una serie de parámetros seminales tales como: el volumen del eyaculado libre de gel, el cual fue menor en el G1, siendo estos resultados similares a los estudios en semen humano de Eskiocak *et al.* (2006). El efecto que se observó a lo largo de este estudio sobre la movilidad progresiva de los espermatozoides para el G2 fue de un aumento progresivo, mientras que en el G1 la misma fue disminuyendo. Esto concuerda con el estudio de Blanchard *et al.* (1996), en el que se describe que el aumento de la temperatura escrotal afecta la movilidad espermática, y nuestro estudio difiere con el trabajo publicado por Janett *et al.* (2006), en que se observó que la movilidad progresiva de los espermatozoides en animales en entrenamiento fue mayor en semen fresco pero fue menor al evaluar el semen congelado. Aunque en este último trabajo, el entrenamiento consistió en trabajo en cinta con diferente graduación (leve, moderada y severa), comprobándose que la disminución de la movilidad se encontró en los animales que ejercitaban con trabajo de cinta severo.

La concentración espermática por ml no tuvo variaciones en el tiempo, pero el número de espermatozoides totales fue significativamente menor para el G1 al igual que el número de espermatozoides normales con movilidad progresiva. Dicho efecto se reflejó en un aumento de los porcentajes de células espermáticas anormales, menor movilidad y viabilidad espermática, lo cual resulta en un menor número total de espermatozoides normales con movilidad progresiva en el eyaculado.

Estudios realizados por Dinger *et al.* (1986) y Mawyer *et al.* (2012), reportaron que pequeños períodos de ejercicio no tienen efectos adversos sobre la calidad seminal, sin embargo nuestro estudio donde los padrillos efectuaban entrenamiento intensivo de competición (1 hora diaria, 6 días a la semana), reveló que existen diferencias entre Grupos desde la primera muestra analizada (los padrillos utilizados en este estudio por un período de 90 días, habían comenzado a entrenar 30 días previos a la toma de la primera muestra). Los resultados del presente estudio concuerdan con los estudios realizados por Janett *et al.* (2006), donde se demostró que periodos prolongados de ejercicio tienen efectos adversos especialmente sobre la morfología espermática y particularmente en el acrosoma, al igual que Mieusset *et al.* (1992). Este estudio reveló mayores cantidades de células con anomalías del acrosoma en el G1 que en los padrillos del G2, pero esta diferencia fue disminuyendo hacia el final del estudio. Resultados similares fueron observados por Janet *et al.* (2006) y Rosenberg *et al.* (2013), atribuyéndolo a un acostumbramiento del equino a la rutina del entrenamiento.

Las anomalías de la morfología espermática estuvieron dentro de los rangos normales aceptados en la especie equina, aunque hubo una diferencia significativa—in-

crementándose en el GI, presentando un mayor porcentaje de gotas citoplasmáticas proximales, lo cual coincide con el estudio realizado por Samper (2000) y Ogbuewu *et al.* (2010).

A los 18 padrillos que fueron utilizados para este estudio, todos de fertilidad probada a campo, nunca se les había extraído semen por medio del método de la vagina artificial, en ningún caso se observó que hubiera un comportamiento de disconformidad durante las maniobras realizadas. No se observó tampoco conducta de agresividad ni desinterés por la yegua en celo.

VIII. CONCLUSIÓN

En el presente trabajo, se ha comparado la calidad seminal de padrillos de raza Criolla en entrenamiento intensivo de competición y sin entrenamiento a través de espermogramas repetidos cada 15 días por un periodo de 3 meses. De los resultados obtenidos se observó que hubo diferencias significativas entre grupos en cuanto a la calidad seminal encontrada principalmente en los parámetros como: el número total de espermatozoides normales con movilidad progresiva, y la viabilidad espermática. Este estudio demuestra que el entrenamiento intensivo de competición en padrillos de raza Criolla disminuye la calidad seminal

Luego de todo lo expuesto se concluye que, en este trabajo, el entrenamiento de competición disminuyó la calidad seminal. Consideramos que éste aspecto, debe ser considerado al momento de evaluar la calidad de un eyaculado, que será posteriormente procesado en caso de inseminación artificial y/o criopreservación.

IX. PROYECCIONES

Se debería seguir investigando sobre este tema, sería de mucho interés tener resultados de mediciones de niveles hormonales para conocer si los mismos son afectados por el ejercicio y poder concluir sobre el mismo.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Alexander S.L., Irvine C.H.G., (1998). The effect of social stress on adrenal axis activity in horses: the importance of monitoring corticosteroid-binding globulin capacity. *J Endocrinol.* 157(3):425-32.
- Amann R.P. Physiology and endocrinology, In: Mc Kinnon, Squires, Vaala, (2011). *Equine Reproduction*, 2nd Edition. Blackwell Publishing Ltd. United Kindom. 881-908.
- Aurich C., Aurich J.E., (2008). Effects of stress on reproductive functions in the horse. *Pferdeheilkunde* 24: 99-102.
- Austin, J.W., Hupp, E.W., Murphree, R.L., (1961) Effect of scrotal insulation on semen of Hereford bulls. *J. Anim. Sci.* 20:307-310.
- Baker H.W.G., Baker I.D.C., Epstein V.M. and Hudson B., (1982). Effects of stress on steroid hormone levels in racehorses. *Austr. Vet. J.* 58: 70-71.-
- Baumber Skaife J. Evaluation of semen, (2011) In: *Equine Reproduction 2nd Edition*, (Mc Kinnon, Squires, Vaala). Blackwell Publishing Ltd. United Kindom. 1278-1291.
- Blanchard M.L., Brinsko S.P., Varner D.D., Hurtgen J.P (2001). Evaluation of Testicular Size and Function in 1-3-year-old stallions. *Proceedings of the Annual Convention of the American Association for Equine Practitioners* 47: 232-35.
- Blanchard T.L., Varner D., Johnson L., Roser J., Hill J., Miller C., (1998). Testicular and hormonal changes occurring in stallions with thermally-induced testicular degeneration. *Symposium on Equine Reproduction, South Africa*, 13-14.
- Blanchard T.L., Jorgensen J.B., Varner D.D., Forrest D.W., Evans J.W., (1996). Clinical observations on changes in concentrations of hormones in plasma of two stallions with thermally-induced testicular degeneration. *J. Equine Vet. Sci.* 16:195-201.
- Braden A.W.H., Mattner P.E., (1970). The effects of scrotal heating in the ram on semen characteristics, fecundity and embryonic mortality. *Aust. J.Agric. Res.* 21, 509-518.
- Brinsko S.P., Blanchard T.L., Varner D.D., Shumacher J., Love C.C., Hinrichs K., Hartman D. Examination of the Stallion for Breeding Soundness, (2011). In: *Manual of Equine Reproduction Third Edition*, Mos by Elsevier Inc. Copyright, 176-206
- Carretero M.I., Giuliano S.M., Casaretto C.I., Gambarotta M.C., Nield D.M., (2009). Evaluación del ADN espermático de llamas utilizando azul de toluidina. *InVet*, 11(1); 55-63
- Casady R.B., Miers R.M., Legates J.E., (1953). The Effect of Exposure to High Ambient Temperature on Spermatogenesis in the Dairy Bull. *Journal of Dairy Science* 36(1):14-23.
- Cayado P., Muñoz-Escassi B., Domínguez C., Manley W., Olabbari B., Sánchez De La Muela M., Castejon F., Marañón G., Vara E., (2006). Hormone response to training and competition in athletic horses. *Equine Vet. J. Suppl.* (36): 274-278.
- Chernier T.S.. Anatomy and Physical Examination of the Stallion. In: *Equine Breeding Management and Artificial Insemination*, (Samper); W.B. Saunders Company, USA. 1-25.
- Deichsel K., Pasing S., Erber R., Ille N., Palme R., Aurich J., Aurich C., (2015). Increased cortisol release and transport stress do not influence semen quality and testosterone release in pony stallions. *Theriogenology* 84: 70-75.

- Dinger J.E., Nolles E.E., Hoagland T.A., (1986). Effect of controlled exercise on semen characteristics in two-year-old stallions. *Theriogenology* 25: 525-535.
- Eskiocak S., Gozen A.S., Taskiran A., Kilic A.S., Eskiocak M., Gulen S., (2006). Effect of psychological stress on the L-arginine nitric oxide pathway and semen quality. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 39: 581-588.
- Fazio E., Medica P., Cravana C., Ferlazzo A., (2013). Cortisol response to road transport stress in calm and nervous stallions. *Journal of Veterinary Behaviour* 8: 231-237.
- Friedman R., Scott M., Heath S.E., Hughes J.P., Daels P.F., Tran T.Q., (1991). The effects of increase testicular temperature on spermatogenesis in the stallion. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 44, 127-134.
- Gerona G.R., Sikes J.D., (1970). Effect of elevated scrotum temperature on spermatogenesis and semen characteristics. *J. Dairy Sci.* 53, 659.
- Glover T.D., (1955). The effect of a short period of scrotal insulation on the semen of the ram. *J. Physiol.* 128, 22.
- Gollemberg A. L., Liu F., Brazil C., Drobnis E.Z., Guzick D., Overstreet J.W., Redmon J.B., Sparks A., Wang C., Swan S.H., (2010). Semen quality in fertile men in relation to psychosocial stress. *Fertility and Sterility*. Vol. 93, N° 4:1104-1111.
- Gordon R.K., Mawyer J.D., Cavinder C.A., Sigler D.H., Blanchard L, Love C.C., Brinsko S.P., Varner D.D., Arnold C. E., Teague S., Vogelsang M.M., (2014). Effects of moderate exercise on semen parameters and serum LH and cortisol concentrations in stallions. *Journal of Veterinary Science* 34: 65.
- Hermenet M.J., Sawyer H.R., Pickett B.W., Amann R.P., Squires E.L., Long P.L., (1993). Effect of stain, technician, number of spermatozoa evaluated and slide preparation on assessment of spermatozoal viability by light microscopy. *Journal of Equine Veterinary Science*. Vol. 13, N° 8:449-455.
- Irvine C.H.G., Alexander S.L., (1991). Effect of sexual arousal on gonadotrophin-releasing hormone, luteinizing hormone and follicle stimulation hormone secretion in the stallion. *J Reprod Fertil* 44 (Suppl.): 135-43.
- Janett F., Burkhardt C., Burger B., Imboden I., Hässig M., Thun R., (2006). Influence of repeated treadmill exercise on quality and freezability of stallion semen. *Theriogenology* 65: 1737-1749.
- Janicki B., Kochowics A., Buzala M., (2013). Variability of Select Biochemical Parameters in Young Stallions During the 100-day Performance Test. *Journal of Equine Veterinary Science* 33: 1136-1141.
- Juhász J., Nagy P., Kulcsár M., Huszenicza Gy., (2002). Methods for semen and Endocrinological Evaluation of the Stallion: A Review. *Acta Vet. Brn.* 26:247-259.
- Kenney, R. M., J. P. Hurtgen, and R. Pierson. 1983. *Theriogenology and the equine part II, the stallion. Theriogenology.* 9: 88-90.
- Kohn C.W., Hinchcliff K.W., McKeever K.H., (1999). Effect of ambient temperature and humidity on pulmonary artery temperature of exercising horses. *Equine Vet. J. Suppl.* 30:404-411.
- Lange J., Matheja S., Klug E., Aurich C., Aurich J., (2007). Influence of Training and Competition on the Endocrine Regulation of Testicular Function and on Semen Parameters in Stallions. *Reproduction in Domestic Animals* 32(6):297 - 302.
- Love C., (2012). Measurement of Concentration and Viability in Stallion Sperm. *Journal of Equine Veterinary Science* 32: 464-466.

- Magistrini M.,(2000). "Semen Evaluation". In: Equine Breeding Management and Artificial Insemination, (Samper), W.B. Saunders Company, USA. 91-108
- Mawyer J.D., Cavinder C.A., Vogelsang M.M., Sigler D.H., Love C.C., Brinsko S.P., Blanchard L., Varner D.D., Arnold C.E., Teague S., Gordon R.K., (2012). Thermoregulation of the testicle response to exercise and subsequent effects on semen characteristics of stallions. *Journal of Animal Science* 90:2450-2464.
- Mieusset R., Quintana Casares P., Sanchez Partida L.G. , Sowerbutts S.F., Zupp J.L., y Setchell B.P. (1992) . Effects of heating the testes and epididymides of rams by scrotal insulation on fertility and embryonic mortality in ewes inseminated with frozen semen. *Journals of Reproduction & Fertility* 94: 337-343.
- Moule, G.R. y Waites, G.M.H., (1963). Seminal degeneration in the ram and its relation to the temperature of the scrotum. *J. Reprod. Fert. Suppl.*32,9-13
- Nogueira G.P., y Barnabe R.C., (1997). Is the Thoroughbred race-horse under chronic stress? *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 30: 1237-1239.
- Ogbuewu I.P., Aladi N.O., Etuk J.F., Opara M.N., Uchegbu M.C., Okoli L.C., Iloeje M.U., (2010). Relevance of oxygen free radicals and antioxidants in sperm production and function. *J. Vet. Sci.* Vol.3, N° 3, p.138-164.
- Ploen, L. (1972). An electron microscope study of the immediate effects on spermatogenesis of a short-time experimental cryptorchidism in the rabbit. *Virchows Arch. Abt. B. Zellpath* 14, 159-184.
- Ploen, L. (1973). An electron microscope study of the delayed effects on rabbit spermateliosis following experimental cryptorchidism for twenty-four hours. *Virchows Arch. Abt. B. Zellpath.* 10, 293-309.
- Rabb M.H., Thompson D.L. Jr, Barry B.E., Colborn D.R., Garza F. Jr., Hehnke K.E., (1989). Effects of sexual stimulation, with and without ejaculation, on serum concentrations of LH, FSH, testosterone, cortisol and prolactin in stallions. *J Anim Sci.*; 67(10):2724-9.
- Rao Veeramachaneni D.N., Spermatozoa morphology, In: Mc Kinnon, Squires,Vaala, (2011). *Equine Reproduction*, 2nd Edition. Blackwell Publishing Ltd. United Kingdom. 1297-1307.
- Registros Genealógicos de la SRA, 2013. Sitio web: www.sra.org.ar
- Rivier C., Rivest S., (1991). Effect of Stress on the Activity of the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis: Peripheral and Central Mechanisms. *Biology of Reproduction* 45, 523-532.
- Ross, A.D., Entwistle, K.W., (1979). The effect of scrotal insulation on spermatozoal morphology and the rates of spermatogenesis and epididymal passage of spermatozoa in the bull. *Theriogenology* 11, 111-129.
- Rosenberg J.L., Cavinder C.A., Love C.C., Teague S.R., Sigler D.H., Varner D.D., Blanchard T.L., Vogelsang M.M. (2013). Effects of strenuous exercise on stallion sperm quality. *The Professional Animal Scientist* 29:482-489.
- Sairanen J., Katila T., Virtala A.M., Ojala M., (2011). Effects of racing on equine fertility. *Animal Reproduction Science* 124: 73-84.
- Samper J.C., (2000). "Artificial Insemination" In: *Equine Breeding Management and Artificial Insemination*, (Samper); W.B. Saunders Company, USA. 109-131.
- Scott, B. D. (1992). Efficacy of a fat-supplemented diet to maintain muscle glycogen stores and reduce thermal stress in exercising Thoroughbred horses. Ph.D. Diss. Texas A&M Univ., College Station.

- Shanahan S., (2003). Trailer Loading Stress In Horses: Behavioral and Physiological Effects of Non aversive Training (TTEAM) *Journal of Applied Animal Welfare Science* 6(4):263-74.
- Staempfli S., Janett F., Burger B., Kündig H., Imboden I., Hässig M., Thun R., (2006). Effect of exercise and suspensory on scrotal surface temperature in the stallion. *Theriogenology* 66: 2120-2126.
- Tilbrook A.J, Turner A.I., Clarke I.J., (2000). Effects of stress on reproduction in non-rodent mammals: the role of glucocorticoids and sex differences. *Journals of Reproduction and Fertility* 5, 105–113.
- Turner A.I., Canny B.J., Hobbs R.J., Bond J.D., Clarke I.J., and Tilbrook A.J., (2002). Influence of sex and gonadal status of sheep on cortisol secretion in response to ACTH and on cortisol and LH secretion in response to stress: importance of different stressors. *J. Endocrinol* 173: 113-22.
- Waites G.M.H, Setchell B.P., (1964). Effect of local heating on blood flow and metabolism in the testis of the conscious ram. *J. Reprod Fertil.* 1964 Dec; 8:339-49
- Webb, S.P., Potter G.D., Evans J.W., Schwab C.A., y Scott B.D., (1987). In: Physiological responses of cutting horses to exercise testing and to training. *Proc. 10th Equine Nutr. Phys. Symp., Ft. Collins, CO. Equine Sci. Soc., Champaign, IL.*351-356
- Zoog. G.A., Hays, R.L., VanDemark, N.L., Johnson, D.A., (1968). Effect of duration of experimental cryptorchidism on testis composition and metabolic activity. *Amer. J. Physiol.* 215, 985-990.