

Manejo reproductivo y genético en ovinos:

orientaciones básicas

Julio Enrique Gómez Mesa
Román David Castañeda Serrano
William Orlando Burgos Paz
Sergio Falla Tapias
Jaime Antonio Cardozo Cerquera
Yolanda Gómez Vargas
Fabián Leonardo Rueda Alfonso
Eliana Neira Rivera
Mary Yuriana Quintero Puentes
Diana Carolina Cediél Devia

Manejo reproductivo y genético en ovinos:

orientaciones básicas

Julio Enrique Gómez Mesa

Román David Castañeda Serrano

William Orlando Burgos Paz

Jaime Antonio Cardozo Cerquera

Yolanda Gómez Vargas

Eliana Neira Rivera

Mary Yuriana Quintero Puentes

Diana Carolina Cediel Devia

Fabián Leonardo Rueda Alfonso

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA

Centro de Investigación Tibaitatá

Red de Innovación en Ganadería y Especies Menores

Grupo de investigación Reproducción Tropical

Sergio Falla Tapias

Facultad de Medicina Veterinaria y Ciencias Afines

Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Grupo de investigación KYRON

Semillero de investigación CIETVET



Catalogación en la publicación – Biblioteca Nacional de Colombia

Gómez Mesa, Julio Enrique, autor

Manejo reproductivo y genético en Ovinos: orientaciones básicas
/ Julio Enrique Gómez Mesa [y otros nueve]. -- Primera edición. -- Neiva:
Corhuila, 2024.

Incluye referencias bibliográficas al final del libro.

ISBN 978-628-96056-5-5

1. Ganado lanar - Reproducción - Tolima 2. Ganado lanar - Genética - Tolima 3. Genética animal - Tolima I. Castañeda Serrano, Román II. Burgos Paz, William Orlando, autor III. Falla Tapias, Sergio, autor IV. Cardozo C., Jaime Antonio, autor V. Gómez Vargas, Yolanda, autora VI. Rueda Alfonso, Fabián Leonardo, autor VII. Neira Rivera, Eliana, autora VIII. Quintero Puentes, Mary Yuriana, autora IX. Cediél Devia, Diana Carolina, autora

CDD: 636.308210986136 ed. 23

CO-BoBN- a1146862

Manejo reproductivo y genético en ovinos: orientaciones básicas

© Corporación Universitaria del Huila – 2024

Editorial CORHUILA

ISBN: 978-628-96056-5-5

Primera edición: Neiva, Colombia, junio, 2024.

Coordinador editorial: Jaime Arturo Cabrera Navarrete

Diseño y diagramación: Luz Amanda Hernández Rey

Corrección de estilo: Jaime Arturo Cabrera Navarrete

Óscar Eduardo Chávarro Arias – Rector

Editorial de la Corporación Universitaria del Huila – CORHUILA

Calle 21 N° 6 - 01 Barrio Quirinal

Neiva, Huila, Colombia

Teléfono (8) 8754220

editorial@corhuila.edu.co

Esta obra está licenciada bajo

 **CC BY-NC-ND 4.0**

Hecho en Colombia

Made in Colombia

Se autoriza la reproducción total o parcial de la obra para fines educativos siempre y cuando se cite la fuente. El contenido de este documento se ampara en el derecho de expresión de sus autores y no representa el pensamiento ni la posición institucional de la Corporación Universitaria del Huila – CORHUILA. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

Sobre los autores

► **William Orlando Burgos Paz**

Zootecnista de la Universidad de Nariño (Colombia), magíster en Ciencia Animal de la Universidad de Antioquia (Colombia) y doctor en Producción Animal de la Universidad Autónoma de Barcelona (España). Trabaja en las líneas de investigación en mejoramiento genético animal y genética de poblaciones con énfasis en pequeños rumiantes y bovinos.

► **Jaime Antonio Cardozo Cerquera**

Médico veterinario zootecnista de la Universidad del Tolima (Colombia), magíster en Reproducción Animal de la Universidad Nacional de Colombia y doctor en Biología y Bioquímica Celular y Molecular de la Universidad de Zaragoza (España). Su investigación se centra en aspectos celulares y moleculares de la fertilidad del macho bovino y ovino. Su línea de investigación se enfoca en el estudio de las proteínas del plasma seminal y membrana espermática y su importancia en el funcionamiento del espermatozoide y hacia el efecto de la variación climática en la expresión de estas proteínas.

► **Román David Castañeda Serrano**

Médico veterinario y zootecnista de la Universidad del Tolima, magíster y doctor en Zootecnia de la Universidade Estadual de Maringá (Brasil). Hoy día, es investigador sénior de Minciencias y profesor asociado adscrito a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad del Tolima. Ha publicado más de 25 artículos científicos. Actualmente, es el líder del proyecto INNOVIS.

► **Diana Carolina Cediel Devia**

Medica veterinaria y zootecnista de la Universidad del Tolima y estudiante de maestría en Zootecnia de la Universidade do Oeste da Bahia (Brasil). Ha sido joven investigadora, becada en múltiples ocasiones por su desempeño académico.

► **Julio Enrique Gómez Mesa**

Médico veterinario zootecnista, especialista en Química de Productos Naturales y magíster en Ciencias Biológicas de la Universidad del Tolima (Colombia). Investiga en el área de salud y bienestar animal, en la línea de bioprospección antiparasitaria en rumiantes mediante la utilización de la biodiversidad botánica local. Adicionalmente, participa en investigaciones del área de genética y reproducción, con ovinos de pelo orientada hacia el mejoramiento y uso sustentable de los recursos zoogenéticos.

► **Sergio Falla Tapias**

Médico veterinario zootecnista de la Corporación Universitaria del Huila – CORHUILA y magíster en Ciencias Biológicas con profundización en biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia. Doctor en Ciencias Bioquímicas con profundización en biotecnología. Ha trabajado en el diagnóstico de agentes infecciosos y en investigaciones asociadas al análisis de fitoquímicos o biomoléculas con cromatografías preparativas y cristalografía de rayos x para la proyección de nuevos fármacos en patógenos del sector pecuario.

► **Yolanda Gómez Vargas**

Médica veterinaria con profundización en salud pública y magíster en Ciencias –Microbiología de la Universidad Nacional de Colombia, con profundización en biología molecular de agentes infecciosos. Ha trabajado en la evaluación de características productivas y sanitarias de animales. Es coordinadora del laboratorio de genética molecular en AGROSAVIA.

► **Elíana Neira Rivera**

Médica veterinaria zootecnista de la Universidad de los Llanos (Colombia), magíster en Sistemas Sostenibles de Salud y Producción Animal Tropical de la Universidad de los Llanos, con tesis sobre las características estructurales del ovario y de la expresión proteica del fluido folicular asociado del ovocito bovino de vacas cebú bajo condiciones de la Orinoquía colombiana. Trabaja en el área de reproducción animal en AGROSAVIA.

► **Mary Yuriana Quintero Puentes**

Médico veterinario zootecnista de la Universidad del Tolima, con conocimiento en el manejo clínico, sanitario y zootécnico de las distintas producciones pecuarias y animales de compañía. Adelanta estudios de maestría en Ciencias Pecuarias en la Universidad del Tolima.

► **Fabián Leonardo Rueda Alfonso**

Doctor en Biotecnología y máster en Biotecnología Avanzada de la Universidad Autónoma de Barcelona, magíster en Salud Animal de la Universidad Nacional de Colombia y licenciado en Química de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Premio a Mejor doctorado en Biotecnología del curso 2015-2016 otorgado por la Universidad Autónoma de Barcelona. Actualmente, se desempeña como investigador asociado de AGROSAVIA en la red de ganadería y especies menores.

Agradecimientos

A la Gobernación del Tolima, por su apoyo gestión y apoyo financiero para al desarrollo del proyecto INNOVIS.

Un reconocimiento y agradecimiento especial a los ovinocultores Anita Portela de Coyaima, Gabriel Peña Ramírez de Natagaima y Rafael Rodríguez Lozano del resguardo indígena San Miguel en Natagaima, por su disposición, contribución y aporte en el desarrollo de las actividades que requirieron su apoyo.

Teniendo en cuenta la necesidad de tener capacidad instalada en la región para la prevalencia, control y prevención de enfermedades, la Corporación Universitaria del Huila – CORHUILA y la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA inauguraron un laboratorio de biotecnología sanitaria en el marco del desarrollo de un nuevo proyecto del Sistema General de Regalías – SGR. Este cuenta con la infraestructura, el equipamiento y talento humano con amplio conocimiento en el diagnóstico de agentes infecciosos. En esta capacidad instalada en el sur de Colombia, se realizarán investigaciones basadas en el diagnóstico de enfermedades asociadas al sector pecuario. Entre ellas, las enfermedades vinculadas a los pequeños rumiantes, a través de técnicas como las PCR tiempo real, PCR punto final y Elisa indirecta.

Resumen

Esta obra, de carácter técnico y académico, se propone como una guía introductoria y rigurosa para el entendimiento y aplicación de principios reproductivos y genéticos en el manejo de ovinos. Fruto del trabajo colaborativo entre investigadores de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria AGROSAVIA y docentes de la Corporación Universitaria del Huila – CORHUILA, este texto se articula desde la experiencia práctica, la investigación aplicada y la necesidad creciente de profesionalizar los sistemas ovinos en Colombia y América Latina. La obra aborda aspectos esenciales como la fisiología reproductiva, selección genética, biotecnologías reproductivas y el impacto de estos procesos en la productividad y sostenibilidad del sistema ovino. Se destacan estrategias prácticas de manejo que pueden ser implementadas por productores, técnicos y estudiantes, considerando las condiciones propias del trópico y las limitaciones comunes en los sistemas pastoriles de pequeña y mediana escala. Como gran mérito, esta publicación traduce conceptos científicos complejos en herramientas aplicables en campo, sin perder la rigurosidad técnica. Articula el lenguaje del conocimiento de frontera con el lenguaje propio del conocimiento cotidiano y mantiene un enfoque multidisciplinario, lo que permite que el lector comprenda la reproducción ovina no solo desde la biología, sino también desde la gestión zootécnica y la mejora genética como pilares fundamentales para el desarrollo rural. De esta manera, este libro es una contribución valiosa para la formación de médicos veterinarios, zootecnistas y productores interesados en profesionalizar sus prácticas. Su enfoque práctico y contextualizado lo convierte en una referencia de consulta tanto en el ámbito académico como en la asistencia técnica en campo. Este libro no solo informa: orienta, actualiza y motiva a quienes creen en el potencial del sector ovino como motor de desarrollo agropecuario sostenible.

Palabras clave: adaptación, conservación, mejoramiento genético, proteómica, reproducción ovina.

Abstract

This work, technical and academic in nature, is intended as an introductory and rigorous guide for understanding and applying reproductive and genetic principles in sheep management. The result of collaborative work between researchers from the Colombian Corporation for Agricultural Research (AGROSAVIA) and professors from the Corporación Universitaria del Huila – CORHUILA, this text is structured from practical experience, applied research, and the growing need to professionalize sheep systems in Colombia and Latin America. The book covers essential topics such as reproductive physiology, genetic selection, reproductive biotechnologies, and the impact of these processes on the productivity and sustainability of the sheep system. It highlights practical management strategies that can be implemented by producers, technicians, and students, considering the specific conditions of the tropics and common limitations in small- and medium-scale pastoral systems. One of the great merits of this publication is that it translates complex scientific concepts into field-applicable tools without sacrificing technical rigor. It bridges the language of cutting-edge knowledge with that of everyday practice and maintains a multidisciplinary approach, allowing the reader to understand sheep reproduction not only from a biological perspective but also from the standpoint of zootechnical management and genetic improvement as fundamental pillars for rural development. In this way, this book is a valuable contribution to the training of veterinarians, animal scientists, and producers interested in professionalizing their practices. Its practical and contextualized approach makes it a reference for both academic consultation and technical field assistance. This book does more than inform: it guides, updates, and motivates those who believe in the potential of the sheep sector as a driver of sustainable agricultural development.

Keywords: adaptation, conservation, genetic improvement, proteomics, sheep reproduction.

Tabla de contenido

Sobre los autores	6
Agradecimientos.....	9
Resumen	10
Lista de tablas.....	15
Lista de figuras.....	16
Introducción	16

Capítulo 1. Adaptación y contribución de los recursos zoogenéticos

locales al desarrollo de la ovinocultura del Tolima	20
Introducción	20
Mecanismos de adaptación de los ovinos en el trópico.....	21
Manejo reproductivo con orientación a mercado.....	26
Aptitud biológica de los individuos del rebaño	28
Manejo de indicadores productivos	28
Condiciones ambientales del rebaño.....	29

Capítulo 2. Caracterización genética del ovino criollo de pelo en el

departamento del Tolima	32
Introducción	32
Materiales y métodos	33
Identificación de productores de ovinos criollos y obtención de muestras y genotipos en el Tolima	33
Análisis de la diversidad y estructura genética de la población ovina criolla de pelo del Tolima.....	34
Estimación de patrones de selección	34
Resultados y discusión	35
Análisis de la diversidad y estructura genética de la población ovina criolla de pelo del Tolima.....	35

Patrones selectivos en el genoma de ovinos del Tolima.....	38
Conclusiones	41
Recomendaciones.....	41
Capítulo 3. Proteómica y reproducción de rumiantes.....	42
Introducción	42
Estudios proteómicos del espermatozoide ovino	43
Proteínas del plasma seminal.....	45
Aproximaciones en el proteoma de los testículos	49
Estudios proteómicos en fluido folicular de ovejas.....	50
Conclusiones	52
Capítulo 4. Proteínas del plasma seminal y antioxidantes.....	54
Introducción	54
Examen andrológico y fertilidad del reproductor.....	55
Análisis convencionales de la calidad seminal.....	55
Pruebas de funcionalidad espermática	57
La era molecular y la evaluación de la fertilidad del espermatozoide.....	58
Biomarcadores de fertilidad.....	59
Relación entre las bandas de proteínas y los parámetros de calidad seminal.....	61
Efecto de la edad del animal en la expresión de proteínas del plasma seminal.....	61
Adición de proteínas de plasma seminal a medios de criopreservación	63
Estrés oxidativo y fertilidad del macho	62
Afectación del estrés oxidativo a los parámetros seminales.....	65
Estrés oxidativo ocasionado por la criopreservación	65
Conclusiones	67

Capítulo 5. Selección del reproductor ovino	70
Introducción	70
Evaluación reproductiva.....	69
Evaluación física general.....	72
Condición corporal	75
Tamaño y peso corporal.....	76
Descripción del aparato reproductor ovino.....	76
Conducta sexual y examen del aparato reproductor.....	77
Genitales.....	79
Capacidad de servicio y comportamiento reproductivo	82
Procedimientos complementarios	83
Importancia del diagnóstico de enfermedades en ovejos para la reproducción.....	83
 Capítulo 6. Obtención y evaluación del semen	84
Métodos de obtención del eyaculado.....	84
Método de obtención del semen por electroeyaculación	84
Método de obtención del semen con vagina artificial	85
Valoración del eyaculado	88
Evaluación macroscópica	88
Evaluación microscópica	89
Pruebas complementarias en la evaluación espermática	98
Conclusiones	102
Referencias.....	104

Lista de tablas

Tabla 1 Heterocigosidad observada (H_o) en cuatro razas ovinas presentes en el Tolima	35
Tabla 2 Cromosoma, posición y frecuencia alélica en los cinco SNPs más diferenciados entre la población ovina criolla de pelo y las demás razas analizadas	38
Tabla 3 Parámetros de calidad seminal en ovinos de pelo de la raza criolla colombiana.....	56
Tabla 4 Porcentajes de correlación entre bandas de proteína del plasma seminal y motilidad individual.....	62
Tabla 5 Valores de concentración de las bandas de proteínas del plasma seminal de ovinos criollos de pelo que variaron en función de la edad del animal.....	62
Tabla 6 Valores promedio de volumen de eyaculado seminal en ovinos de pelo.....	88
Tabla 7 Clasificación del semen con base en el aspecto del eyaculado.....	89
Tabla 8 Valores de referencia para concentración espermática ($\times 10^6$ mL) de diversas razas de ovinos de pelo.....	90
Tabla 9 Relación del aspecto del semen y la cantidad de espermatozoides	91
Tabla 10 Clasificación general del semen en función de la motilidad masal.....	92
Tabla 11 Clasificación de la motilidad individual de los espermatozoides.....	93
Tabla 12 Porcentaje de motilidad progresiva en ovinos de pelo de diferentes razas.....	94
Tabla 13 Calificación en la evaluación descriptiva de la motilidad individual	94
Tabla 14 Valores promedio integral de membranas (técnica carboxifluorescencia / yoduro propidio) en ovinos criollos de pelo.....	96
Tabla 15 Promedios de anormalidades en ovinos criollos de pelo.....	97

Lista de figuras

Figura 1 Mecanismos de adaptación de ovinos a ambientes semiáridos de trópico bajo.....	21
Figura 2 Fenotipo de rebaño del sur del Tolima	23
Figura 3 Ovinos en predio del municipio de Natagaima, sur del Tolima.....	25
Figura 4 Desempeño productivo del rebaño sin plan de manejo reproductivo	27
Figura 5 Desempeño productivo del rebaño con plan de manejo reproductivo.....	27
Figura 6 Análisis de componentes principales para cinco razas de ovinos en el Tolima.....	35
Figura 7 Análisis de componentes principales para las cinco razas de ovinos en el Tolima y dos razas de ovinos criollos de lana.....	36
Figura 8 Asignación probabilística de los individuos analizados a cuatro grupos genéticos estimados	37
Figura 9 Esquema de la función especializada de las proteínas del plasma seminal y su papel desde la eyaculación hasta la interacción con la zona pelúcida.....	44
Figura 10 Estructura lineal de BSP-A1/-A2.....	47
Figura 11 Mapa bidimensional de proteínas del plasma seminal de ovinos de la raza española rasa aragonesa	59
Figura 12 Proteínas del plasma seminal ovino provenientes de la vesícula seminal (BSP y PDC-109), determinadas por secuenciación de novo	60
Figura 13 Adición de proteínas del plasma seminal (SPP) ovino al medio de criopreservación.....	63
Figura 14 Componentes considerados en la selección del reproductor ovino	72
Figura 15 Evaluación fenotípica de ovinos criollos en Honda, Tolima	73
Figura 16 Aspecto de la cabeza y cuello de machos ovinos criollos tipo etíope del norte del Tolima	74
Figura 17 Partes del sistema reproductor del ovino macho	77
Figura 18 Examen del pene del macho ovino	80

Figura 19	<i>Medición de la circunferencia escrotal.....</i>	81
Figura 20	<i>Obtención de semen en ovino joven mediante de electroeyaculación</i>	84
Figura 21	<i>Partes y ensamblaje de vagina artificial</i>	85
Figura 22	<i>Higiene prepucial previa a la colecta de semen.....</i>	84
Figura 23	<i>Acondicionamientos para colección de semen mediante vagina artificial...87</i>	
Figura 24	<i>Determinación de concentración espermática mediante uso del espectrofotómetro SDM 6 minitube.....</i>	80
Figura 25	<i>Viabilidad espermática por técnica de fluorescencia</i>	96
Figura 26	<i>Espermatozoides con reacción positiva a la prueba de equilibrio osmótico</i>	99
Figura 27	<i>Espermatozoides con valoración de integridad acrosomal</i>	101

Introducción

La oveja fue una de las primeras especies domesticadas por el ser humano, con una historia de interacción que se remonta aproximadamente 9 000 años atrás. En la actualidad, esta especie ha adquirido relevancia como fuente de proteína animal para la alimentación humana; se destaca, además, por ser la especie doméstica con mayor número de razas, estimadas en cerca de 1 500 a nivel mundial (Zeder, 2008).

Para el año 2021, la población mundial ovina superó los 1 200 millones de animales, con China como el país con mayor inventario, seguido por importantes contribuciones de regiones como Asia y África. En Suramérica, la población ovina representa una proporción menor, aunque relevante dentro del contexto productivo regional; Brasil y Argentina encabezan la mayor proporción de inventario (FAOSTAT, 2021). En Colombia, el inventario ovino se ha estimado en alrededor de 1,8 millones de cabezas, concentradas principalmente en departamentos como La Guajira, Cesar, Magdalena, Boyacá y Córdoba, lo cual evidencia una distribución asociada a regiones de trópico bajo y sistemas productivos de pequeña y mediana escala (Murcia, 2023).

Los ovinos llegaron a Colombia durante la ocupación española de este territorio. Los colonizadores trajeron tanto ejemplares de lana como de pelo; los primeros, provenientes de Europa; los segundos, de África occidental. Desde entonces, han desarrollado un proceso de adaptación a la diversidad ecosistémica nacional. En el trópico bajo, contamos con poblaciones ovinas con características propias expresadas en razas como la llamada oveja colombiana de pelo, también conocida en algunas regiones como camura (Red de Innovación de Ganadería y Especies Menores, 2002).

Actualmente, la oveja colombiana de pelo se encuentra ampliamente distribuida en las zonas de trópico medio y bajo de Colombia. Son, usualmente, de color café, pero su tonalidad varía desde un café claro hasta un marrón oscuro. Es una raza sin cuernos y muy similar a la raza pelibuey en tamaño y conformación. Se considera que constituye un gran recurso genético para usar y conservar (Flórez Murillo et al., 2020).

En los últimos años, la cría de ovejas para la producción de carne ha adquirido un mayor reconocimiento debido a la factibilidad económica de la cría con fines comerciales y a la posibilidad de contribuir significativamente al crecimiento y diversificación de los productos cárnicos en el país. Ya se evidencia una tendencia creciente en la demanda de carne de estos pequeños rumiantes tanto en el mercado internacional como en los ámbitos nacional y local (OCDE & FAO, 2025).

En la primera década del siglo XXI, la población ovina del Tolima aún estaba conformada principalmente por individuos del *complejo racial* camura, con predominio de sus tipologías etíope y sudanes. Adicionalmente, se reporta la presencia de otras razas como persa cabeza negra, black belly y saint croix con avanzado estado de adaptación a las condiciones locales y en procesos mestizaje con camura (Red de Innovación de Ganadería y Especies Menores, 2002).

Hasta ahora, se conoce muy poco sobre las bondades del germoplasma criollo y/o adaptado. Algunos reportes del sector productivo indican que los parámetros zootécnicos están distantes de las llamadas razas mejoradas. Por tales razones, y desde una perspectiva estrictamente económica y de corto plazo, se considera que los rebaños tradicionales compuestos por estos recursos genéticos presentan limitaciones para la producción de carne de manera competitiva en los mercados nacionales y extranjeros (Chay-Canul, 2019).

Como respuesta a estas consideraciones, se ha venido implementando una estrategia convencional de manejo genético para el mejoramiento del potencial productivo de los rebaños, que consiste en introducir razas mejoradas de línea materna, como pelibuey y santa Inés, y razas especializadas para carne, como katahdin (según el modelo productivo, se considera también de línea materna) y dorper, entre otras; en la mayoría de los casos, mediante cruzamientos absorbentes (Ambulo Pineda, 2025).

Desde el punto de vista económico, en el corto plazo, esta estrategia resulta aparentemente conveniente. Sin embargo, progresivamente, se está convirtiendo en una gran amenaza para los recursos genéticos criollos y/o adaptados a la región. Estos recursos criollos podrían constituir soporte para el desarrollo local de este renglón productivo en el mediano y largo plazo (Flórez Murillo et al., 2020).

En este documento, el concepto de raza tiene un fuerte sesgo hacia el reconocimiento de la importancia de la adaptación biológica (modificaciones fisiológicas, morfológicas y comportamentales) de la población ovina local. Igualmente, se hace referencia al manejo reproductivo de los recursos genéticos ovinos, considerando la necesidad y conveniencia de mantener una adecuada variabilidad genética que le dé sustentabilidad a estos procesos adaptativos como condición para un buen desempeño productivo en el mediano y largo plazo.

El proyecto INNOVIS aporta valiosamente al conocimiento de los recursos genéticos criollos, a la determinación de su potencial (re)productivo, y a la posibilidad de vincularlos de manera sustentable con la producción comercial de cordero en el departamento del Tolima. El presente libro está dirigido a profesionales asociados al sector productivo ovino, aunque goza de experiencias en campo para que los productores puedan comprender la temática tratada.



Capítulo 1

Adaptación y contribución de los recursos zoogenéticos locales al desarrollo de la ovinocultura del Tolima

Introducción

En las zonas secas del mundo, las altas temperaturas y la radiación solar condicionan de manera significativa la producción animal. Por tal motivo, desde la Antigüedad, la cría de ovejas ha alcanzado un protagonismo importante como medio de vida sostenible para estos ambientes (De et al., 2019). Según Macías et al. (2018), la zona de confort térmico (ausencia de estrés calórico) para los ovinos de pelo se encuentra entre los 15 y 30 °C y un índice de temperatura-humedad (ITH) menor de 74 unidades.

Las ovejas sometidas a estrés calórico muestran alteración de sus funciones biológicas, lo que, a su vez, se hace evidente en el desempeño reproductivo y en la reducción de la producción del rebaño en general (Marai et al., 2007). El estrés calórico

tiene efectos sobre el consumo de alimento, la tasa de crecimiento, la producción de leche y mecanismos de termorregulación tales como tasa de sudoración, tasa respiratoria y consumo de agua (Sejian et al., 2017). Las temperaturas ambientales elevadas en las regiones tropicales y subtropicales determinan la importancia de contar con recursos zoogenéticos adaptativamente superiores de tal modo que los ovinos puedan asimilar mejor los efectos adversos del cambio climático (Linnington, 1990).

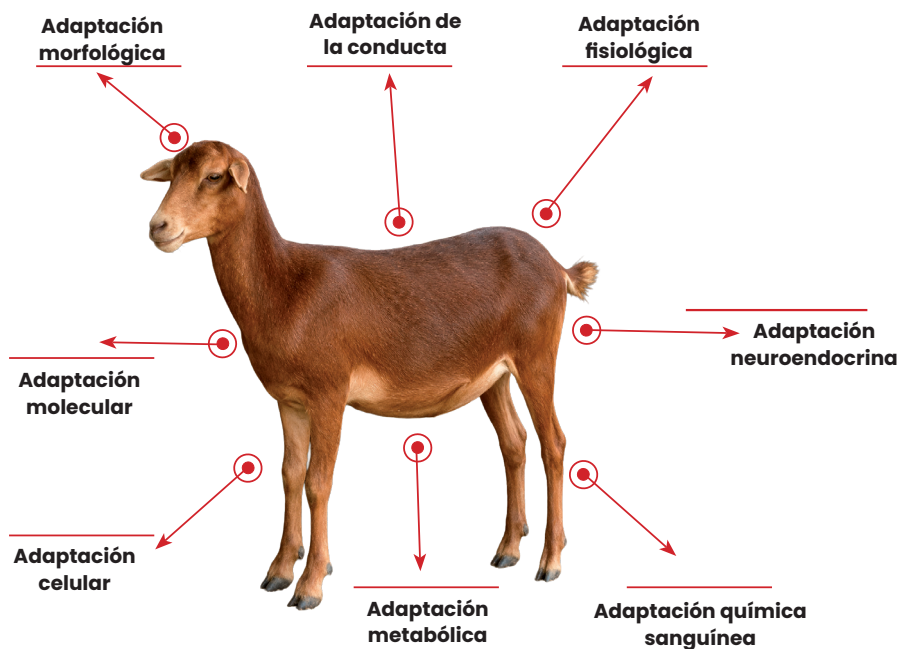
Mecanismos de adaptación de los ovinos en el trópico

Las poblaciones ovinas criollas tienen mejor capacidad que las razas mejoradas para sobrellevar las cargas de la marginalidad productiva. Posiblemente, esto tiene que ver con un mejor potencial adaptativo, en la que ciertas combinaciones génicas presentes en la variabilidad global pudieron haberse fijado como resultado de una presión de selección natural (Iñiguez Rojas, 2013).

De acuerdo con Hahn & Mader (1997), los animales expuestos a ambientes de estrés por calor han desarrollado varios mecanismos adaptativos tales como cambios conductuales, fisiológicos, endocrinos, celulares, metabólicos y bioquímicos, entre otros, para minimizar la condición estresante (Figura 1).

Figura 1

Mecanismos de adaptación de ovinos a ambientes semiáridos de trópico bajo



Nota. Elaboración propia a partir de Sejian et al. (2017).

Sejian et al. (2017) exponen aspectos adicionales relevantes a los ajustes biológicos. Sostienen que los animales también muestran diversas características genéticas asociadas a aspectos morfométricos para una mejor adaptación en el entorno específico. Las adaptaciones morfológicas son cambios físicos que ocurren durante muchas generaciones en una especie, que mejoran su aptitud en un área geográfica determinada.

Estos cambios físicos incluyen rasgos corporales alométricos como el tamaño y la forma del cuerpo, el diseño de las extremidades, los atributos de la piel (colores, grosor, distribución de las glándulas sudoríparas) y las características del pelaje como color, grosor, absorción y reflectividad, así como el ángulo de disposición del pelo en la piel. Igualmente, hay ajustes en la expresión genética relacionada con proteínas de choque térmico (HSP). Estas son una gran familia de proteínas, que permiten que las células se adapten a los cambios ambientales graduales; se considera que desempeñan un papel crucial en la tolerancia al estrés ambiental y la adaptación térmica.

Por otra parte, la vulnerabilidad del animal al estrés por calor está controlada por varios factores, como el estado nutricional, la salud, la condición corporal, las características geno- o fenotípicas, el grado de exposición y los tipos de prácticas de manejo adoptadas. En comparación con los grandes rumiantes, se observa que los pequeños, como ovejas y cabras, están muy adaptados a diversas regiones climáticas. Además, su mayor tasa de sobrevivencia en condiciones climáticas extremas con sequía y baja disponibilidad de forraje sugiere que la oveja es la especie animal ideal para la adaptación al cambio climático en los próximos años.

En Colombia, la producción ovina de trópico bajo se ha establecido de manera marginal en ecosistemas secos (zonas semiáridas y subhúmedas secas), con un significado principalmente de orden sociocultural y con contribuciones importantes para la seguridad alimentaria de comunidades rurales locales (campesinas e indígenas). Los ovinos de pelo acompañan a las sociedades rurales desde hace cientos de años, tiempo durante el que estos pequeños rumiantes han logrado acomodarse a las condiciones propias de los ambientes neotropicales donde han sido relegados (Red de Innovación de Ganadería y Especies Menores, 2002).

Hasta mediados de la primera década del siglo XXI, la producción ovina local del Valle Cálido del Alto Magdalena¹ –Vacam– se limitó a una actividad productiva con muchas y diversas deficiencias tecnológicas y muy pobre orientación hacia el mercado.

¹ El Valle Cálido del Alto Magdalena es un territorio compartido por los departamentos de Huila, Tolima y Cundinamarca. Se asimila a un enclave de bosque seco tropical ubicado entre los 300 y 1.000 m s. n. m., con una extensión aproximada de 1.491.729 ha y temperatura promedio de 25,5 °C. Se caracteriza por presentar tierras de planicies aluviales, en provincias con diferentes patrones de humedad y precipitaciones que oscilan entre menos de 700 y 1.300 mm al año, distribuidos bimodalmente.

Ya en escenarios con enfoque empresarial, se hizo evidente que el escaso conocimiento sobre reproducción, nutrición y salud –tres aspectos fundamentales en el eslabón primario de la producción ovina– constituyen la principal limitación de los rebaños para un desempeño productivo más ajustado a su potencial biológico. Esto es muy notorio en los rebaños conformados por recursos genéticos con limitaciones adaptativas a las condiciones del trópico bajo semiárido, como es el caso del Vacam (Chay-Canul, 2019).

El mercado para ovinos de pelo demanda corderos con, preferiblemente, menos de ocho meses de edad, y cuyo peso vivo esté alrededor de los 35 kilos. De acuerdo con principios zootécnicos, para estos rendimientos, se requiere ajustar el manejo de la base genética, bien sea por procesos de selección y mejoramiento del germoplasma criollo adaptado a las condiciones agroecológicas locales, bien mediante la utilización de razas cárnicas mejoradas.

Para el caso estas últimas, se requieren, a su vez, ajustes ambientales para minimizar factores que puedan alterar el potencial productivo, como por ejemplo el ITH (índice de temperatura-humedad). Para alcanzar estos parámetros productivos, es necesario implementar estrategias de manejo genético y reproductivo que permitan optimizar el crecimiento y desarrollo de los animales, ya sea mediante programas de selección dentro de la población criolla o mediante la utilización de razas especializadas orientadas a la producción de carne (OCDE & FAO, 2025).

Figura 2

Fenotipo de rebaño del sur del Tolima



Nota. Elaboración propia. Toda figura o tabla sin atribución de autoría debe asumirse elaboración propia.

En el caso del uso de razas mejoradas, es indispensable realizar ajustes en el entorno productivo para reducir el impacto de las condiciones ambientales adversas propias del trópico, como el estrés térmico, el cual puede afectar negativamente el consumo de alimento, la ganancia de peso y la eficiencia reproductiva. Por otra parte, la vulnerabilidad del animal al estrés por calor está determinada por diversos factores que interactúan entre sí, incluyendo el estado nutricional, la salud, la condición corporal, las características genéticas y fenotípicas, el nivel de exposición ambiental y las prácticas de manejo adoptadas, los cuales influyen directamente en la capacidad de adaptación del animal a condiciones térmicas adversas.

Asimismo, el manejo nutricional debe adaptarse a los requerimientos fisiológicos de los animales en cada etapa productiva, a través de estrategias como suplementación estratégica, conservación de forrajes y planificación de la oferta alimenticia durante el año. Estas medidas permiten mejorar el desempeño productivo tanto en razas mejoradas como en poblaciones criollas adaptadas (Sejian et al., 2017).

Durante las últimas décadas, varios emprendimientos han introducido en el Vacam una importante diversidad de razas de ovejas de pelo. Por el número de individuos y adaptabilidad, se destacan, entre otras, las razas persa caranegra, black belly y saint croix. Sin embargo, los apareamientos indiscriminados llevaron a la conformación de rebaños con alta variabilidad en sus características fenotípicas, pero con comportamientos productivos y reproductivos igualmente variados que no han representado progresos productivos significativos (Figura 2). Incluso, en algunas fincas, aún es posible encontrar rebaños con características fenotípicas similares a tipologías raciales bien diferenciadas, como el caso de la persa cabezanegra en el sur del Tolima (Figura 3).

Recientemente, se ha incorporado a la región material genético de razas mejoradas como dorper, pelibuey, katahdin y santa Inés, pero sin las orientaciones básicas en el manejo genético. Tal es así que aún no se logran los progresos zootécnicos esperados, con el agravante de que cada vez es menor la disponibilidad de recursos genéticos criollos. En este sentido, la autoridad técnica responsable de proveer orientación especializada es la AGROSAVIA, que lidera programas de mejoramiento genético ovino en alianza con gremios como Asoovinós para fortalecer la evaluación genética, genómica y el uso de genealogía en razas criollas y mejoradas (Codazzi, 2020).

Por otra parte, aunque se han logrado múltiples avances en el conocimiento de la fisiología reproductiva de los ovinos y en el desarrollo de técnicas de reproducción asistida que podrían contribuir a mejorar de manera significativa y rápida la eficiencia reproductiva, su aplicabilidad es muy baja. Lo anterior, debido a que, usualmente, los

productores ni siquiera llevan registros de los eventos reproductivos de su rebaño (Gizaw & Tegegne, 2018).

La participación de la población ovina local del Tolima en el nuevo enfoque de la ovinocultura orientada al mercado nacional ha estado marcada por dos dinámicas principales. En una primera etapa, muchos sistemas productivos recurrieron al uso de vientres criollos locales para realizar cruzamientos absorbentes con razas especializadas como santa Inés y katahdin, en busca de mejorar parámetros productivos y cárnicos. Este proceso favoreció el reemplazo progresivo de genotipos locales y generó preocupación frente a la posible pérdida de variabilidad genética y de características adaptativas desarrolladas por las poblaciones criollas en condiciones semiáridas tropicales (Ocampo et al., 2016).

En una segunda etapa, algunos productores han reconocido la importancia de conservar proporciones de la genética local debido a atributos como rusticidad, adaptación climática y resistencia a condiciones adversas. No obstante, estos procesos se han desarrollado, en muchos casos, sin suficientes programas técnicos de conservación y mejoramiento genético. En distintas zonas ovinas colombianas, la expansión de modelos productivos basados en razas exóticas y cruzamientos comerciales ha incrementado el riesgo de erosión genética de poblaciones ovinas criollas adaptadas al trópico colombiano.

Figura 3

Ovinos en predio del municipio de Natagaima, sur del Tolima



Esto se debe a que muchos sistemas productivos han utilizado hembras locales como base para cruzamientos absorbentes con razas foráneas como katahdin, santa Inés y dorper, orientados principalmente al mejoramiento de variables cárnicas y de crecimiento. Como consecuencia, se ha reducido progresivamente la proporción de animales criollos conservados bajo esquemas reproductivos puros, lo cual ha favorecido la pérdida de variabilidad genética y de características adaptativas asociadas con rusticidad, tolerancia climática y capacidad de respuesta a condiciones ambientales adversas (Martínez & Vásquez, 2005; Ocampo et al., 2016).

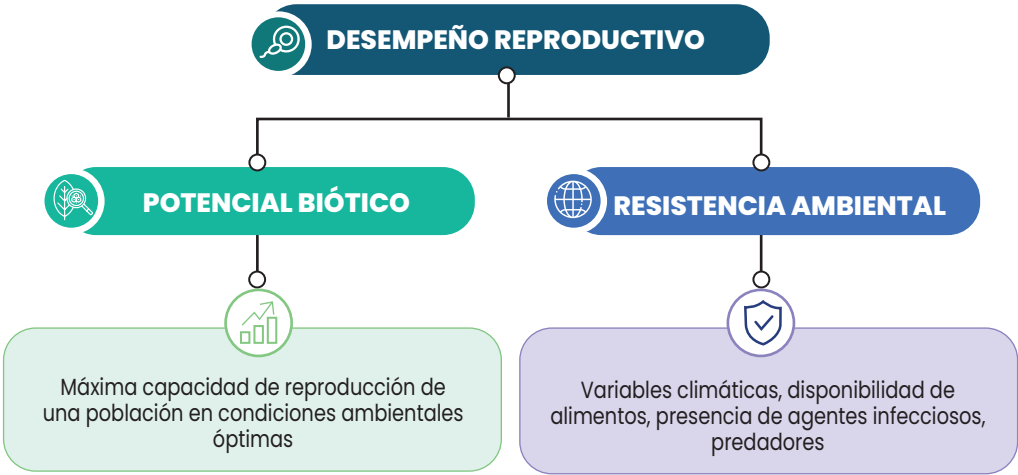
Manejo reproductivo con orientación a mercado

En este contexto, el manejo reproductivo orientado al mercado se convierte en un componente fundamental para mejorar la eficiencia productiva de los sistemas ovinos. Un plan de manejo reproductivo permite anticipar y controlar las distintas etapas del ciclo productivo –selección de reproductores, apareamiento, gestación, parto y lactancia–; gracias a ello, se minimizan fallas que afectan la productividad del rebaño, y mejoran los indicadores productivos.

El desempeño productivo de un rebaño depende en buena medida de su eficiencia reproductiva. Esta, a su vez, está determinada naturalmente por el potencial biótico de la especie y por la resistencia ambiental. El potencial biótico de una especie se entiende como la máxima capacidad de reproducción de una población (rebaño en este caso), en condiciones ambientales óptimas; es decir, sin ningún tipo de resistencia ambiental. Entonces, el potencial biótico es el principal factor de crecimiento de una población (Morlans, 2004).

En términos estrictamente biológicos, el desempeño reproductivo de un rebaño (DR) es igual a su potencial biótico (PB) menos los efectos indeseables de la resistencia ambiental (RA); $DR = PB - RA$. La RA es el conjunto de factores ambientales limitantes del crecimiento de una población, como, por ejemplo, la reducción en la tasa de natalidad y el incremento en la tasa de mortalidad. En otros términos, para una población ovina, la RA comprende la diversidad de factores del entorno ambiental (bióticos y abióticos) tales como variables climáticas, disponibilidad de alimentos, presencia de agentes infecciosos, predadores, entre otros, que pueden limitar o condicionar el desempeño productivo del rebaño (Figura 4).

Figura 4
Desempeño productivo del rebaño sin plan de manejo reproductivo



Al asignar propósitos productivos al rebaño, el manejo reproductivo debe orientarse hacia el mejoramiento de indicadores productivos, incorporando prácticas convencionales de manejo reproductivo y tecnologías de reproducción asistida (Figura 5).

Figura 5
Desempeño productivo del rebaño con plan de manejo reproductivo



Por ejemplo, la selección adecuada de hembras para reemplazo, el diagnóstico oportuno de preñez y de la condición reproductiva general de la hembra, los programas de inducción y sincronización de celos y partos, junto con la selección de razas, el manejo de machos y los registros de reproducción, son componentes fundamentales en la gestión de sistemas de producción.

Complementariamente al manejo reproductivo, es importante ofrecer al rebaño mejores condiciones ambientales. Según Aguayo et al. (2013), algunas prácticas de manejo, como el enriquecimiento ambiental, pueden contribuir a mejorar el bienestar animal y, por consiguiente, la producción y la calidad de la carne de los corderos.

Con base en lo expuesto, un plan efectivo de manejo reproductivo se debe soportar en un buen conocimiento del potencial reproductivo del rebaño, en la programación de acciones para minimizar oportunamente el efecto negativo de las restricciones ambientales y en la definición de metas reproductivas razonables. De esta manera, un plan de manejo reproductivo debe proponerse al menos los siguientes tres objetivos:

Aptitud biológica de los individuos del rebaño

Apunta a garantizar que todos los individuos del rebaño estén biológicamente aptos para reproducirse. Para el efecto, se deben evaluar tanto los machos reproductores como los vientres, de tal modo que se tenga certeza de su aptitud reproductiva. Para la evaluación reproductiva de los machos, se requiere, como mínimo, hacer exámenes físicos y de laboratorio para garantizar ausencia de enfermedades limitantes del desempeño reproductivo, analizar la condición corporal, hacer evaluaciones morfométricas (perímetro escrotal, aplomos y caracteres fenotípicos), analizar la calidad seminal (volumen, concentración espermática, viabilidad, motilidad), determinar la aptitud reproductiva y el comportamiento de los machos al servicio.

Encuanto a la evaluación de los vientres, se debe revisar la morfometría general de la hembra ovina, valorar indicadores de habilidad materna (principalmente la conducta pre- y posparto), efectuar evaluación sanitaria para determinar ausencia o presencia de enfermedades reproductivas, evaluación de caracteres funcionales –como estado de la dentadura y glándula–, mamaria, valoración de la fertilidad (directa y por registros), definir tamaño/peso de vientres para entrar a servicio y programar oportunamente descarte de reproductoras.

Manejo de indicadores productivos

Se orienta a mejorar indicadores productivos del rebaño mediante incorporación progresiva de técnicas convencionales de manejo reproductivo y técnicas de reproducción asistida. Para el efecto, se debe comenzar por la

identificación de cada uno de los animales del rebaño, mediante un sistema que sea confiable, funcional y perdurable. En algunos casos, puede ser conveniente combinar dos o tres sistemas de identificación que integren funcionalidad y confiabilidad; por ejemplo, tatuaje en oreja o base de la cola, orejera y –según criterio del productor– microchip subcutáneo.

Los machos reproductores y vientres se seleccionan con base en criterios de desempeño productivo. Convencionalmente, se toman en cuenta caracteres de importancia económica y con buena heredabilidad, como el peso al nacimiento y al destete. Además de los rasgos productivos, es necesario y conveniente considerar, en simultáneo, los rasgos adaptativos. Entre estos: evaluar la condición corporal de los vientres, definir épocas de apareamiento con orientación al mercado, prever un intervalo entre partos (IEP) no mayor de 8 meses, propiciar una longevidad productiva razonable que puede estar alrededor de los seis años, disponer oportunamente de reemplazos, disponer de corderos para el mercado según época.

En cuanto a este último rasgo, es importante implementar *creep feeding*, especialmente en corderos de madres criollas o mestizas, ya que, como es usual, por su baja producción láctea, limitan la ganancia de peso de corderos al destete. Respecto a la condición corporal de los vientres, se califica de 1 a 5: 1 corresponde a oveja de condición corporal baja, 3 a condición corporal adecuada y 5 a cuando las ovejas están muy gordas. Usualmente, la mejor condición para el apareamiento es cuando la oveja esta entre 3 y 4.

Del mismo modo, es conveniente acondicionar los vientres (*flushing*) para su etapa de apareamiento. Los programas de reproducción intensiva requieren de mayor cantidad y mejor calidad de alimento, para asegurar que se satisfagan los requerimientos nutricionales en cada etapa productiva.

Condiciones ambientales del rebaño

Se orienta a mejorar las condiciones ambientales del rebaño, para que su desempeño reproductivo esté cada vez más cerca de su potencial biótico. La adaptación de las razas ovinas a diferentes condiciones ambientales depende de la temperatura, la humedad, la vegetación y la susceptibilidad a diversas enfermedades. Se debe tomar en cuenta la información disponible localmente sobre el comportamiento de las variables climáticas y ajustar alojamientos y sistemas de pastoreo, de modo que se contribuya a reducir el estrés ambiental y a mejorar el bienestar de los animales.

Es necesario programar la disponibilidad de alimento, según los requerimientos en volumen y calidad durante todo el ciclo productivo del rebaño. La producción intensiva y conservación de forrajes y la suplementación con bloques nutricionales son estrategias que pueden contribuir a este propósito. Asimismo, es conveniente evaluar el uso de fuentes nutricionales no convencionales, tales como subproductos agroindustriales (afrechos, pulpas deshidratadas), forrajes arbóreos y arbustivos, y recursos locales disponibles estacionalmente, siempre que se garantice su valor nutritivo, inocuidad y adecuada inclusión en la dieta.

El ambiente tropical es propicio para la proliferación de enfermedades parasitarias e infecciosas que generan altas tasas de morbilidad en corderos. Por tal motivo, se deben implementar programas de manejo sanitario, orientado especialmente a reducir el impacto de enfermedades parasitarias y a prevenir otras enfermedades, como las causadas por clostridios.

Además, es primordial continuar con prácticas de enriquecimiento ambiental en los alojamientos y ambientes de pastoreo de los rebaños. En este sentido, las técnicas silvopastoriles tienen efectos altamente benéficos, puesto que contribuyen a reducir el estrés térmico, mejoran la nutrición y contribuyen a regular las cargas parasitarias.

Finalmente, es importante mencionar que la diversidad genética es un componente clave de la diversidad biológica. Su alcance es bien conocido en el caso de los cultivos agrícolas y en la cría de animales domésticos, en que se realizan grandes esfuerzos para conservar la biodiversidad del germoplasma original, sobre el cual operan los procesos de selección genética que realizan los criadores de razas y variedades (Halfpeter, 1992).

No obstante, la mayor parte de las especies vegetales y animales que se manejan en las granjas son foráneas y no es muy fácil el acceso al germoplasma original. En buena medida, la adaptación de una población se expresa como la capacidad de los individuos para sobrevivir y reproducirse en un ambiente determinado. Esta capacidad depende de la variabilidad genética disponible en la población reproductivamente activa.





Capítulo 2

Caracterización genética del ovino criollo de pelo en el departamento del Tolima

Introducción

Tolima es uno de los departamentos con mayor dinamismo en la ovino-cultura colombiana. Los sistemas productivos tienen una amplia vocación pastoril, con predominio de ovinos criollos y mestizos, cuya población puede superar el 50% de la población total de los ovinos del departamento (Parra et al., 2015). Los productores buscan parámetros productivos que respondan a la creciente demanda del mercado, lo que motiva mejorar los ambientes donde se produce e incorporar material genético de razas de alta productividad en otras regiones, como katahdin, dorper o santa Inés.

En diferentes regiones del país, no se conoce adecuadamente el comportamiento productivo de las razas por causa del manejo extensivo de los rebaños (Moreno & Grajales, 2017) y la carencia de un seguimiento riguroso de su desempeño. En estos casos, es clave un primer paso orientado a la caracterización de los recursos genéticos

adaptados a las condiciones particulares del departamento para sostener los sistemas productivos, definir objetivos de conservación o selección e implementar programas de mejoramiento genético y de cruzamientos.

Así, el fortalecimiento de los sistemas productivos dependerá de un acervo genético adaptado a las condiciones propias del departamento. De tal acervo se espera que haya sufrido procesos de selección durante varias generaciones y que represente un importante banco de variabilidad genética de las poblaciones ovinas para la región y el país. Por lo anterior, el primer paso para definir la estrategia de selección en la población ovina del Tolima fue identificar las relaciones entre diferentes regiones productoras de ovinos en el departamento y estimar, a nivel molecular, cómo los criterios de selección favorecieron su adaptación y nivel de producción en la región.

Materiales y métodos

Identificación de productores de ovinos criollos y obtención de muestras y genotipos en el Tolima

Este trabajo se realizó mediante visitas a productores de municipios del norte y sur del Tolima. Se preseleccionaron 21 rebaños, con una población total de 1 483 animales con características compatibles con ovinos criollos. Con la información recuperada del origen de las poblaciones, su relación con rebaños de la zona y los rasgos fenotípicos de los animales existentes, se seleccionaron los animales en cada predio para conformar un núcleo departamental con cinco rebaños. Los reproductores (machos), así como las hembras en edad reproductiva, se priorizaron en la colecta de muestras para el estudio de caracterización genética.

Se colectaron 366 muestras de sangre de ovinos distribuidas en las siguientes razas: criollo ($n=334$), dorper ($n=1$), katahdin ($n=5$), pelibuey ($n=6$) y santa Inés ($n=20$). Las muestras de sangre se transportaron al Laboratorio de Genética Molecular del Centro de Investigación Tibaitatá de AGROSAVIA, para extraer el ADN y, posteriormente, genotipificarlas con los chips comerciales Illumina Ovine SNP 50K ($n=48$) y SheepLD 15K ($n=318$).

Las bases de datos de SNPs fueron sometidas a un proceso de control de calidad previo al análisis genético, en el cual se descartaron SNPs sin posición conocida en autosomas, SNPs con más del 10% de genotipos no detectados y SNPs que presentaran alelos en frecuencia menor al 5%. Así, se contó con el genotipo de 11 073 SNPs, los cuales fueron informativos para la población ovina analizada.

Análisis de la diversidad y estructura genética de la población ovina criolla de pelo del Tolima

La depuración de la base de datos de genotipos y la estimación de la heterocigosidad observada y esperada se realizó con el programa PLINK (Purcell et al., 2007). La estructura genética de la población se determinó mediante la comparación de las frecuencias alélicas observadas en los individuos a través de un análisis de componentes principales implementado en el programa R (R Core Team, 2018).

Se utilizó el programa ADMIXTURE (Alexander et al., 2009), mediante un algoritmo bayesiano para la asignación probabilística de un individuo a K grupos genéticos. Para el análisis, se contrastó la presencia de K=1 a K=12 grupos genéticos; el número de grupos genéticos más probable se determinó mediante validación cruzada.

Finalmente, la base de datos de ovinos del departamento del Tolima fue evaluada juntamente con datos de genotipos de ovinos criollos de lana (n=49) y de la raza mora colombiana (n=42) presentes en el banco de germoplasma del Centro de Investigación Obonuco (Pasto – Nariño) de AGROSAVIA. De este modo, se estimó la diferenciación genética de los animales criollos de pelo del Tolima respecto a otras poblaciones criollas presentes en Colombia mediante las estrategias analíticas descritas anteriormente.

Estimación de patrones de selección

Estimación de patrones de selección

Se calcularon los valores F_{ST} estandarizados de cada SNP por pares de poblaciones (Akey et al., 2002). Este método se empleó tras considerar que el bajo tamaño de muestra de las poblaciones comerciales pudo influir en la correcta identificación de haplotipos presentes en las poblaciones (Browning & Browning, 2011). Se asumió que aquellos SNPs con valores de F_{ST} presentes en el 1% superior e inferior de la distribución empírica observada presentan indicios de procesos selectivos entre las poblaciones.

Para delimitar las regiones de selección se consideró un área de 500kb upstream y downstream respecto al SNP de mayor diferenciación (Manunza et al., 2016). Se extrajo el listado de genes presentes en las regiones con huella de selección con ayuda de la herramienta BIOMART (<http://www.ensembl.org/biomart/>) y se identificaron las principales rutas o procesos metabólicos en los que intervienen a través del análisis de ontologías con PANTHER (<http://pantherdb.org/>; Mi et al., 2017).

Resultados y discusión

Análisis de la diversidad y estructura genética de la población ovina criolla de pelo del Tolima

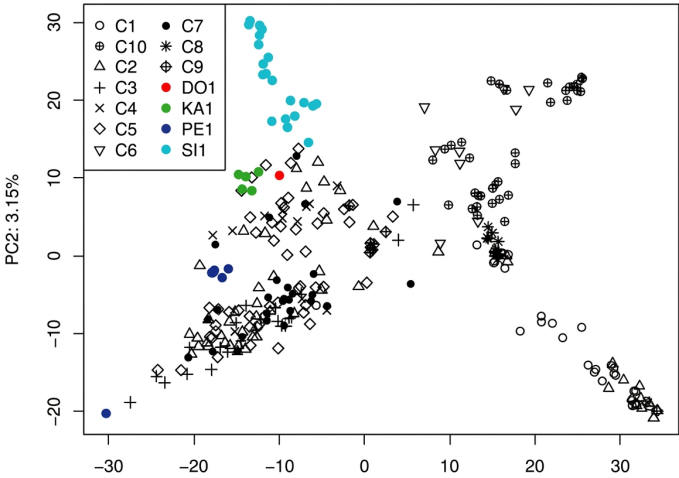
Los procesos de manejo en la región modelaron la diversidad de la población de ovino criollo de pelo, a tal punto que cuenta con valores de heterocigosidad comparables con poblaciones autóctonas o de interés comercial (Tabla 1).

Tabla 1
Heterocigosidad observada (Ho) en cuatro razas ovinas presentes en el Tolima

Raza	Ho	
	Media	Sd
Criollo	0.326	0.116
Katahdin	0.414	0.283
Pelibuey	0.374	0.235
Santa Ines	0.389	0.210

Aunque las frecuencias alélicas revelaron una menor Ho en los animales criollos, el tamaño de muestra de las demás poblaciones pudo sesgar dicha observación de acuerdo con la desviación estándar (Visscher, 2007). A la fecha, no fue posible encontrar información de heterocigosidad de SNPs en ovinos de Colombia que permitiera comparar los resultados obtenidos en este trabajo. No obstante, existen reportes que sugieren que la Ho en ovinos comerciales es mayor que en ovinos criollos en Colombia (Ocampo Gallego, 2014).

Figura 6
Análisis de componentes principales para cinco razas de ovinos en el Tolima

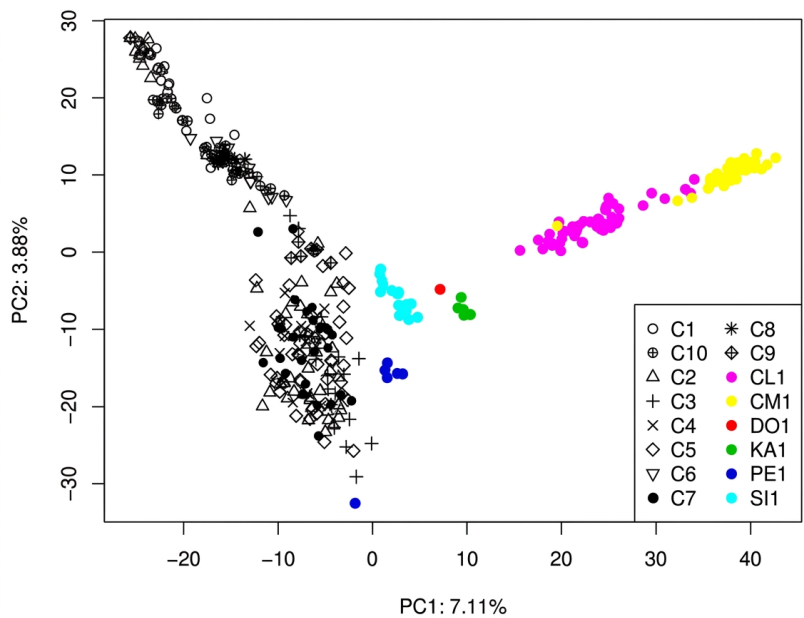


Mediante el contraste de las frecuencias alélicas de los SNPs analizados, se reconstruyó la relación entre las poblaciones a través de un análisis de componentes principales-PCA (Figura 6). Cada punto de la gráfica representa un individuo analizado; su color depende de la raza de la cual proviene.

Los dos primeros componentes principales (PC) explicaron el 8,92% de la varianza total observada. Esta muestra que la población criolla cuenta con una alta diferenciación genética entre los diferentes sitios de muestreo (C1 a C9) y entre ésta con las razas comerciales incluidas. Pese al bajo porcentaje de variación, similar a reportes en estudios de poblaciones a nivel mundial (Kijas et al., 2012), el análisis de componentes principales permitió determinar diferencias entre las poblaciones de ovino criollo que pudieron generarse por patrones distintivos de selección acorde con la dinámica poblacional o los objetivos de producción.

Esto puede observarse en el PC1 (5,77% de la varianza estimada), que separó los individuos de los sitios de muestreo C1, C2 y C10 de los demás grupos de raza criolla. Por su parte, el PC2 (3,15% de la varianza observada) puede relacionarse con la diferenciación entre poblaciones comerciales, principalmente santa Inés (SI) y la población de ovino criollo. Lo anterior supone la presencia de poblaciones de ovino criollo que tienen SNPs con diferencias en sus frecuencias alélicas, a pesar de tener heterocigosidad baja.

Figura 7
Análisis de componentes principales para las cinco razas de ovinos en el Tolima y dos razas de ovinos criollos de lana



Es importante, por un lado, explorar si las poblaciones de origen han moldeado su diferenciación genética a partir de cierto tipo de condiciones (ambientales, geográficas); por el otro, con ayuda del seguimiento productivo, tratar de identificar regiones del genoma relacionadas con variables de interés económico (Liu et al., 2016; L. Zhang et al., 2013). Cuando se incluyeron las poblaciones criollas de lana (CL) y mora (CM), la varianza explicada en el PCA se incrementó a 10,99% (Figura7).

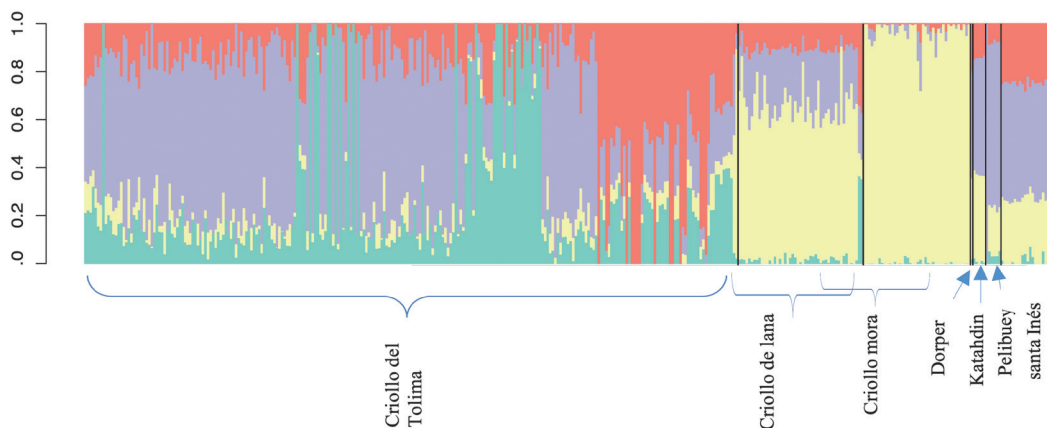
Las poblaciones criollas marcaron la diferenciación en el PC1 (7,11%), mientras que las diferencias observadas entre poblaciones de raza criolla de pelo contribuyeron en la diferenciación observada en PC2 (3,88%). La mayor importancia de las razas criollas en los dos primeros componentes principales revela cómo estas poblaciones juegan un papel muy importante en la reserva de diversidad genética ovina de Colombia. Cabe considerar que el menor tamaño de muestra en las razas comerciales pudo incidir en la estimación de la covarianza de las frecuencias alélicas y, por tanto, en la posterior proyección en el plano.

Por su parte, el análisis de asignación probabilística de grupos genéticos (Figura 8) permitió identificar K=4 grupos genéticos dentro de las poblaciones analizadas.

Los animales criollos de las razas criolla lana y criolla mora fueron asignados a uno de los grupos. Algunos ovinos criollos de pelo dieron lugar a la presencia mayoritaria de dos grupos genéticos (azul y rojo). Los resultados observados son un primer paso hacia la identificación de poblaciones con alta diferenciación genética y, especialmente, de genes asociados a características de importancia económica por su contribución a la reserva de diversidad genética de la población ovina de Tolima. Las razas comerciales mostraron patrones similares de asignación a varios grupos genéticos. No se observó un grupo genético predominante (color violeta o color rojo).

Figura 8

Asignación probabilística de los individuos analizados a cuatro grupos genéticos estimados



Existe una alta diferenciación poblacional en los animales criollos de pelo, asociada inicialmente con el sitio de muestreo. La gestión de las poblaciones, el movimiento de reproductores e, incluso, la presencia de barreras geográficas, pudieron modelar la diferenciación entre regiones. Esto sugiere que, a pesar de contar con diversidad genética, es fundamental el seguimiento genealógico de las poblaciones con miras a un programa de mejoramiento genético y posibles análisis de contribución óptima para manejar la conservación y selección (Jonas & Koning, 2015).

Patrones selectivos en el genoma de ovinos del Tolima

La variabilidad genética de una población animal de índole productiva está influenciada por la orientación productiva (carne, leche o lana en el caso de ovinos) realizada directa- o indirectamente por el ser humano (Manunza et al., 2016). En tal sentido, se reconocieron los patrones selectivos más destacados comparando la población de ovino criollo de pelo y las demás razas incluidas, a través de la variabilidad observada dentro de cada raza. En la Tabla 2, se presentan los cinco SNPs más diferenciados entre los ovinos criollos del Tolima y las demás razas incluidas.

Tabla 2
Cromosoma, posición y frecuencia alélica en los cinco SNPs más diferenciados entre la población ovina criolla de pelo y las demás razas analizadas

Razas	Cromosoma	SNP	Posición (pb)	Alelo presente en criollo	Frecuencia alelo en criollo	Frecuencia alelo en otra raza
Criollo / Katahdin	25	OAR25_34067791.1	34067791	G	0.077	1.000
	1	OAR1_58938560.1	58938560	A	0.104	1.000
	7	OAR7_15034944.1	15034944	A	0.115	1.000
	2	OAR2_211501156.1	211501156	A	0.137	1.000
	12	OAR12_38987624.1	38987624	G	0.143	1.000
Criollo / santa Inés	17	OAR17_20129698.1	20129698	G	0.139	0.895
	7	s03860.1	46604722	A	0.176	0.875
	3	OAR3_92151982.1	92151982	G	0.253	0.950
	1	OAR1_238742327.1	238742327	G	0.256	0.950
	3	s59099.1	32958890	G	0.179	0.850

Razas	Cromosoma	SNP	Posición (pb)	Alelo presente en criollo	Frecuencia alelo en criollo	Frecuencia alelo en otra raza
Criollo / Pelibuey	8	OAR8_85978703.1	85978703	A	0.143	0.917
	1	OAR1_222023360.1	222023360	A	0.201	0.917
	3	OAR3_92904936.1	92904936	G	0.299	1.000
	2	OAR2_128876479.1	128876479	G	0.332	1.000
	4	OAR4_68329094.1	68329094	G	0.336	1.000
Criollo / Criollo mora	25	s03686.1	7330064	A	0.049	0.952
	9	OAR9_66516428.1	66516428	G	0.133	0.976
	25	s30024.1	7165805	C	0.149	0.952
	23	OAR23_46373969.1	46373969	A	0.068	0.869
	1	OAR1_240231145.1	240231145	A	0.162	0.952
Criollo / Criollo lana	19	OAR19_1011202.1	1011202	G	0.092	0.837
	15	s00681.1	57038033	A	0.182	0.888
	4	s56475.1	100995124	G	0.195	0.847
	25	OAR25_18336268.1	18336268	A	0.269	0.918
	16	OAR16_28660372.1	28660372	G	0.162	0.796

Un total de 17, 14 y 16 regiones con SNPs diferenciados fueron encontradas en los contrastes criollo/katahdin, criollo/santa Inés y criollo/pelibuey respectivamente. Las regiones encontradas en la comparación de criollo con katahdin se ubicaron en los cromosomas 1, 2, 7, 12 y 25, y albergaron 2 429 genes. Para el contraste con santa Inés, las regiones de mayor interés se ubicaron en los cromosomas 1, 3, 7 y 17 con presencia de 2 326 genes. Las regiones ubicadas en los cromosomas 1, 2, 3, 4, 8, 16 alojaron 2 376 genes para el caso del contraste con pelibuey.

Las grandes cantidades de áreas identificadas con posibles patrones de selección son muestra de la gran variabilidad de la raza criolla. En el caso de otras poblaciones de ovinos, este tipo de estudios revelaron patrones muy específicos de selección, como es el caso de los cuernos (Kijas et al., 2012) o tejido graso (Moradi et al., 2012). No obstante, el alto número de genes y el análisis de ontologías revelaron que los múltiples patrones de selección se relacionan estrechamente con características adaptativas, reproductivas y de metabolismo celular.

Para el caso del criollo/katahdin, se encontraron ontologías relacionadas con el metabolismo de ácidos grasos (GO:0006631, $p\text{-value}<4.48\text{E-}5$, $\text{FDR}<8.9\text{E-}3$), regulación del transporte de lípidos (GO:0032368, $p\text{-value}<1.08\text{E-}5$, $\text{FDR}<4.85\text{E-}3$) y, en especial, la detección de los estímulos químicos involucrados en la percepción sensorial del olor (GO:0050911, $p\text{-value}<2.74\text{E-}16$, $\text{FDR}<1.53\text{E-}15$).

El análisis de ontologías entre criollo/santa Inés reveló un patrón selectivo hacia el desarrollo de tejidos (GO:0009888, $\text{FDR}<1.41\text{E-}02$) y, específicamente, las funciones desarrollo de la estructura anatómica (GO:0048856, $\text{FDR}<2.78\text{E-}06$) y los procesos del desarrollo (GO:0032502, $\text{FDR}<1.09\text{E-}06$). Finalmente, entre criollo y pelibuey, se observaron dos patrones distintivos respecto a katahdin y santa Inés: el desarrollo del sistema esquelético (GO:0001501, $\text{FDR}<2.57\text{E-}02$) y la morfogénesis embrionaria (GO:0048598, $\text{FDR}<3.97\text{E-}03$). Por otra parte, se encontró una sobrerepresentación de genes relacionados con la interacción con huésped (GO:0051701, $\text{FDR}<9.48\text{E-}3$) y el proceso inmune efector (GO:0002252, $\text{FDR}<3.53\text{E-}2$).

Cabe destacar que todos los contrastes mostraron una sobrerepresentación de genes relacionados con la percepción sensorial del olor en las regiones con señales de selección. Esta observación cobra gran relevancia, pues estos genes están directamente relacionados con diversas rutas metabólicas como la respuesta al estrés, la reproducción o alimentación (Fleischer et al., 2009).

La población ovina criolla es una significativa reserva de variabilidad genética y productiva para la región. Por ende, es importante iniciar y consolidar un proceso de seguimiento productivo que permita validar su potencial genético respecto a características de interés e identificar genes favorables a aspectos como la reproducción o la calidad de la canal, entre otros.

Por ejemplo, se encontró una alta diferenciación en las frecuencias alélicas del SNP OAR25_34067791.1 ubicado en la posición 25:34067791 entre el ovino criollo y los ovinos katahdin, y donde se ubica el gen ENSOART00000010859 o denominado placenta specific 9 (PLAC9), estrechamente relacionado con la respuesta del animal a procesos posparto y rápida involución uterina (Foley et al., 2012). También sugieren su participación en la modulación de la expresión de proteínas para adherencia del embrión al útero y, por ende, el correcto desarrollo de la gestación.

Los patrones selectivos detectados son una muestra del potencial que la raza criolla puede ofrecer en los sistemas productivos. Estos patrones, detectados en razas especializadas a nivel mundial (Fariello et al., 2014), deben ser contrastados con las medidas fenotípicas e identificar si las variantes alélicas encontradas inciden

positiva o negativamente en la expresión de los fenotipos de interés, como puede ser la reproducción en criollos. Dichas características destacan a estas poblaciones respecto a las comerciales y constituyen una ventaja comparativa en el desarrollo de los sistemas productivos animales en condiciones ambientales adversas y de baja tecnificación.

Conclusiones

La población ovina criolla de Tolima presenta un nivel de variabilidad cercano al de poblaciones de razas comerciales. Existe estructura genética dentro de la población ovina criolla asociada posiblemente con aspectos geográficos e históricos. Los patrones selectivos muestran una amplia variedad de genes seleccionables directa o indirectamente por los objetivos productivos. Cabe destacar la diferenciación observada entre la población criolla con otras razas respecto a genes asociados a percepción sensorial del olor.

Recomendaciones

- Incrementar el tamaño de muestra para poblaciones comerciales, para identificar nuevas herramientas analíticas patrones adicionales de selección en el genoma.
- Con la información sobre estructura poblacional obtenida, fortalecer la identificación de animales para consolidar el núcleo de mejoramiento de los ovinos criollos en Tolima.
- Diseñar estrategias de apareamiento basadas en las distancias genéticas y contribución óptima.
- Usar registros productivos para la evaluación cuantitativa de características de interés productivo en la población ovina del Tolima.
- A partir de la información presentada, identificar instancias gubernamentales que den lugar al reconocimiento de la población ovina criolla como un recurso genético invaluable para el departamento.



Capítulo 3

Proteómica y reproducción de rumiantes

Introducción

Mientras el material genético es constante en un individuo, la expresión de proteínas es un proceso tan dinámico que puede variar dentro del mismo individuo en condiciones diferentes o en periodos diferentes de su ciclo de vida. Adicionalmente, la actividad biológica de las proteínas depende en gran medida de su configuración tridimensional; esta no solo está determinada por la secuencia de los aminoácidos en cadena, sino también por la interacción entre residuos de aminoácidos no consecutivos (estructuras secundarias y terciarias) y las modificaciones postraduccionales. Dichas modificaciones tienen lugar después de la síntesis de la cadena peptídica; significan la adición de grupos funcionales que determinan la configuración espacial final de la molécula y, por consiguiente, su actividad biológica (Moore & Free, 1985).

Estas modificaciones implican un incremento exponencial en la dificultad que representa el estudio de las proteínas y una necesidad permanente de mejora en las técnicas relacionadas con el estudio de su estructura y función. Al respecto, durante las últimas décadas, ha habido importantes avances tecnológicos relacionados con

tecnologías como la electroforesis bidimensional en geles de poliacrilamida (2D PAGE), espectrometría de masas (MALDI MS) y cromatografía líquida (LC), entre otras, que soportan los esfuerzos sobre el entendimiento de aspectos genéticos y moleculares a través del estudio de la arquitectura, actividad y función biológica de las proteínas (Rotilio et al., 2012).

Desde el punto de vista de la reproducción, los estudios proteómicos pretenden abordajes cuali y cuantitativos a través del estudio de los perfiles proteicos (proteomas) en diferentes condiciones de expresión, teniendo en cuenta la interacción entre la genética y el ambiente desde una perspectiva molecular. Para llevar a cabo estas iniciativas, se debe estudiar la función y actividad biológica de cada proteína al nivel celular a través del análisis de mapas proteicos de fluidos (plasma seminal, fluido folicular, placenta) o tejidos (testículos, ovarios, endometrio).

Las variaciones en la presencia, ausencia o cantidad de cada una de las proteínas en el mapa se analizan para establecer una relación con problemas reproductivos relacionados con infertilidad, con la presencia de patologías reproductivas o, incluso, con posibles atributos que puedan explicar la presencia de individuos con fertilidad promedio mayor dentro de una población específica (P. Kumar et al., 2012; Maddison et al., 2017; Magalhães et al., 2016; Pini et al., 2016).

En este aspecto, una considerable cantidad de trabajos han sido encaminados a establecer la relación entre los perfiles proteicos y la fertilidad de especies de interés productivo. En el caso de ovinos, los estudios proteómicos han sido enfocados a la célula espermática (B. Barrios et al., 2005; de Menezes et al., 2016; Peris et al., 2007), al plasma seminal (Barrios et al., 2000; Bergeron et al., 2005; Cardozo et al., 2009a; Rickard et al., 2015; M. Villemure et al., 2003a), al fluido folicular (Paula Junior et al., 2018), al tejido ovárico (Miao et al., 2016) y al mucus cervical (Maddison et al., 2017). La mayoría de estos, dirigidos hacia a diferentes aspectos del manejo reproductivo de los ovinos desde un punto de vista fisiológico y molecular.

Estudios proteómicos del espermatozoide ovino

Se ha descrito que las proteínas de la membrana espermática tienen importantes funciones de señalización celular (Puri et al., 2008), regulación metabólica (Miki et al., 2004; Odet et al., 2011), interacción con la zona pelúcida del ovocito y fecundación (Li et al., 2014). Para el caso de los ovinos, los estudios proteómicos han llevado a la construcción de mapas con alrededor de 685 proteínas cuando los espermatozoides son eyaculados y más de 710 cuando son extraídos del epidídimo.

Los análisis ontológicos de los genes han mostrado que, de estas proteínas, cerca del 54% se relaciona con actividad catalítica (metabolismo de carbohidratos en su mayoría) mientras que solo el 26% presenta relación con el soporte estructural. Estos hallazgos sobre el proteoma del espermatozoide ovino indican que, desde el punto de vista proteico, la meta es producir energía para transportar el material genético dado que la demanda energética particular de la célula espermática es crítica para su motilidad. Lo anterior tiene sentido si se tiene en cuenta que el grupo más abundante de proteínas estructurales son aquellas que conforman los microtúbulos del flagelo (Pini et al., 2016).

Por su parte, estos estudios han identificado la presencia de importantes familias de proteínas de tipo HSP (Heat Shock Proteins) como HSP 70 KDa mitocondrial, HSP 70 KDa (tipos 1, 2 y 4) y HSP 90α. Aunque estas proteínas HSP fueron relacionadas principalmente con el choque térmico (Ritossa, 1962), se sabe que son producidas en respuesta a varios tipos de condiciones estresantes como el frío (Matz et al., 1995), exposición a luz ultravioleta, procesos de cicatrización y remodelación de tejidos (Laplanche et al., 1998).

De otro lado, la actividad inmunomodulatoria en el espermatozoide ovino parece tener especial importancia. Proteínas como la CEACAM21, un ortólogo de la CEACAM1 presente en células inmunes (Gray-Owen & Blumberg, 2006), así como la αS1 caseína (CSNIS1), con importantes efectos dentro de la actividad inmunitaria (Vordenbäumen et al., 2016), están presentes de manera importante en las células espermáticas ovinas. Aparte de los ovinos, estas proteínas se han detectado únicamente en espermatozoides humanos.

Lo dicho demuestra la relevancia de estos procesos de defensa inmune, para que el espermatozoide atraviese e interactúe dentro del tracto genital de la hembra. Además, abre un importante camino de estudio sobre detalles específicos de cada especie en los procesos de inmunomodulación. De este modo, la comparación de los estudios proteómicos de los espermatozoides ovinos respecto a los perfiles proteicos de células espermáticas de otras especies muestra semejanzas del 88% con espermatozoides humanos, 65% con el del toro, 60% con el del caballo y 40% con el del gallo. Adicionalmente, el 95% de las proteínas encontradas se puede encontrar en al menos una especie de las antes mencionadas (Pini et al., 2016).

En cuanto a la interacción con la zona pelúcida, la pérdida de colesterol y la remodelación lipídica que se da en la membrana durante la capacitación hacen que ésta sea más fluida, debido a la ruptura de la unión de las caveolinas con las proteínas de fusión. Al quedar libres, las proteínas de fusión forman complejos de señalización de fusión de membranas, lo que se conoce como reacción acrosomal (Olivera et al., 2006).

Las interacciones entre el espermatozoide y el ovocito están reguladas por tres glicoproteínas de reconocimiento en la zona pelúcida, comunes en la mayoría

de mamíferos: glicoproteína 1 o ZPI (ZPB), ZP2 (ZPA) y ZP3 (ZPC) (Brewis & Wong, 1999; Wassarman et al., 2004). Sin embargo, no se tiene certeza total sobre las proteínas involucradas en este proceso en la especie ovina (Flesch & Gadella, 2000).

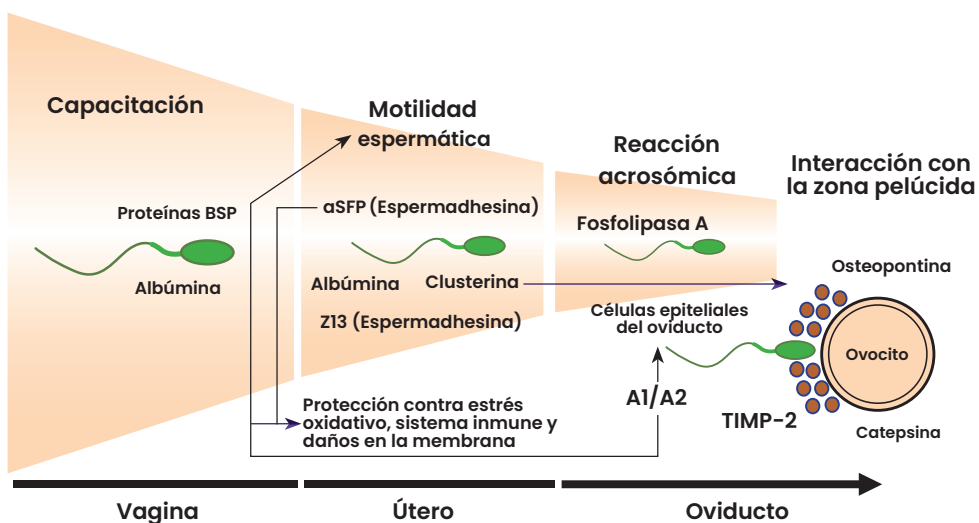
Es interesante que, además de proteínas propias de la membrana, los estudios proteómicos muestran la presencia de familias importantes de proteínas del plasma seminal en espermatozoides eyaculados. Proteínas como las espermadhesinas o las BSP (binder sperm proteins) se unen al espermatozoide durante la eyaculación; estas últimas se han relacionado con la remodelación lipídica de la membrana plasmática en los procesos de capacitación espermática.

Proteínas del plasma seminal

Los espermatozoides maduros son células altamente especializadas cuyo objetivo único es la fecundación del ovocito. Sin embargo, para lograr su objetivo, el espermatozoide debe sufrir procesos de reconfiguración que lo habilitan para atravesar la matriz extracelular que rodea el ovocito: la zona pelúcida (Luna et al., 2015). A pesar de que el espermatozoide no tiene la capacidad para sintetizar proteínas por la pérdida de los organelos durante la espermatogénesis, las células espermáticas tienen una actividad transcripcional residual, lo que hace que puedan responder a señales exógenas mediante la activación de proteínas a través de modificaciones postranslacionales (O'Flaherty et al., 2006).

Figura 9

Esquema de la función especializada de las proteínas del plasma seminal y su papel desde la eyaculación hasta la interacción con la zona pelúcida



Nota. Adaptado de Moura et al. (2007).

Parte de esta activación exógena proviene del plasma seminal, que actúa como un modulador de la funcionalidad espermática y contribuye a que se lleven los diferentes procesos de reconfiguración espermática necesarios para la fecundación. Así las cosas, las proteínas contenidas en el plasma seminal influyen de manera directa sobre el espermatozoide, influencia que depende del momento y el lugar en donde se encuentre (Figura 9).

Las proteínas del plasma seminal pertenecen fundamentalmente a dos familias: las espermadhesinas (moléculas multifuncionales) y un grupo con dominio fibronectina tipo II, mayoritariamente predominantes, representadas por las BSP (iniciales del término en inglés binder sperm proteins) (Moreau et al., 1998); tales proteínas son producidas principalmente en vesículas seminales de toro (Manjunath & Sairam, 1987), cabra (Villemure et al., 2003), jabalí (Calvete, Raida, et al., 1997), búfalo (Arangasamy et al., 2005), carnero (Bergeron et al., 2005), y por el epidídimo en ratas y humanos (Leblond et al., 1993).

Estas proteínas se unen al espermatozoide al momento de la eyaculación para estabilizar la membrana; actúan como un factor decapacitante, lo que previene un gasto energético prematuro. En una fase siguiente, participan en las modificaciones de la membrana espermática, necesarias para que el acrosoma reaccione (Desnoyers et al., 1994; Desnoyers & Manjunath, 1992; Manjunath et al., 1994; Manjunath & Thérien, 2002; Thérien et al., 1997, 1999).

Asimismo, las BSP A1/A2 se unen a las células epiteliales del oviducto y contribuyen a la formación de reservorios espermáticos (Gwathmey et al., 2003). Estructuralmente, las BSP son de bajo peso molecular (entre 15 y 30 kDa); difieren entre sí por los grados de glicosilación (Manjunath et al., 2009). Estas representan entre el 70% y el 86% de las proteínas totales del plasma seminal; entre la BSP A1 y A2, forman un complejo proteínico denominado PDC-109 (Figura 10). Estas proteínas contienen dos dominios similares (fibronectina tipo II) dispuestos en tándem; cada dominio consta de 38-41 aminoácidos con dos puentes di-sulfuro (Calvete, Mann, et al., 1996; Manjunath & Thérien, 2002).

El peso molecular de estas proteínas va de los 12 kDa a los 16,5 kDa (Manjunath et al., 2009), a excepción de BSP-30 kDa, que tienen un peso entre 28 y 30 kDa (Leblond et al., 1993). Los mecanismos propuestos sobre el modo en que las proteínas BSP participan en la capacitación sugieren eventos de modificación de lípidos de membrana y, a su vez, eliminan el colesterol y los fosfolípidos luego de que se mezclen, en la eyaculación, los espermatozoides y las secreciones de las glándulas accesorias (Manjunath & Thérien, 2002).

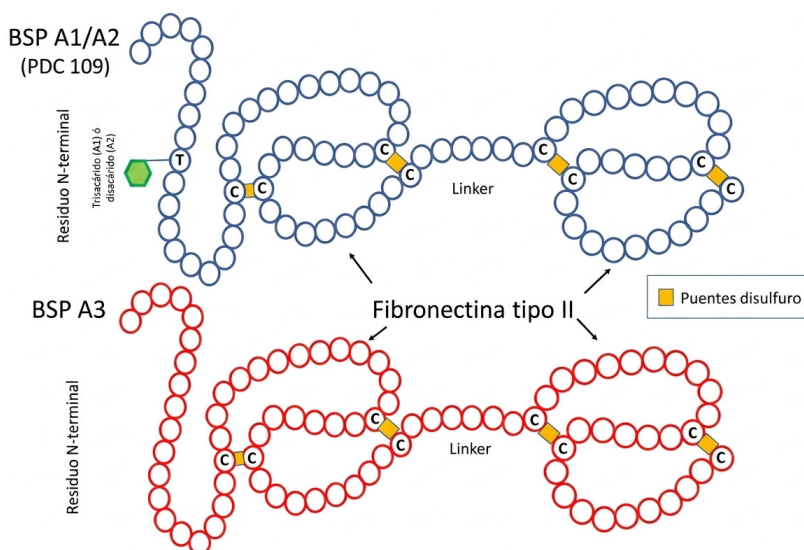
La eliminación de colesterol de la membrana activa los canales de calcio Ca^{++} . El ingreso de Ca^{++} activa simultáneamente la proteína kinasa que fosforila la tirosina, con lo cual permite que esta adquiera la capacidad de unirse al calcio durante la capacitación. El papel que desempeña consiste en secuestrar y liberar calcio, relevante en la regulación de la capacitación y motilidad (Naaby-Hansen et al., 2002; Urner & Sakkas, 2003).

Por otra parte, Luna et al. (2015) evidenciaron que la proteína del plasma seminal ovino RSVP20, un tipo de BSP, juega un papel fundamental en la unión espermatozoide-ovocito en los procesos de fertilización *in vitro*. Igualmente, tiene un efecto de protección contra el choque térmico por frío. En este aspecto, se ha encontrado que adicionar proteínas del plasma seminal (SPP) ovino al medio de criopreservación de espermatozoides mejora los porcentajes de espermatozoides viables y móviles post descongelación (J. A. Cardozo et al., 2006).

El contenido proteínico del plasma seminal tiene una estrecha relación con los patrones de fertilidad normales (Ax et al., 1985; Nass et al., 1990). Además, cuenta con la capacidad de las células para mantener su integridad y funcionalidad después del estrés que supone una criopreservación (Roncoletta et al., 1999). Se ha descrito que las proteínas del plasma seminal pueden actuar como agentes protectores del espermatozoide contra choques térmicos por frío (Pérez-Pé et al., 2001).

Figura 10

Estructura lineal de BSP-A1/-A2



Incluso, pueden revertir los daños sufridos por la célula por efecto de la disminución dramática de la temperatura en los procesos de criopreservación (B. Barrios et al., 2000; Rueda et al., 2013). Algunos de estos componentes ayudan a la exocitosis (pérdida de membrana), mientras que otros están relacionados con la estabilización de la membrana gracias a su capacidad de adsorción a ella (B. Barrios et al., 2000; García-López et al., 1996).

Por otro lado, las espermadhesinas también se unen al espermatozoide durante la eyaculación. Estos polipéptidos de 12 a 14 kDa poseen la propiedad de adherirse a la superficie del espermatozoide (Haase et al., 2005; Töpfer-Petersen et al., 2009). Han sido identificadas en plasma seminal porcino como AWN, AQN-1, AQN-3 (Calvete, Ensslin, et al., 1997) o PSPI/PSP-II (Varela et al., 1997); en bovinos, como aSFP o precursor de la espermadhesina 1 (Wempe et al., 1992) y espermadhesinas Z13 (Tedeschi et al., 2000); en equinos, como HSP-7 (Reinert et al., 1997); en ovinos, como espermadhesina de 15,5 kDa (B. Barrios et al., 2000; Rueda et al., 2013); y en caprinos, como bodhesinas (Melo et al., 2008).

Son proteínas que evidencian propiedades de unión a carbohidratos y zona pelúcida (Calvete, Carrera, et al., 1996; Calvete et al., 1995; Dostalova et al., 1995). Se cree que desempeñan un papel fundamental como moléculas de adhesión primaria en los primeros pasos de la fertilización, relacionadas principalmente con el reconocimiento de gametos y la unión de espermatozoides y ovocitos (Romão et al., 1997).

Por su condición de proteínas multifuncionales tipo lectinas, presentan una gran capacidad de unión a diversas biomoléculas como glúcidos, fosfolípidos, inhibidores de proteasas. Indican la posible implicación en diversas fases del almacenamiento espermático y la fertilización. Las propiedades de unión a carbohidratos son atribuidas a un dominio funcional denominado CUB (C1r/C1s), variante del dominio CRD, presente en la mayoría de las lectinas (Töpfer-Petersen et al., 2009).

Aproximaciones en el proteoma de los testículos

En los machos, los testículos producen los espermatozoides y secretan andrógenos, involucrados en un sinnúmero de procesos fisiológicos. Estos procesos requieren una regulación precisa y oportuna de múltiples factores dentro de los cuales las proteínas tienen un papel fundamental (Lu et al., 2018). Aunque la relevancia de estos factores es reconocida por científicos y académicos, los estudios en testículos han sido principalmente enfocados en los aspectos fenotípicos, histológicos y genéticos; mientras, los estudios proteómicos han sido objeto de investigaciones más recientes y carecen de generalizaciones, pues se han desarrollado para razas específicas.

Adicionalmente, la abundante cantidad de proteínas, así como sus interacciones y modificaciones postraduccionales, hacen que el complejo sistema proteómico de los testículos sea un tema difícil de abordar. A pesar de esto, algunas aproximaciones se han hecho usando testículos de ovinos han de cola corta en China. En estos estudios, se han evaluado geles bidimensionales para identificar proteínas que pueden estar relacionadas con el desempeño reproductivo de los machos de esta raza (Lu et al., 2018). Los perfiles proteicos identificaron alrededor de 45 proteínas en diferentes abundancias relativas, las cuales se relacionaron, en su mayoría, con procesos metabólicos y señalización celular.

Dado que una función testicular normal envuelve una enorme cantidad de procesos metabólicos (Agarwal et al., 2003), cobran una mayor importancia las proteínas relacionadas con la glucólisis, gluconeogénesis, síntesis de ácidos grasos y otros procesos metabólicos para generar energía (Lu et al., 2018). En esta línea, proteínas como la TPIII y la apolipoproteína I (ApoA-I), ampliamente relacionadas con ciclos metabólicos, se encontraron en cantidades significativas cuando se analizaron los testículos de los animales antes mencionados. Lo anterior cobra significancia si se tiene en cuenta la enorme cantidad de energía que se requiere para crear y madurar una célula especializada del tamaño de las células espermáticas.

En ese aspecto, proteínas como la cofilina 1 (CFL1) están presentes en células sustentaculares (de Sertoli), espermatogénicas y tejidos no musculares. Se ha determinado que la sobreexpresión de CFL1 resulta en una disminución dramática en los conteos de células espermáticas (Guttman et al., 2004). Más aún, la proteína eIF5A promueve la transición del G1 a S en el ciclo celular, lo cual está relacionado con la proliferación, la diferenciación y la apoptosis (Chen et al., 1996).

Los estudios han demostrado que la inhibición de IF5A resulta en una supresión total de la división celular en mamíferos (Nishimura et al., 2002). Otras proteínas como la histona H1 y la proteína ribosomal RPS12 están relacionadas con el crecimiento de algunos órganos, el desarrollo y la senescencia. Su presencia en diferentes cantidades está muy relacionada con el desarrollo testicular y la espermatogénesis.

Otro aspecto relevante en la formación y maduración espermática es la relacionada con las reacciones redox que se dan a nivel intracelular. En este sentido, un gran número de enzimas antioxidantes son requeridas con el fin de mantener la homeostasis y la función celular; por ejemplo, la glutatión-S transferasa de la membrana celular de las células del epidídimo, que protege las células espermáticas neutralizando las especies reactivas de oxígeno (ROS) provenientes de estímulos externos (McMahon et al., 2006).

Proteínas como el superóxido dismutasa 3 (EC-SOD3) o la subunidad 5 de la Citocromo Oxidasa C presentes en las células testiculares tienen una actividad antioxidante importante y pueden mejorar la actividad espermática mediante la reducción de la peroxidación lipídica. Otras proteínas, como la heat shock protein beta-1 (HSPB1) y la thioredoxina (TXN), se han encontrado en las espermatogonias y se sabe que están envueltas en la formación estructural de los espermatozoides, por lo cual tienen una gran relevancia en los procesos de espermatogénesis (Franck et al., 2004).

Estudios proteómicos en fluido folicular de ovejas

Estudios proteómicos en fluido folicular de ovejas

En ovinos, la ciclicidad reproductiva está fuertemente influenciada por el fotoperíodo, ya que durante los meses de otoño e invierno (noches largas), la mayor secreción de melatonina estimula el inicio de la actividad ovárica, mientras que en primavera y verano (días largos) ocurre anestro estacional, caracterizado por ausencia de ciclicidad folicular. Este patrón estacional es clave para entender las variaciones en el proteoma del fluido folicular, ya que los perfiles proteómicos pueden variar de acuerdo con la fase del ciclo estral y la época del año (Ramírez Ramírez et al., 2021).

Además de los estudios proteómicos en diferentes fluidos y tejidos hechos en machos ovinos, los aspectos reproductivos de la hembra también han sido objeto de investigaciones proteómicas. Sin embargo, las dificultades en la toma de las muestras y en la disponibilidad de material biológico (p. ej. ovocitos) hacen que los trabajos sobre las proteínas del material biológico de la hembra sean más reducidos. Al respecto, uno de los fluidos que más se ha estudiado es el que está contenido en los folículos ováricos.

El fluido folicular otorga el microambiente necesario para el desarrollo de los ovocitos. Se acumula durante la formación de la cavidad antral por la actividad secretora de las células de la teca y la granulosa (Paula Junior et al., 2018). Esta secreción tiene gran importancia en la maduración del ovocito. Se ha determinado que, además de la información genética y morfológica, el proteoma del fluido folicular puede dar información muy relevante sobre los factores que influyen en el potencial reproductivo del gameto (Powell et al., 2010).

De igual manera, el conocimiento sobre las proteínas contenidas en el fluido folicular puede dar una idea clara de los mecanismos de crecimiento y maduración del ovocito, lo cual cobra importancia en el desarrollo de medios y protocolos para fertilización *in vitro*.

Varios estudios se han enfocado en identificar proteínas específicas del fluido folicular de algunas especies como la bovina (Maniwa et al., 2005), porcina (Bijttebier et al., 2009), canina (Fahiminiya et al., 2010), equina (Fahiminiya et al., 2011), humana (Ambekar et al., 2013), caprina (Paula Junior et al., 2018) y ovina (Souza et al., 1998; Tisdall et al., 1994). En dichos estudios, proteínas como el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1), factor alfa de necrosis tumoral (TNF α), interleukina-6 (IL-6), vimentina y peroxiredoxina han sido, de alguna forma, relacionados con la competencia y desarrollo de los ovocitos y, en consecuencia, con el potencial reproductivo de la hembra.

Adicionalmente, varias investigaciones han demostrado que el fluido folicular inhibe la maduración del ovocito y el desarrollo embrionario in vitro (Wang et al., 2006). Dado esto, se ha planteado que la composición proteica del fluido folicular puede ser usada como un indicador de la actividad secretora y metabólica de las células de la teca y de la granulosa, las cuales regulan la calidad del folículo (Kim et al., 2013). Por ello, el análisis proteómico puede dar una idea más clara y profunda de los mecanismos por los cuales se produce la foliculogénesis.

Así es que proteínas como la inhibina tipo A se han relacionado con parámetros como el tamaño del folículo. En las ovejas, el crecimiento folicular se produce en una serie de ondas a través del ciclo reproductivo de la hembra. Se ha determinado que la emergencia de estas ondas está relacionada con un incremento en la concentración de hormona foliculoestimulante (FSH) (Bartlewski et al., 1999). Sin embargo, la regulación de este mecanismo requiere de un control muy fino que depende de otros factores ováricos (Findlay, 1993).

Dentro de estos, una glicoproteína gonadal, conocida como la inhibina, se ha asociado no solo con el tamaño del folículo, sino además con el contenido de estradiol (Shidaifat, 2001). Por esa razón, se ha sugerido que ambos factores podrían considerarse marcadores del desarrollo folicular y la diferenciación celular. La inhibina es un heterodímero compuesto por una subunidad α unida por puentes di-sulfuro, bien sea a una subunidad β tipo A o B, formando dímeros biológicamente activos (Burger, 1988).

Aunque en oveja, el RNA mensajero se expresa específicamente por células de la granulosa en folículos en desarrollo de ovejas saludables se ha encontrado cantidades importantes de inhibina A de forma circulante lo que sugiere cierto rol en la regulación de la función ovárica. Al respecto, se ha determinado también que la inhibina A no tiene efectos sobre la capacidad estrogénica de las células de la granulosa, por lo que puede ser un modulador de la secreción de FSH o un modulador paracrino de la producción androgénica en las células de la teca (Shidaifat, 2001).

Otros estudios en ovarios de ovejas han de cola corta en China revelan que las aproximaciones proteómicas pueden ser útiles para determinar mecanismos de hiperproliferidad (Miao et al., 2016). Estos estudios han determinado que los ovarios de dicha raza, con atributos comprobados de fertilidad mayor respecto a otras razas, tienen proteínas en mayor abundancia relacionadas con las vías de la oxidación en la mitocondria, como la NADH deshidrogenasa, la ATPasa tipo F, fumarato reductasa y el citocromo oxidasa. Lo anterior adquiere significado si se tiene en cuenta que el metabolismo de los carbohidratos y la oxidación lipídica son esenciales para la fertilidad.

Conclusiones

Conclusiones

El uso de las herramientas de análisis proteómico en la reproducción animal ha permitido ampliar el conocimiento de los fenómenos que la gobiernan desde una perspectiva molecular. En la búsqueda de biomarcadores relacionados con aspectos de la fisiología reproductiva, la proteómica ha favorecido comprender los mecanismos involucrados en muchos de los fenómenos fisiológicos relacionados con el funcionamiento y la calidad de los gametos.

Con ello, el análisis de las proteínas involucradas en todos los procesos que se llevan a cabo desde la producción de las células germinales hasta la fusión de los gametos cobra especial valor en dos sentidos. El primero, como herramienta diagnóstica para identificar tempranamente individuos de alta y baja fertilidad. El segundo, como oportunidad de desarrollo tanto de herramientas para solucionar los problemas reproductivos como de elementos para optimizar procesos de biotecnología reproductiva como la criopreservación de espermatozoides, la fertilización in vitro y la producción de embriones.

Al respecto, las investigaciones alrededor de esta temática coinciden en la necesidad de establecer redes o conjuntos de proteínas relacionadas con el funcionamiento y la fertilidad del espermatozoide, la búsqueda de biomarcadores para seleccionar machos fértiles, identificar y usar proteínas relacionadas con la protección del espermatozoide ante eventos estresantes, y el uso de proteínas en procesos biotecnológicos. Estos trabajos de investigación tenderán a convertirse en tecnologías al servicio de los productores para incrementar tasas reproductivas a través de la selección adecuada de sus reproductores y de la implementación de biotecnología desarrollada y adaptada a sus propias necesidades.





Capítulo 4

Proteínas del plasma seminal y antioxidantes

Introducción

La presencia de reproductores infértiles y subfértiles afecta gravemente la eficiencia reproductiva de la empresa ganadera ovina. Los avances de la biotecnología han permitido encontrar una serie de explicaciones a aspectos claves del proceso de fecundación, que pueden generar los ajustes necesarios para garantizar el éxito reproductivo de la empresa.

Los trabajos con fertilización *in vitro* permitieron develar los principales aspectos que acompañan el proceso de la fecundación del óvulo por el espermatozoide, así como también comprender aspectos relacionados con el funcionamiento espermático. Se sabe ahora que una célula tan especializada como el espermatozoide tiene funciones dirigidas a garantizar el éxito de la fecundación. Estas funciones están relacionadas con moléculas específicas, entre las que se encuentran proteínas, lípidos y iones, que interactúan entre sí para garantizar el correcto funcionamiento del espermatozoide.

Diversas herramientas biotecnológicas permitieron establecer sitios donde moléculas como las proteínas ejercían su acción, ya sea a nivel de la membrana espermática, la mitocondria o la cola. Algunas de estas proteínas estaban contenidas en estructuras especiales como el acrosoma, de donde salen al momento de la capacitación espermática, justo en el instante del encuentro con el óvulo, para penetrar la zona pelúcida e iniciar la fecundación. Otro aspecto, no menos importante, se relaciona con la existencia de enzimas antioxidantes en el plasma seminal, que aseguran un estado de equilibrio con las ROS, producto del metabolismo del espermatozoide, para garantizar su normal funcionamiento (Gibb et al., 2021).

En este escrito, se resalta cómo el avance de la biotecnología ha permitido desarrollar una serie de pruebas a nivel molecular que explican aspectos claves en predecir la fertilidad de una muestra seminal y, por tanto, se convierten en herramientas más sensibles en predecir el potencial fértil de un reproductor.

Examen andrológico y fertilidad del reproductor

El ingreso del macho al programa reproductivo empieza con el examen andrológico una vez que se ha elegido la raza apropiada en las condiciones ambientales donde se va a explotar, y después de pasar por chequeos sanitarios que confirmen que están libres de enfermedades reproductivas. El examen andrológico tiene como fin aceptar o rechazar la presencia del macho en el rebaño. Es importante que el animal no tenga problemas de aplomos y que presente un dorso fuerte. Debe evaluarse en este momento su deseo de cópula ante la presencia de una hembra en celo. No menos importante es evaluar el tracto reproductivo, pues su correcto funcionamiento incide en la eficiencia reproductiva del animal.

Análisis convencionales de la calidad seminal

La calidad seminal comprende atributos determinantes para la funcionalidad y capacidad fecundante del espermatozoide. Por ello, las investigaciones en este campo se han orientado al desarrollo de pruebas de laboratorio cada vez más sensibles y objetivas, capaces de estimar con mayor precisión el potencial fértil del eyaculado. Sin embargo, los parámetros convencionales de evaluación seminal analizan atributos celulares específicos y presentan una capacidad limitada para predecir la fertilidad de manera aislada. En consecuencia, se recomienda emplear pruebas complementarias que evalúen distintos aspectos estructurales y funcionales del espermatozoide, con el fin de obtener una aproximación más confiable de su capacidad fecundante (Rodríguez-Martínez, 2003; Sanyal et al., 2024) (Tabla 3).

Tabla 3

Parámetros de calidad seminal en ovinos de pelo de la raza criolla colombiana

Parámetro	Promedio/desviación
Volumen eyaculado (ml)	0,66±0,33
Motilidad masal (%)	78,48±11,5
Motilidad individual (%)	62,92±11,7
Vigor (1-5)	4,11±0,87
Concentración Espermática (1x10 ⁶ spz/ml)	3566,6±1658,1
SPZ membrana Integra%	60,43±12,08
SPZ normales %	74,52±15,42

Nota. Tomado de los resultados del proyecto “Modelo Conservación uso Sustentable en Ovinos de Pelo”, AGROSAVIA, C. I. Nataima-Minciencias, 2019.

De los trabajos adelantados por diversos investigadores, se ha establecido que algunas características seminales tales como motilidad masal e individual, porcentaje de espermatozoides vivos y anormales, pueden considerarse como compensables, en razón de que basta colocar mayor número de espermatozoides al momento de emplear la inseminación artificial para alcanzar el objetivo, pues solo un espermatozoide fertiliza el óvulo. Contrario a lo anterior, existen características espermáticas determinantes en la fecundación como el estado del acrosoma espermático, el daño del DNA, el estado mitocondrial y la presencia o ausencia de proteínas y enzimas antioxidantes tanto a nivel del plasma seminal como del espermatozoide. A estas se les ha calificado como no compensables; es decir, la fecundación no se da ante la falla en una de estas características (Perry, 2021).

La motilidad está relacionada con el estado de la mitocondria y con la presencia o no de anomalías en la cola del espermatozoide (Paoli et al., 2011). El porcentaje de espermatozoides motiles, como se argumentó, no predice eficientemente la fertilidad de una muestra seminal. Se ha observado, por un lado, que muestras seminales con alta motilidad no siempre presentan buenas tasas de fecundación; por el otro, que el dato solo es válido para un eyaculado, y no puede tomarse por sí solo para decidir sobre la fertilidad del animal, pues esta puede cambiar en otro eyaculado del mismo animal (Yoshida et al., 2008).

Por otra parte, las anomalías morfológicas presentes en la cabeza del espermatozoide son limitantes para su unión con la zona pelúcida del óvulo y, por tanto, provocan fallas en la fecundación. No obstante, el porcentaje de espermatozoides

con anomalías morfológicas y motiles no predicen la fertilidad del semen (Menon et al., 2011).

Debe anotarse también que la evaluación de estas características tiene un alto grado de subjetividad, por lo cual es muy importante la experiencia del evaluador. Dado esto, se han desarrollado equipos de microscopía que, unidos a la computación, logran mayor objetividad, procedimiento que se conoce como análisis seminal asistido por computador (CASA).

Integridad de la membrana espermática. Dada la importancia que representa la presencia de una membrana espermática íntegra y funcional para el éxito de la fecundación del ovocito, se han empleado tinciones fluorescentes con el fin de determinar su integridad. Una de las técnicas mezcla el yoduro de propidio y el diacetato de carboxifluoresceína, de tal forma que el espermatozoide que toma coloración roja indica daño de la membrana; y el que toma coloración verde, una membrana intacta.

Otra técnica empleada para analizar la integridad de la membrana se conoce como el test de equilibrio osmótico, el cual mide la habilidad del espermatozoide para resistir a cambios osmóticos. Si la membrana plasmática está íntegra y funcional, el espermatozoide se expande a medida que entra el agua a la célula para mantener el equilibrio osmótico. Con estas dos pruebas, se gana en objetividad, pero, tal como pasa con los dos primeros análisis, no tienen en cuenta aspectos fundamentales en el éxito de la fecundación como la capacitación y la reacción del acrosoma.

Pruebas de funcionalidad espermática

Ante el hecho de que los análisis de calidad seminal, en ocasiones, no se correlacionan con la fertilidad de una muestra seminal, y de los avances en la técnica de fertilización in vitro de ovocitos, se empezaron a utilizar dos pruebas de laboratorio. La primera envolvió la fusión entre los dos gametos; se denominó la prueba de penetración espermática de ovocitos. La segunda prueba consistió en la inducción in vitro de la reacción del acrosoma del espermatozoide.

La prueba de fertilización in vitro de ovocitos es, tal vez, la más relevante para evaluar la capacidad fecundante del espermatozoide. Sin embargo, la correlación con los resultados de fertilidad in vivo no ha sido convincente; en muchas ocasiones, los resultados en toros han sido inconsistentes (B. R. Zhang et al., 1999). Esta prueba consume tiempo y es costosa, por lo que ahora no es común realizarla. Además, al ser una prueba in vitro, no tiene en cuenta aspectos relacionados con el paso del espermatozoide a través del tracto genital femenino.

En el caso de la inducción in vitro de la reacción acrosómica, es una prueba estándar para evaluar la competencia e integridad del acrosoma espermático. Se aprovecha el hecho de que el espermatozoide debe llegar con su membrana plasmática íntegra al sitio de la fecundación y alcanzar la reacción de su acrosoma ante la presencia del óvulo, para que el contenido de enzimas presente en él sea liberado y se fusione con el óvulo.

Esta prueba es mucho más fácil y rápida que la anterior. Consiste en aplicar heparina e inducir el proceso que resulta en la reacción acrosómica, caracterizada por la exocitosis de las enzimas hidrolíticas contenidas en el acrosoma; estas facilitan la penetración del ovocito por el espermatozoide. Aunque se puede aplicar para observar alteraciones estructurales, la prueba se limita a las células espermáticas. Los aspectos relacionados con el óvulo se asumen, dado que éste no está presente en su realización.

Estas dos pruebas se usan ahora más en investigación como complemento a los análisis rutinarios de calidad espermática, y cuando quieren descartarse problemas a nivel del acrosoma. Un aspecto que no puede remediarse es el daño de la estructura de la cromatina del espermatozoide, debido a que este defecto se adquiere en el momento de la espermatogénesis y durante la maduración del espermatozoide. Esto provoca aberraciones en la estructura de la cromatina, que solo se manifiesta hasta cuando ocurre la fusión del espermatozoide y el ovocito.

La evaluación de la estructura de la cromatina se ha correlacionado altamente con la fertilidad del espermatozoide en el bovino, cerdo y ovino. Esta prueba, junto a la del estado mitocondrial y del acrosoma, debe ser incluida como rutinaria en los laboratorios de andrología, al momento de seleccionar un macho para el programa reproductivo de la empresa ganadera.

La era molecular y la evaluación de la fertilidad del espermatozoide

Como se mencionó anteriormente, los parámetros convencionales para evaluar la calidad seminal (motilidad, viabilidad y morfología espermática) evidencian un valor limitado para predecir la fertilidad del reproductor. Sin embargo, se siguen empleando, y se ha prestado poca atención a parámetros de funcionalidad espermática; menos aún, en la presencia de marcadores de fertilidad, tales como antioxidantes y proteínas en el plasma seminal y el espermatozoide de aquellos animales que se usan en los programas reproductivos.

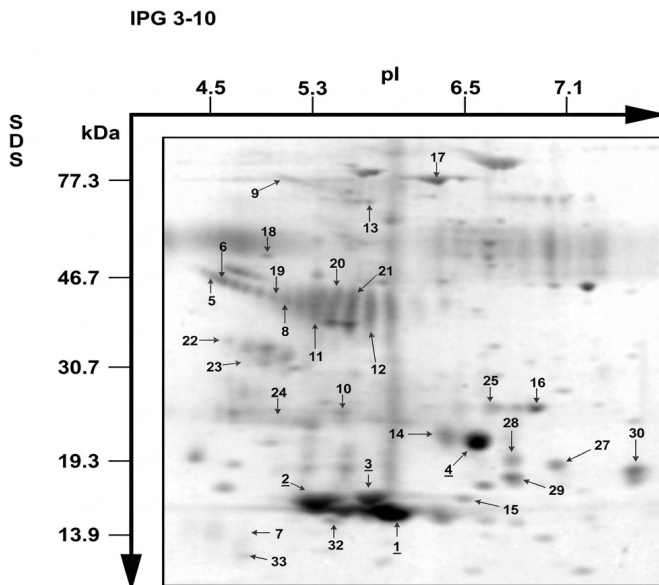
Biomarcadores de fertilidad

Con el desarrollo de la proteómica (otra de las áreas de la biología molecular), se descubrió el papel que desempeñan las proteínas del plasma seminal y de la membrana espermática en el funcionamiento del espermatozoide. Varias de estas proteínas se han propuesto como biomarcadores de la fertilidad del macho. Mientras algunas de ellas cumplen funciones vitales para la célula, otras son indicadoras de problemas ocurridos durante la espermatogénesis o en la maduración del espermatozoide.

Proteínas del plasma seminal y la fertilidad del reproductor. El plasma seminal es una mezcla de secreciones procedentes de varias glándulas del aparato reproductor masculino, en especial, del epidídimo y las glándulas sexuales accesorias. Sirve como medio de transporte para el espermatozoide. Tiene un rol fundamental en su maduración, por lo que se convierte en modulador de su función (Moura et al., 2007).

Figura 11

Mapa bidimensional de proteínas del plasma seminal de ovinos de la raza española rasa aragonesa



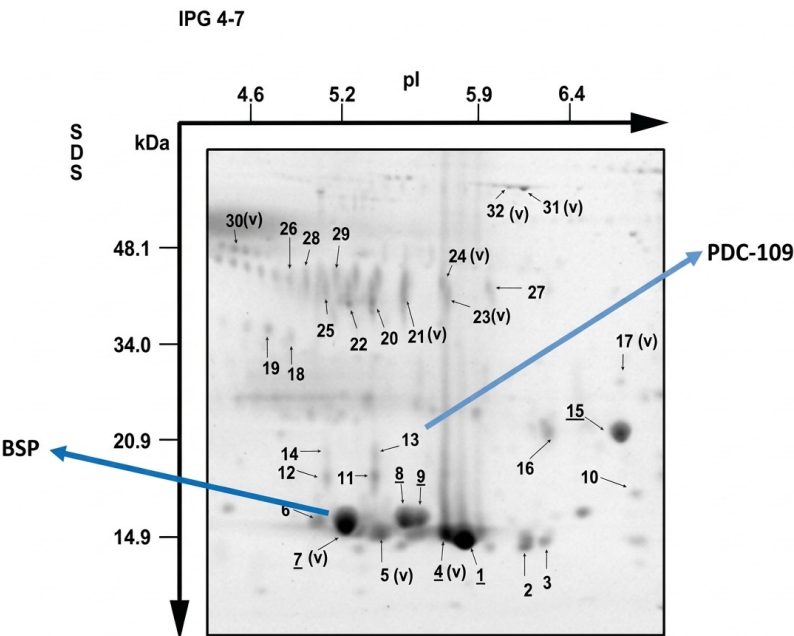
Nota. Cada mancha corresponde a un punto de proteína. Los puntos subrayados corresponden al grupo de mayor concentración en el plasma seminal. Al lado izquierdo, se muestra el valor aproximado del peso molecular. En la parte superior, el valor aproximado del punto isoeléctrico. Tomado de Cardozo et al. (2006).

Los trabajos con el proteoma del plasma seminal ovino evidenciaron la presencia de proteínas relacionadas con variables de calidad seminal del eyaculado (motilidad e integridad de la membrana espermática) y cuya concentración varía por efecto de la estación climática o con la estación de apareamiento (Figura 11). Dentro de las proteínas del plasma seminal, se destaca un grupo conocido como BSP o proteínas del plasma seminal procedentes de las vesículas seminales.

Estas proteínas tienen diversas funciones, las cuales se activan sincronizadamente, de acuerdo con el momento de la fecundación. Se ha establecido que, al momento de la eyaculación, ocupan espacios en la membrana del espermatozoide, con lo cual previenen una prematura reacción del acrosoma espermático (Figura 12) (Moura et al., 2007; Rego et al., 2016).

Posteriormente, las proteínas se unen a las células epiteliales del oviducto y contribuyen a la formación de los reservorios oviductales espermáticos, con el fin de que guarden energía para alcanzar la zona pelúcida del ovocito. A continuación, estas abandonan los sitios que han ocupado en la membrana espermática, llevan

Figura 12
Proteínas del plasma seminal ovino provenientes de la vesícula seminal (BSP y PDC-109), determinadas por secuenciación de novo



Nota. Tomado de Cardozo et al. (2006).

consigo lípidos y provocan la desestabilización de la membrana del espermatozoide (capacitación espermática). Su fin es dejar al descubierto los receptores que reconocen la zona pelúcida del ovocito e iniciar la unión de las dos células y la reacción del acrosoma espermático, evento clave para que se inicie la fecundación del ovocito (Dostalova et al., 1995).

Relación entre las bandas de proteínas y los parámetros de calidad seminal

Como se comentó anteriormente, investigaciones a nivel internacional han establecido que existen relaciones entre proteínas del plasma seminal y los parámetros de calidad seminal (Fernández et al., 2022; Patel et al., 2016; Willforss et al., 2021). En este sentido, en animales de la raza criolla de pelo, se evidenciaron correlaciones positivas y negativas entre 13 bandas de proteínas con pesos moleculares (de 11, 13, 17, 21, 27, 28, 49, 55, 64, 72, 100, 145 y 230 kDa), entre los parámetros de motilidad individual y porcentaje de espermatozoides normales, porcentaje de espermatozoides con acrosoma íntegro y porcentaje de espermatozoides con acrosoma reaccionado (Tabla 4).

Estos resultados muestran el papel de las proteínas del plasma seminal en el normal funcionamiento del espermatozoide, pues la presencia o ausencia de proteínas específicas, y en momentos concretos del proceso de fecundación, pueden incidir en el éxito de la fecundación del ovocito por el espermatozoide y, por tanto, incidir en la eficiencia reproductiva del hato.

Efecto de la edad del animal en la expresión de proteínas del plasma seminal

Investigaciones en el nivel internacional han demostrado diferencias en el perfil de proteínas del plasma seminal por efecto de la edad del individuo (Tvrdá et al., 2025). En trabajos realizados con plasma seminal de ovinos criollos de pelo en el C. I. Nataima, a través del desarrollo del proyecto “Modelo conservación uso sustentable en ovinos de pelo”, mediante electroforesis unidimensional, se evidenció la presencia de 30 bandas de proteínas con pesos moleculares entre 10 y 230 kDa, en animales mayores de 1,5 años, mientras que en los animales menores de 1,5 años se detectaron 37 bandas, con pesos moleculares entre 11 y 230 kDa. Asimismo, se evidenció que existe variación en la concentración de 5 bandas de proteínas (13, 20, 21, 27, 55 y 120 kDa) en función de la edad de los animales (Tabla 5).

Tabla 4

Porcentajes de correlación entre bandas de proteína del plasma seminal y motilidad individual

Banda de proteína	Motilidad individual	% espermatozoides normales	% de espermatozoides con acrosoma íntegro	% de espermatozoides con acrosoma reaccionado (REAC)
230			$r = 0,402, p < 0,015$	
145		$r = -0,670, p < 0,000$	$r = 0,866, p < 0,000$	
400		$r = -0,776, p < 0,000$	$r = 0,735, p < 0,000$	
72	$r = -0,342; p < 0,04$	$r = -0,765, p < 0,000$	$r = 0,903, p < 0,000$	$r = 0,459, p < 0,005$
64		$r = -0,583, p < 0,000$	$r = 0,791, p < 0,000$	
55	$r = -0,034; p < 0,04$			
49		$r = -0,404, p < 0,014$	$r = 0,451, p < 0,006$	
28			$r = 0,504, p < 0,002$	
27		$r = -0,685, p < 0,000$	$r = 0,764, p < 0,000$	
21		$r = -0,667, p < 0,000$	$r = 0,789, p < 0,000$	$r = 0,440, p < 0,007$
17		$r = -0,399, p < 0,016$	$r = 0,497, p < 0,000$	
13		$r = -0,704, p < 0,000$	$r = 0,930, p < 0,000$	$r = 0,453, p < 0,005$
11		$r = -0,485, p < 0,003$	$r = 0,721, p < 0,000$	

Nota. Tomado de los resultados del proyecto “Modelo Conservación uso Sustentable en Ovinos de Pelo”. AGROSAVIA C. I. Nataima-Minciencias (2019).

Tabla 5

Valores de concentración de las bandas de proteínas del plasma seminal de ovinos criollos de pelo que variaron en función de la edad del animal

Banda	Mayor a 1,5 años	Menor a 1,5 años	t-value	df	P
	Media/ Desviación	Media/ Desviación			
120	2,3±0,5	2,9±0,6	-2,89541	26	0,007575
55	7,8±3,5	4,2±1,3	3,18575	18	0,00512
27	2,3±0,7	3,3±0,7	-2,40329	20	0,026068
21	9,1±2,5	5,3±2,2	3,24987	18	0,004447
20	10,1±2,5	12,2±1,4	-2,72939	30	0,010512
13	24,8±8,7	15,6±6,6	3,35954	31	0,002083

Nota. Tomado de resultados del proyecto “Modelo Conservación uso Sustentable en Ovinos de Pelo”. AGROSAVIA C. I. Nataima-Minciencias (2019).

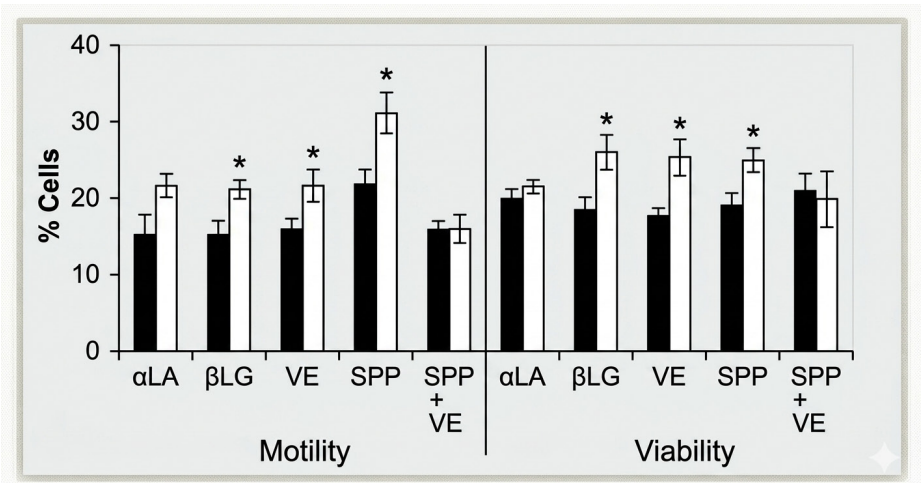
La diferencia en el número de bandas proteicas detectadas y en la concentración de algunas proteínas según la edad de los animales sugiere cambios asociados con la maduración funcional del aparato reproductor y de las glándulas sexuales accesorias. Este comportamiento ha sido descrito en ovinos, en los que el perfil proteico seminal varía durante el proceso de pubertad y maduración sexual, así como en bovinos, en los que la edad influye sobre la composición bioquímica y proteica del plasma seminal y sobre la calidad espermática (Liliana J. Chacón et al., 2023; Souza et al., 2009).

Adición de proteínas de plasma seminal a medios de criopreservación

Un aspecto interesante en relación con el uso de proteínas del plasma seminal tiene que ver con el efecto de su adición a medios de criopreservación de espermatozoides. Tal adición se dio en razón de que algunas de ellas se relacionaron de forma específica con parámetros de calidad seminal fundamentales en el funcionamiento del espermatozoide (Barrios et al., 2000; Cardozo et al., 2009a), tales como la motilidad y la integridad de la membrana espermática (Figura 13).

Se ha determinado que adicionar proteínas de bajo peso molecular puede contribuir a reducir los efectos adversos de la criopreservación en la integridad de la membrana del espermatozoide. Esto mejora la calidad espermática y, consecuentemente, la fertilidad después de la inseminación artificial en ovejas (Cardozo et al., 2009a). En igual forma, se ha observado cómo la incubación posdescongelación de espermatozoides con proteínas del plasma seminal de bajo peso molecular revierten el daño ocasionado a la membrana espermática por efecto de la criopreservación (Rueda et al., 2013).

Figura 13
Adición de proteínas del plasma seminal (SPP) ovino al medio de criopreservación



Nota. Tomado de Cardozo (2006).

Estos resultados han ocasionado que se adelanten trabajos de investigación con miras a establecer protocolos de uso de estas proteínas, como aditivos al medio de criopreservación, con el fin de incrementar los valores de calidad seminal poscongelación y elevar de esta forma las tasas de fertilidad al usar semen criopreservado.

Estrés oxidativo y fertilidad del macho

El estrés oxidativo ocurre cuando hay un desequilibrio entre las concentraciones de especies reactivas de oxígeno (ROS) y los antioxidantes que eliminan los radicales libres excedentes. Las ROS, por su parte, son productos naturales del metabolismo celular. En cantidades fisiológicas, son esenciales para el éxito de los procesos del espermatozoide en la fertilización, como la capacitación, la hiperactivación de la motilidad y la reacción acrosómica. Sin embargo, se ha demostrado que el 30-80% de los casos de infertilidad del macho son debidos a daños del espermatozoide mediados por ROS (Dandekar et al., 2002).

Las ROS son considerados una clase de radicales libres debido a que contienen moléculas de oxígeno con uno o más electrones no apareados, lo cual los hace altamente reactivos y susceptibles a la formación de radicales. Con ello, alteran potencialmente las funciones celulares y, así, ponen en peligro la supervivencia de la célula. A su vez, los carbohidratos relacionados con el DNA y los aminoácidos participan en la oxidación de los lípidos de la membrana espermática (Agarwal et al., 2008).

Las ROS pueden incrementarse durante procesos infecciosos e inflamatorios del tracto genitourinario, favoreciendo el daño oxidativo en los espermatozoides. Esto ocurre porque los agentes patógenos inducen una respuesta inmunitaria caracterizada por el aumento y activación de leucocitos en el semen. Tanto los leucocitos activados como los propios espermatozoides constituyen las principales fuentes de ROS en el semen eyaculado (Sicherle et al., 2011).

Las ROS pueden causar infertilidad del macho mediante el daño de la membrana espermática o del DNA del espermatozoide. Pueden afectar la motilidad del espermatozoide y su habilidad para fertilizar ovocitos. De otro lado, la fragmentación del DNA puede dañar la contribución genética paterna en el desarrollo del embrión (Sikka, 2001).

En paralelo, el estrés oxidativo ocasiona graves daños a la célula espermática, con subsecuentes caídas en la eficiencia reproductiva del hato. Es ocasionado por diversos agentes; pueden ser de carácter exógeno, endógeno o idiopático. Entre los agentes exógenos, se encuentran los pesticidas y los metales pesados. Estos disminuyen los

niveles de antioxidantes e incrementan el daño oxidativo del ADN en el espermatozoide. En cuanto a los endógenos, se puede mencionar el criptorquidismo, el cual reduce la espermatogénesis. Si la afección es prolongada, se incrementa la producción de ROS, ocurre necrosis de la célula germinal y, finalmente, la subfertilidad o infertilidad (Sikka, 2001).

Afectación del estrés oxidativo a los parámetros seminales

Las ROS son generalmente producidos como bioproductos de reacciones enzimáticas en la fosforilación oxidativa, usada para producir energía en forma de ATP. Tales reacciones suceden, generalmente, en la mitocondria; se conoce y localiza en la pieza media del espermatozoide, por lo que son fundamentales en la motilidad espermática. Igualmente, la peroxidación de los lípidos ha sido asociada con disminución de la motilidad espermática (Aitken & Baker, 2013).

Se ha demostrado que el DNA mitocondrial es más susceptible a las mutaciones que el nuclear, con lo cual incrementa la producción de ROS durante el proceso. Elevados niveles de ROS se han relacionado con la liberación de citocromo C, proteína que activa las reacciones apoptóticas, y que se incrementa en machos infértiles. Aunque las mutaciones son menos probables en el DNA nuclear que en el mitocondrial, muchos estudios han demostrado que la producción intrínseca de ROS está altamente relacionada con la fragmentación del DNA nuclear. Asimismo, el daño de DNA nuclear conduce a una pobre formación de blastocistos *in vitro* (Baumber et al., 2003).

Como se sabe, la membrana espermática contiene grandes cantidades de ácidos grasos insaturados que le proporcionan fluidez. Esta característica vulnera al espermatozoide frente al ataque de ROS. De otra parte, el plasma seminal es una fuente importante de antioxidantes, ya que la falta de citoplasma y la compactación del DNA dejan muy poco espacio para la traducción de defensas antioxidantes (Agarwal et al., 2008).

Estrés oxidativo ocasionado por la criopreservación

La criopreservación es un proceso estresante para la célula espermática. Reduce el porcentaje de espermatozoides motiles y conduce a daños en la integridad de la membrana espermática. Por consiguiente, disminuye la fertilidad en los hatos donde se emplea la inseminación artificial. El daño ocasionado al espermatozoide por la criopreservación se debe a tres causas principales: el choque térmico por frío (*cold shock*), el choque osmótico y el estrés oxidativo.

Se denomina *cold shock* al proceso de enfriamiento del espermatozoide antes de la congelación, es decir, cuando la temperatura desciende desde el valor corporal hasta 5 °C, valor cercano al punto de congelación del agua. Durante este proceso, los lípidos de la membrana plasmática del espermatozoide que no están unidos covalentemente a las proteínas de la membrana sufren una transición de líquido a gel, lo que genera una modificación en las proteínas de la membrana (Baumber et al., 2003).

El choque osmótico ocurre cuando la temperatura cae de -5 a -15 °C, y al momento de la descongelación. Si los espermatozoides son enfriados por debajo del punto de congelación, el agua del medio de congelación se congelará y los espermatozoides quedarán suspendidos en una solución altamente concentrada, de tal forma que se crea un gradiente osmótico entre la parte interna y externa del espermatozoide; así, el agua sale de la célula y causa su deshidratación. Si los espermatozoides se enfrían rápidamente, el agua intracelular no puede salir de forma rápida de la célula y se forman cristales de hielo, que afecta la viabilidad del espermatozoide. Si los espermatozoides se enfrían lentamente, el agua continúa saliendo de la célula y se deshidrata.

El proceso de congelación/descongelación conduce a una gran producción de ROS, y es responsable de la disminución de enzimas antioxidantes como el glutatión reductasa (GSH) y la super oxidado dismutasa (SOD) a nivel celular (Alvarez & Storey, 1989). El estrés oxidativo se une a las dos causas de daño del espermatozoide causado por la criopreservación. El estrés oxidativo induce deterioro de la membrana y del ADN en el espermatozoide de mamíferos como el hombre, el caballo, el morueco y el toro. La disminución de la viabilidad del espermatozoide ocasionada por el proceso de criopreservación/descongelación se debe a la producción de ROS: como se mencionó, estos provocan fragmentación del ADN y reducen la motilidad espermática (Baker & Aitken, 2004).

La oxidación molecular afecta las funciones celulares y conduce a la degeneración o a la muerte de la célula. Los radicales libres envueltos en esta oxidación pueden atacar y alterar o inactivar la actividad biológica de las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, esenciales para el normal funcionamiento de la célula. En humanos, se demostró que la oxidación molecular tiene un papel importante en la infertilidad, especialmente cuando los gametos son almacenados o manipulados *in vitro*.

En condiciones fisiológicas, los radicales libres se sintetizan permanentemente en pequeñas cantidades. De otra parte, en ausencia de eventos estresantes, existe un balance entre la síntesis de radicales libres y el sistema de defensa antioxidante del organismo, de tal forma que el estrés oxidativo se presenta cuando este balance se altera por un exceso de estructuras prooxidativas o un déficit de agentes oxidantes.

Los espermatozoides son muy susceptibles a modificaciones causadas por estrés oxidativo, pues los fosfolípidos de su membrana plasmática son ricos en ácidos grasos poliinsaturados, mientras que su citoplasma contiene poca cantidad de enzimas antioxidantes; esto los hace altamente susceptibles a los daños causados por altas concentraciones de ROS. De otra parte, las enzimas antioxidantes intracelulares no pueden proteger la membrana plasmática del espermatozoide; la membrana solamente es protegida por el sistema de defensa antioxidante del plasma seminal (O'Flaherty et al., 2006).

La excesiva concentración de ROS genera niveles significativos de peroxidación de lípidos, proteínas y fragmentación del ADN, y un pobre empaquetamiento de la cromatina. Tales niveles se asocian a una alterada función de la membrana, daños en el metabolismo, morfología y motilidad espermática, lo que conduce a infertilidad en el macho. Este reafirma que los espermatozoides son particularmente sensibles al estrés oxidativo, debido a su inhabilidad para recomponer los componentes de la membrana y a su baja capacidad antioxidante.

La modificación de la permeabilidad de la membrana espermática afecta la calidad y el número de espermatozoides que alcanzan el ovocito en el tracto reproductivo femenino. También afecta el proceso de fecundación al prevenir la fusión entre el espermatozoide y el ovocito. Finalmente, las ROS pueden afectar el desarrollo del embrión y la salud del feto por modificación del ADN del espermatozoide.

Los espermatozoides están protegidos por enzimas antioxidantes existentes en el plasma seminal, como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), la glutatión peroxidasa (GSH-Px) y la glutatión reductasa (GSH), y por compuestos no enzimáticos como vitaminas C y E, albumina, taurina e hipotaurina (Dandekar et al., 2002). La determinación de antioxidantes en el plasma seminal se convierte en una herramienta de gran utilidad para predecir el potencial fértil del espermatozoide, ya que su presencia garantiza la protección del espermatozoide ante situaciones estresantes.

Conclusiones

A nivel celular, las ROS están envueltas en diferentes procesos fisiológicos de natural ocurrencia. Sin embargo, altos niveles de ROS pueden derivar en una reducción de la fertilidad. Los espermatozoides son especialmente sensibles a estas sustancias debido a su composición rica en fosfolípidos. La oxidación de estos lípidos ocurre como una reacción en cadena mediada por la presencia de ROS, lo que se conoce como estrés oxidativo.

En este sentido, la capacidad biológica antioxidante del plasma seminal gana relevancia dentro de la protección al espermatozoide contra el estrés oxidativo. Las enzimas contenidas en él hacen parte de un complejo que otorga la capacidad biológica antioxidante. Sin embargo, cuando un incremento de ROS rompe la capacidad biológica antioxidante, el estrés oxidativo resulta en alteraciones que pueden afectar el correcto desempeño reproductivo de los animales.

Por lo tanto, el estudio de la capacidad biológica antioxidante del semen se presenta como una valiosa herramienta. Podría ser ajustada con esquemas nutricionales y de manejo animal y ser especialmente útil en la selección y manejo de los calendarios reproductivos de los animales. De esta manera, establecer la capacidad biológica antioxidantes de los machos reproductores, así como su relación con el contenido proteico del plasma seminal y la calidad espermática, genera un panorama muy completo para el desarrollo de programas reproductivos en función de las condiciones particulares de cada productor.





Capítulo 5

Selección del reproductor ovino

Introducción

El cordero representa el principal producto de los sistemas de producción ovina de pelo establecidos en zonas semiáridas y subhúmedas secas del trópico bajo colombiano, donde razas como pelibuey, katahdin, santa Inés y dorper han mostrado una destacada adaptabilidad a las condiciones climáticas adversas de estas regiones (C. Barrios, 2018). Al momento de incorporar un nuevo reproductor al rebaño, no debe considerarse únicamente su función reproductiva inmediata, sino también su impacto en la estructura genética y el desempeño productivo del sistema, ya que este aporta aproximadamente el 50% de la información genética a su descendencia (Cansino-Arroyo et al., 2009; Vivas Ascue, 2013). En este sentido, la adecuada selección del macho reproductor se convierte en una herramienta clave para el mejoramiento genético sostenible del rebaño y la optimización de los indicadores productivos a largo plazo.

Desde una perspectiva empresarial, la selección de reproductores es un procedimiento que debe asumir y registrar de manera rigurosa tanto el que los provee

como el que los requiere para su rebaño. De esta manera, se obtienen beneficios simultáneos: el proveedor tendrá mejores soportes para configurar su “propuesta de valor”, esto es, por qué deben adquirir sus reproductores; el comprador tendrá más claridad sobre lo que obtendrá y no con el producto (reproductor) que adquiere.

En consecuencia, lo primero que se debe tomar en cuenta es que el reproductor sea el más indicado para los propósitos genéticos del ovinocultor para con su rebaño. Y solamente se pueden definir propósitos claros y alcanzables en la medida en que se disponga de registros con la información de desempeño productivo. Algunos indicadores como la fertilidad de los vientres, su prolificidad y la sobrevivencia de los corderos son especialmente importantes. Conviene saber si el reproductor puede aportar a la mejora de estos indicadores o si se requieren gestiones adicionales.

La velocidad del progreso genético del rebaño se puede acelerar mediante la aplicación de tecnologías de asistencia reproductiva que, para este caso, comienzan con la selección del reproductor. Se debe estar seguro de que, además de la conveniencia de su aporte genético y su estatus sanitario, el animal tenga la aptitud reproductiva correspondiente.

El propósito de este capítulo es poner en conocimiento de la comunidad de técnicos y ovinocultores los aspectos fundamentales relacionados con la evaluación andrológica en la selección del reproductor ovino. Pueden servir de guía al momento de su introducción en el rebaño y, progresivamente, asumirse como un procedimiento rutinario.

El capítulo enfatiza en dos aspectos. En primer lugar, se formula una apreciación general de la condición física y la salud del aparato reproductor del macho ovino y se describe el proceso a seguir para su examen físico detallado. En segundo lugar, se indican los procedimientos básicos para obtener y evaluar el eyaculado seminal ovino. Este último aspecto se convierte en apoyo fundamental para el profesional que realiza estos análisis en el laboratorio.

Evaluación reproductiva

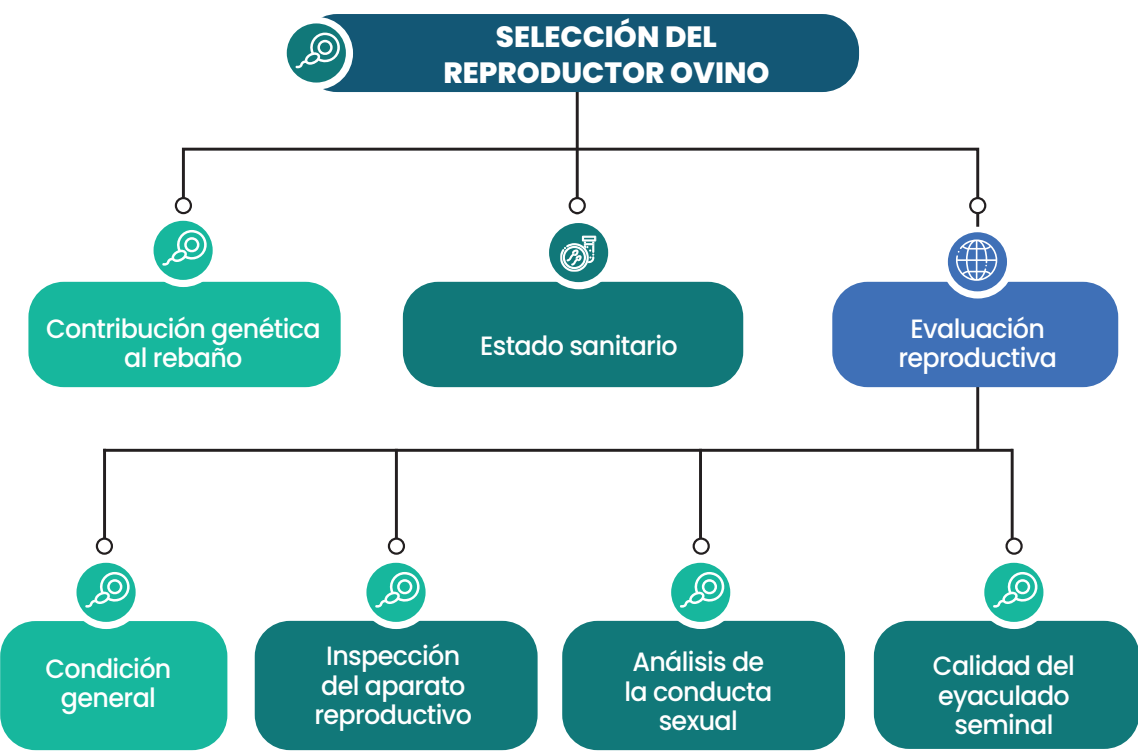
La asistencia reproductiva en rebaños comienza con una eficiente selección del macho reproductor; es decir, un reproductor que, además de su conveniencia genética y su estatus sanitario, sea sometido a una evaluación reproductiva rigurosa (Figura 14). Esto, con el fin de garantizar que esté en condiciones de cumplir satisfactoriamente su función en sistemas bien sea de monta directa o con inseminación artificial.

Evaluación física general

La función reproductiva del macho ovino es muy compleja, por lo que un examen físico completo debe incluir la observación de todos los sistemas que pueden llegar a intervenir en su correcto desempeño reproductivo. Conviene evaluar el estado sanitario, la conformación, la conducta sexual, la capacidad de monta y la calidad del eyaculado seminal.

Es fundamental que el ovinocultor acceda a la mayor información posible sobre los antecedentes de los potenciales reproductores para su rebaño. Algunos de estos antecedentes son la genealogía, la fertilidad de sus padres, el plan de vacunación, tratamientos farmacológicos previos, anomalías morfológicas con riesgo de heredabilidad (criptorquidismo, aplasia del pene, defectos de aplomos, hernias, etc.), la edad al momento de su incorporación al rebaño, conducta sexual o carácter de libido, resultados de exámenes reproductivos recientes, entre otros. Si es un reproductor probado, es importante conocer la frecuencia y prácticas de apareamiento, cantidad de contactos por cada fecundación, porcentaje de fecundidad en la primera temporada reproductiva, edad y peso al primer servicio, fecha y periodo de tiempo de monta.

Figura 14
Componentes considerados en la selección del reproductor ovino



Una práctica que se realiza en algunas zonas, pero que debiera ser generalizada, es el examen de la fertilidad de los reproductores antes de su adquisición o al comienzo del periodo de monta. Consiste en realizar un examen clínico general, examen de los órganos reproductivos (especialmente los testículos), evaluación de la muestra de semen y examen macro- y microscópico del eyaculado. Es indispensable tener conocimiento de los planes sanitarios del rebaño de origen. Por ejemplo, la detección y control de enfermedades tales como brucelosis, tuberculosis, tricomoniasis, paratuberculosis, leptospirosis, entre otras enfermedades que afectan los índices reproductivos.

En la reseña clínica de algunas razas, se puede encontrar información sobre tendencia a presentar ciertas patologías; por ejemplo, orquitis, epididimitis, generalmente por *Corynebacterium* y *Brucella*. También se puede encontrar información sobre tolerancia o susceptibilidad a endo- y ectoparásitos.

Figura 15

Evaluación fenotípica de ovinos criollos en Honda, Tolima



En cuanto a la edad, se puede observar infertilidad juvenil o senil. En animales jóvenes, la infertilidad puede deberse a uso prematuro del macho, carencias o deficiencias nutricionales, caracteres genéticos heredables o no. La edad también influye sobre la libido y la capacidad de apareamiento. Es importante que el macho reproductor seleccionado reúna características fenotípicas deseables de la raza seleccionada (Figura 15) y que no padezca enfermedades que puedan afectar su desempeño reproductivo en el rebaño.

Debe realizarse un examen minucioso de cada sistema y de las estructuras que conforman el aparato reproductor, para constatar el normal funcionamiento de cada una de ellas. Cualquier cambio observado en el sistema u órgano del animal tendría rasgos no deseables en su selección.

Los ovinos machos alcanzan mayor desarrollo de la masa muscular en el pecho y cuello, así como en sus respectivas uniones con las extremidades anteriores. Por su parte, las hembras tienden a desarrollar de manera más manifiesta la musculatura de la pared abdominal. Una característica adicional muy definida en los machos es la pronunciada convexidad del perfil fronto-nasal (Figura 16).

Figura 16

Aspecto de la cabeza y cuello de machos ovinos criollos tipo etíope del norte del Tolima



Signos vitales. Dentro de las generalidades del correcto manejo, es necesario conocer el manejo de los borregos, de manera tanto individual como grupal, para facilitar al médico las labores de exploración en rebaños o individualmente, y disminuir el estrés o las posibilidades de lesión del animal. Los signos vitales del animal se inspeccionan con la vista. Su objetivo es describir si se pueden apreciar a simple vista modificaciones en la superficie del cuerpo o la región u órgano a explorar. Dicha exploración la podemos realizar de manera general en todo el organismo o regional en un sistema u órgano determinado (Mendoza González et al., 2010).

Se debe realizar un examen exhaustivo de mucosas y signos vitales que nos permita corroborar el funcionamiento normal de los sistemas. Dentro de los signos vitales en la exploración, la frecuencia respiratoria con el animal en reposo se presenta sin cesar, con movimientos tranquilos, paulatinos y poco notorios de las paredes torácica y abdominal. La inspección visual puede verse alterada no solo por el temor del animal, sino también por temperatura ambiente, ejercicio, edad, condición corporal, entre otros.

En ovinos, es importante inspeccionar las mucosas y valorar la conjuntiva ocular; en ellas se puede verificar la presencia de alguna patología. Otro tipo de exploración importante dentro de las constantes fisiológicas es la frecuencia del pulso entre 70-90 latidos por minuto en ovino adulto y de 80-100 latidos por minuto en cordero; la temperatura interna (corporal y rectal) debe oscilar entre 38,5-40 °C en ovino adulto y de 39-40 °C en corderos y movimientos ruminales (Ramos Antón & Ferrer Mayayo, 2007).

Sistema locomotor. En el examen físico-clínico general, es crucial evaluar el sistema locomotor, con especial atención a los aplomos posteriores. Estos son determinantes para la función de monta, puesto que el peso del animal descansa sobre los miembros posteriores. Un defecto en ellos alteraría el desempeño del macho. También es importante revisar el estado de las pezuñas y la columna vertebral.

Otras patologías. Los órganos sensoriales, especialmente el olfato y la vista, son de gran importancia, de forma particular en sistemas con monta natural, pues podrían interferir en una adecuada detección de hembras en estro y en la capacidad de monta. Por tal razón, conviene verificar la ausencia de patologías asociadas a estos sentidos, como carcinomas oculares, defectos olfativos, entre otros.

Condición corporal

Este es un parámetro relevante en la selección del reproductor. Generalmente, se examina de manera directa en ovinos mediante palpación de las apófisis espinosas y transversas de las vértebras lumbares. Este examen permite estimar la cantidad de grasa bajo la piel. Una condición corporal de 3 a 3,5 sería la ideal para los machos en época de monta, debido a que, durante la rutina, podrían llegar a perder del 25 al 30% de su peso corporal.

Tamaño y peso corporal

Además de la información sobre desempeño individual y demás valores reproductivos del macho ovino, el ovinocultor debe tener habilidades para evaluar las características fenotípicas y dar un valor agregado en la determinación del potencial como reproductor. Estos son importantes para correlacionarlos con la talla de las hembras que servirán, con el fin de evitar partos distócicos por el tamaño de la cría. El excesivo grado de gordura o el enflaquecimiento repercute negativamente en la libido y calidad seminal.

Otros aspectos para considerar en el examen clínico son la dentadura y la cavidad bucal. Es posible detectar dificultades para alimentarse, lo cual podría explicar posibles pérdidas de condición corporal y dificultades en la ganancia de peso. Conviene, igualmente, tomar en cuenta las condiciones ambientales adversas que puedan disminuir la libido y la fertilidad. La temperatura, la humedad, la sombra y la posibilidad de movimiento, entre otros, son factores por considerar, pues el estrés que pueden ocasionar podría disminuir la fertilidad del animal.

Asimismo, es necesario conocer el manejo y el tipo de instalaciones donde se manejan los animales. El manejo en estabulación también influye en las condiciones ambientales, por ejemplo, la cantidad y suministro de agua es importante y está íntimamente relacionada con la temperatura ambiente; esta puede perturbar la espermatogénesis.

Descripción del aparato reproductor ovino

El tracto reproductivo del macho está compuesto por: a) dos gónadas o testículos que, de modo similar a los ovarios, son los encargados de producir y liberar células germinales y hormonas sexuales masculinas; b) un sistema de conductos que se continúan a partir de la red testicular (rete testis), los conductos eferentes, epidídimos y conductos deferentes que transportan los espermatozoides; c) las glándulas sexuales accesorias (ámpula del conducto deferente, próstata, vesículas seminales, glándulas bulbouretrales), que producen la fracción líquida o plasma seminal; y d) el pene u

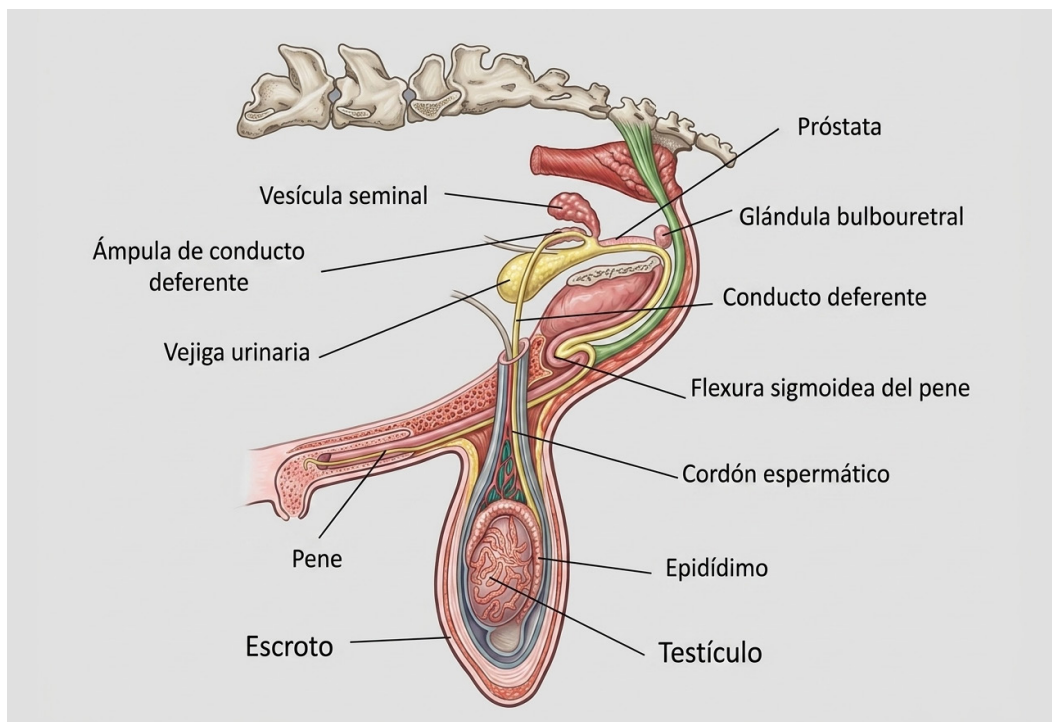
Testículos. Son órganos pares, de forma ovalada y con algún grado de asimetría morfométrica. Están ubicados en la región inguinal y alojados en bolsas escrotales. En el ovino, tienen una estructura pendulosa y un cuello elongado. Esto indica que el cordón espermático es igualmente largo.

La circunferencia escrotal (CE) se ha utilizado ampliamente como criterio de selección de reproductores ovinos debido a su asociación positiva con el tamaño testicular y con el potencial de producción espermática. En términos generales, la CE constituye un indicador indirecto del desarrollo y funcionalidad de los testículos.

El tamaño testicular varía según factores como raza, edad, estado nutricional y época reproductiva; incrementa particularmente durante la pubertad y la estación de apareamiento. Histológicamente, el parénquima testicular está constituido principalmente por túbulos seminíferos, estructuras donde ocurre la espermatogénesis. En ovinos adultos, los túbulos seminíferos presentan un diámetro aproximado de 200–300 μm y conforman una extensa red tubular cuya longitud total puede superar los 3.000 m por par de testículos, lo cual refleja la elevada capacidad espermatogénica de la especie (Orozco, 2017; B. Setchell & Breed, 2006; Wrobel et al., 1995).

Figura 17

Partes del sistema reproductor del ovino macho



Nota. Tomado de Díaz-Hernández et al. (2021).

Otro componente de los testículos es el tejido intersticial, ubicado entre los túbulos seminíferos. Contiene los vasos sanguíneos, vasos linfáticos y fibras del sistema nervioso de los testículos. También se encuentran allí las células de Leydig, encargadas de producir la testosterona y las células asociadas al sistema y macrófagos (B. Setchell & Breed, 2006).

En el embrión, el desarrollo de los testículos se inicia a partir de la estratificación del epitelio celómico y el botón urogenital, en la zona medial del mesonefro. La degeneración del conducto de Müller adyacente a los testículos es el primer evento de diferenciación del macho. Posterior a este signo, el conducto de Wolf se transforma en el sistema eyaculatorio del macho. El conducto de Wolf adyacente al testículo se transforma en el epidídimo. Finalmente, el desarrollo posterior de este conducto será dependiente de la producción de andrógenos (Pardo Gambarte, 2017).

En los mamíferos, los testículos migran desde su sitio de origen y pasan a través de la pared intestinal hacia una evaginación del peritoneo denominada escroto. En el ovino macho, los testículos se encuentran presentes en el escroto al momento del nacimiento. A partir del tercer mes de gestación, los testículos comienzan a descender y se localizan en el interior de las bolsas escrotales, lo que garantiza una temperatura de 2-3 °C inferior a la del resto de cuerpo, importante para una espermatogénesis normal (Pardo Gambarte, 2017).

Algunos estudios sobre el diámetro testicular en ovinos de 12 meses reportan valores de 28,3± 1,5 cm para criollos, 25,79±1,68 cm para pelibuey, 27,6±2,1 cm para kathadin y 27,0±1,0 cm para santa Inés (Orozco, 2017). En ambientes cálidos, es determinante seleccionar reproductores con mejores posibilidades de mantener la temperatura testicular baja para mayor eficiencia en su proceso de espermatogénesis y en su desempeño reproductivo. Se considera que el tamaño y desarrollo de los testículos pueden ser indicador directo de fertilidad. Sin embargo, es igualmente importante garantizar una nutrición que corresponda con sus requerimientos.

Epidídimo. Es un conducto con grandes ondulaciones ligado a la superficie del testículo. Se extiende desde la parte anterior a la posterior del testículo. Anatómicamente, se divide en tres segmentos: cabeza, cuerpo y cola. Otra división se basa en criterios histológicos y funcionales; los divide en tres segmentos: inicial, medio (donde madura el espermatozoide) y terminal (almacén previo a la eyaculación) (B. P. Setchell, 1978).

Conducto deferente. Es la continuación del epidídimo. Inicia en donde el epidídimo toma dirección contraria al canal inguinal. Su función es transportar espermatozoides desde el epidídimo a la uretra. Se han descrito funciones relacionadas con el epitelio de absorción y secretorias por algunos autores (B. P. Setchell, 1978).

Glándulas sexuales accesorias. Están localizadas en torno a la uretra pélvica, donde vierten secreciones en el momento de la eyaculación. Su desarrollo y función está regulado por la testosterona. Su secreción aporta un mayor volumen al eyaculado y un substrato idóneo para el metabolismo y motilidad espermática. La secreción de las glándulas vesiculares (próstata y bulbo uretrales) actúa como sistema tampón para evitar cambios de pH. Su principal componente es la fructosa, la cual sirve como fuente energética para los espermatozoides.

La próstata elabora la proteína antigelutina, que evita la aglutinación espermática; en algunas especies, produce prostaglandinas que favorecen las contracciones uterinas. La secreción de las glándulas bulbouretrales es la mucina, que aporta el componente gelatinoso del eyaculado (B. Setchell & Breed, 2006).

Pene. Órgano copulador. En el carnero, su estructura es fibroelástica. Su función es depositar el semen en el aparato genital de la oveja. Para ello, su tejido eréctil garantiza la turgencia o erección necesaria para la cópula y la eyaculación (J. A. Cardozo et al., 2002).

Conducta sexual y examen del aparato reproductor

Cuando el reproductor se utiliza en sistemas productivos con monta natural, como es lo usual en la mayoría de los criaderos de ovinos en Colombia, es útil evaluar su conducta o comportamiento sexual con el fin de estar seguros de que cumplirá a cabalidad su función en el rebaño. Se puede utilizar el test para evaluación del comportamiento sexual con hembras en celo. La inspección de los animales se debe realizar en un lugar con un ambiente tranquilo y conocido para el reproductor.

Genitales

Prepucio y pene. La evaluación del prepucio se realiza mediante la observación de la cara externa e interna. Esta última corresponde a la mucosa prepucial. Se debe observar el estado y color de la piel, temperatura, forma, volumen, abertura prepucial, para visualizar si existen heridas, masas, desviaciones, signos de prurito, flujos. El examen del pene puede realizarse durante la monta, para inspeccionar el estado de la mucosa, del glande. En la inspección de la mucosa peneana, puede observarse exantema, granulomas, hematomas, neoformaciones, etc.

Las alteraciones del prepucio o pene son la fimosis (incapacidad para protruir el pene), parafimosis (incapacidad para retraer el pene al saco prepucial), edemas o inflamaciones del prepucio (postitis o acrobustitis), del glande (balanitis), de ambos (balanopostitis), priapismo (erección persistente del pene). Una vez se visualizan el prepucio y el pene, se palpan (Figura 18).

Figura 18

Examen del pene del macho ovino



Escroto. La observación y la palpación detallada del escroto, al igual que la medición de la circunferencia escrotal, pueden generar información valiosa para seleccionar al reproductor. Algunos estudios indican que, en el proceso adaptativo a ambientes semiáridos y subhúmedos secos de trópico bajo, por las altas temperaturas ambientales, se evidencia una tendencia de los reproductores a presentar el llamado saco escrotal bipartido –observado con frecuencia en reproductores caprinos–. Esto puede ayudar a una mejor termorregulación y, en consecuencia, a un mejor proceso de espermatogénesis (B. P. Setchell, 2006).

Estos estudios muestran que, si bien un buen reproductor hace eficientemente su termorregulación independientemente del ambiente donde se encuentre, también es cierto que, a menor adaptación, mayor gasto energético para termorregular. La relación superficie/masa corporal es fundamental en el intercambio de calor (Sañudo, 2009).

La piel escrotal de los carneros presenta abundantes glándulas sudoríparas y características anatómicas especializadas que favorecen la termorregulación testicular, proceso fundamental debido a la alta sensibilidad de la espermatogénesis frente a variaciones térmicas. Por su parte, la medición de la circunferencia escrotal constituye una aproximación indirecta al tamaño testicular y a la capacidad potencial de producción espermática. Para su determinación, los testículos deben sujetarse firmemente en la parte superior de la bolsa escrotal y posicionarse de manera paralela dentro del escroto; posteriormente, se mide con una cinta métrica flexible el perímetro máximo testicular (Maule, 1962) (Figura 19).

Testículos. Como en muchos otros mamíferos, en los ovinos, los testículos se encuentran localizados extraabdominalmente, dentro de una bolsa denominada escroto (B. P. Setchell, 1978). Su localización cumple una función espermatogénica: deben estar a una temperatura entre 2-8 °C por debajo de la corporal. La baja temperatura intratesticular es necesaria para el buen proceso de espermatogénesis. Cualquier alteración del sistema termorregulador de los testículos puede causar problemas en este proceso (Kastelic, 2014).

Figura 19

Medición de la circunferencia escrotal



Nota. Nótese el saco escrotal bipartido.

Para el examen, se palpa cada uno de los testículos con el pulgar y el resto de los dedos. Así, se determina forma, tamaño, consistencia, superficie, movilidad, sensibilidad y simetría. Los testículos deben ser turgentes, elásticos y estar libres de nódulos o adherencias que impidan su desplazamiento dentro del escroto.

La consistencia, tono, tamaño y peso testicular son excelentes predictores de la capacidad de producción de espermatozoides y las funciones espermatogénicas. Estas medidas testiculares se reducen bajo estrés por calor debido a la degeneración del epitelio germinal y la atrofia parcial en los túbulos seminíferos de los testículos (D. Kumar et al., 2017).

Una patología común en el testículo es la orquitis, que se describe en cualquier especie como una tumefacción firme, difusa y de superficie lisa o nodular. En esta afección, se presenta dolor a la palpación y disminución en el rendimiento de los machos (Ramos & Ferrer, 2017). La palpación de una hidrocele se asemeja a una consistencia de bolsa líquida compresible; generalmente no es dolorosa.

Epidídimo. Al inspeccionarlo, se comprueba su presencia, forma, tamaño, volumen, sensibilidad, simetría y posibles deformaciones de cabeza, cuerpo y cola. La consistencia normal de cada una de sus partes es firme, elástica y no dolorosa. Un aumento en el tamaño del epidídimo puede deberse a causas infecciosas (brucelosis), no inflamatorias (acumulación de espermatozoides) o a quistes con células germinales (espermatocele) o sin ellas (galactocoele) (B. Setchell & Breed, 2006).

Los anteriores fueron exámenes para genitales externos. El examen de las glándulas sexuales accesorias se realiza por tacto rectal. Se evalúa tamaño, simetría, sensibilidad, consistencia y movilidad.

Capacidad de servicio y comportamiento reproductivo

Es importante enfatizar que la capacidad de servicio, definida como el número de servicios realizados por un reproductor ovino en una unidad de tiempo, es uno de los indicadores más importantes de su capacidad reproductiva y utilizados para el apareamiento en el campo. Actualmente, se están evaluando dispositivos (acelerómetros), para determinar de manera rápida la capacidad sexual de los reproductores, con resultados prometedores (Mozo et al., 2019).

Procedimientos complementarios

Las pruebas complementarias aquí mencionadas tienen que ver con exámenes de laboratorio para detectar enfermedades sistémicas o reproductivas, y establecer perfiles hormonales. Las pruebas bioquímicas comprenden test serológicos para determinar perfiles hormonales (funcionamiento tiroides, testosterona), diagnóstico de enfermedades infecciosas (brucelosis, leptospirosis, tuberculosis, tricomoniasis, campylobacteriosis, entre otros). Asimismo, se realizan exámenes de calidad seminal, análisis cromosómicos, análisis enzimáticos; en casos especiales, radiografías y ecografías.

Importancia del diagnóstico de enfermedades en ovejos para la reproducción

Los sistemas de producción de carne, leche y lana de ovejos se han desarrollado de forma continua y dinámica durante las últimas décadas. Esto ha permitido alcanzar nuevos objetivos de producción dentro de los hatos o fincas con intensificación en la producción. Gracias a ello, se pueden proyectar productos al público con cero residuos químicos. En este contexto, también existe un mayor riesgo y gravedad de las enfermedades de los pequeños rumiantes que, tradicionalmente, han requerido esfuerzos adicionales para prevenirlas o controlarlas. Esto es especialmente relevante para los endo- y ectoparásitos, que afectan en gran medida su productividad.

Décadas de uso del mismo principio activo como único medio de control práctico de las enfermedades parasitarias han provocado resistencia a los medicamentos. Sin embargo, el conocimiento y la comprensión del proceso animal, el medio ambiente y los parásitos se renueva enormemente. Con esta demanda productiva y sanitaria, la difusión de la experiencia surgida de los trabajos de investigación básica y experimental a través de los años debe ser adaptada y transmitida rápidamente a los sectores profesionales privados involucrados en medicina veterinaria.

El diagnóstico es uno de los aspectos más complejos de la vida diaria de los veterinarios que ejercen su profesión en este campo. El éxito o fracaso del diagnóstico depende de varios factores. Por ende, la experiencia profesional, el conocimiento de las casuísticas de la región y el apoyo de laboratorios para casos más complejos son cruciales. Si bien es cierto que un médico veterinario debe interpretar los signos y síntomas como una etapa inicial del diagnóstico, finalmente estos indicadores en varias ocasiones no son muy precisos, por lo que un síntoma puede indicar varias enfermedades. Debe seguirse promoviendo y perfeccionando el diagnóstico como herramienta de mejora en la productividad ovina.

Figura 20

Obtención de semen en ovino joven mediante de electroeyaculación



Capítulo 6

Obtención y evaluación del semen

Métodos de obtención del eyaculado

En ovinos, al igual que en otras especies, el semen se puede obtener por medio de electroeyaculación o mediante el uso de una vagina artificial.

Método de obtención del semen por electroeyaculación

Se basa en la estimulación eléctrica de los centros erector y eyaculador del macho. Cada animal puede responder a un estímulo eléctrico diferente. La intensidad, la frecuencia de los ciclos y el ritmo del estímulo eléctrico debe ajustarse de acuerdo con la respuesta de cada animal (J. A. Cardozo et al., 2002). La obtención del eyaculado por electroeyaculación debe ser realizada por técnicos experimentados o debidamente entrenados. Con este método, se logra obtener semen de alta calidad en cualquier época del año, dependiendo de la condición corporal y edad del donante, pero genera respuestas fisiológicas en el macho, que pueden indicar alteración del bienestar animal (Figura 20).

Método de obtención del semen con vagina artificial

Es una técnica menos invasiva que la electroeyaculación. Permite obtener una muestra seminal de excelente calidad en aspectos como motilidad, integridad de membrana y concentración espermática. Requiere personal debidamente entrenado para realizar el procedimiento y un lugar seguro que facilite el manejo del macho. Este desarrolla completamente la cadena de reflejos y la mecánica del coito fisiológico, aunque no exista penetración ni eyaculación en la vagina de la hembra ovina. En términos generales, los elementos que conforman una vagina artificial son: (1) cilindro rígido de goma o aluminio con agujero y tapón para llenado con agua caliente, (2) cono de látex para recolectar el semen, (3) camisa interior de látex o caucho, (4) ligaduras para atar (Figura 21).

Figura 21

Partes y ensamblaje de vagina artificial



La preparación de la vagina comienza con el llenado de la camisa interna con agua caliente; debe estar a unos 42 °C. El paso siguiente es insuflar aire a través de la válvula secundaria, para alcanzar la temperatura y presión internas adecuadas que estimulen la eyaculación. Si la temperatura del agua y la presión de la vagina no es la adecuada, el macho no puede eyacular. Por último, la vagina se debe lubricar con gel estéril no espermicida, en la parte por donde penetra el pene del macho. Se debe evitar que caiga agua al tubo de colecta, pues provocaría la muerte de los espermatozoides del eyaculado.

Antes de la colecta del semen, es conveniente limpiar cuidadosamente el prepucio para evitar contaminación de la muestra. En algunas ocasiones puede ser necesario cortar el pelo alrededor de la zona de entrada a la cavidad prepucial con ayuda de una tijera. Posteriormente, se acondiciona un catéter o equipo de venoclisís con 200 ml de solución salina fisiológica 0,9%, con la que se lava el prepucio. Finalmente, se seca con papel absorbente (Figura 22).

Figura 22

Higiene prepucial previa a la colecta de semen



Los animales seleccionados para la colecta de semen, además de sus atributos zootécnicos, deben ser dóciles y entrenados para eyacular en la vagina artificial. Por lo general, la edad de inicio de entrenamiento está entre los 6 a 10 meses y requieren adaptación al sitio de colecta, a la hembra y al técnico que maneja la vagina artificial. En este método de colecta, es usual trabajar con un maniquí o un macho de la misma especie. En los ovinos, se emplea una hembra dócil, sana y de temperamento tranquilo. Si los sementales están entrenados debidamente, no se requiere de tratamientos hormonales o que la hembra usada se encuentre en celo (Figura 23).

Una vez realizada la colecta seminal, se debe asegurar que la muestra en el tubo colector se mantenga a una temperatura de 37 a 39 °C, sin exposición a luz solar para garantizar la viabilidad de los espermatozoides y el resultado final de la evaluación.

Valoración del eyaculado

Figura 23

Acondicionamientos para colección de semen mediante vagina artificial



Valoración del eyaculado

Obtenido el semen eyaculado, se procede a hacer las evaluaciones macro- y microscópicas que permitirán determinar si el reproductor presenta una calidad espermática adecuada.

Evaluación macroscópica

En esta evaluación, se analiza el volumen del eyaculado, su color y su aspecto o apariencia. Estos indicadores permiten una primera aproximación a determinar la calidad espermática.

Volumen. Se expresa en ml. Se obtiene de leer la graduación inscrita en el tubo de recolección. Algunos autores reportan valores medios para diversas razas ovinas, entre 0,2 ml y 1,5 ml. Sin embargo, otros plantean que lo deseable es que esté en un rango entre 0,5 y 2,0 ml (Yanagimachi, 1994). En la Tabla 6, se relacionan los valores para razas ovinas de pelo. Los ovinos criollos del Tolima presentaron un valor medio de 0,66 ml.

Tabla 6
Valores promedio de volumen de eyaculado seminal en ovinos de pelo

Razas	Volumen eyaculado (ml)	Referencia
Pelibuey	0,55±0,34	Aké-Villanueva et al. (2019)
Dorper	0,70±0,30	
Blackbelly	0,69±0,30	
Kathadin	0,76±0,40	
Santa Inés	0,8±0,1	Hafez & Hafez (2000)
Ovino criollo	0,8±0,52	
Ovino criollo de pelo	0,66±0,33	Proyecto INNOVIS (2018)

Color. El color se determina por observación. Puede variar entre blanco y amarillo. Se pueden encontrar algunas otras coloraciones que, en ciertas ocasiones, pueden denotar algún tipo de afección sufrida por el animal. Cuando los eyaculados presentan apariencia translúcida, es muy probable que tengan baja concentración de espermatozoides (Chenoweth & Lorton, 2022).

Aspecto. Puede categorizarse como cremoso, lechoso o acuoso. Se determina por observación macroscópica. Si su apariencia es cremosa, se puede inferir como buena o excelente calidad espermática; si es blanquecina y lechosa, se califica entre pobre y regular; y si es traslúcida o acuosa, es mala o muy pobre (Tabla 7).

Tabla 7*Clasificación del semen con base en el aspecto del eyaculado*

Aspecto	Clasificación	Concentración estimada*
Cremoso espeso	Excelente	Más de 2.000 x 10 ⁶
Cremoso	Muy bueno	1.500 – 2.000 X 10 ⁶
Cremoso claro	Bueno	1.000 – 1.500 X 10 ⁶
Lechoso	Pobre	500 – 1.000 X 10 ⁶
Acuoso	Muy pobre	Menos de 500 X 10 ⁶

Nota. Tomado de Pande et al. (2017).

Evaluación microscópica

La evaluación microscópica convencional de la calidad espermática considera cuatro aspectos fundamentales en los espermatozoides: concentración, motilidad, viabilidad y morfología. Adicionalmente, se hacen algunas pruebas complementarias que involucran aspectos a nivel celular y molecular. La subjetividad propia de las pruebas convencionales ha sido ajustada mediante la utilización de métodos computarizados para el análisis. La utilización de estos métodos informáticos atenúa en buena parte la subjetividad de los análisis seminales y garantiza una mejor correlación con la capacidad fecundante del espermatozoide (Chenoweth & Lorton, 2022).

Concentración espermática. La concentración espermática se expresa como el número de espermatozoides por cada ml de semen. Puede calcularse por varios métodos, entre los que se destacan la espectrofotometría, la colorimetría, la citometría de flujo y el uso de cámaras de recuento celular, como las de Bürker, Neubauer o Makler, entre otras. Cuando se usa la cámara de Neubauer, se hace una dilución 1/2000.

La espectrofotometría es una herramienta metodológica indirecta, que mide la luz monocromática absorbida por las partículas en suspensión; en este caso, los espermatozoides. La densidad óptica de la muestra se compara con una curva estándar patrón previamente validada. De este modo, se determina la concentración espermática (Chenoweth & Lorton, 2022). Para la utilización del espectrofotómetro de referencia (SDM 6 minitube), se requiere realizar una dilución de 1/500, así: a 4 ml (4.000 microlitros) de solución salina 0,9% se le adicionan 8 microlitros de semen, se selecciona en el equipo el programa de carnero y este realiza la lectura (Figura 24).

No obstante, en el ejercicio de campo, no siempre se tiene acceso a estas herramientas tecnológicas, por lo que aún es muy importante la experiencia del veterinario. En estas circunstancias, la concentración se puede estimar mediante observación del color, aspecto y formación de remolinos al observar la muestra al microscopio. La calidad será aceptable si el aspecto es cremoso o lechoso, y pobre e inaceptable cuando es acuoso o transparente. Este análisis nos puede dar señales acertadas sobre la posible fertilidad del reproductor. Para clasificar la concentración del semen fresco por la observación de su color y densidad, debemos considerar lo siguiente:

Tabla 9

Relación del aspecto del semen y la cantidad de espermatozoides

Aspecto del semen	Cantidad estimada de espermatozoides
Denso, cremoso, coloración amarilla opaca	800-1.000 millones por ml
Lechoso, poco denso	500-800 millones por ml
Semilechoso, opalescente	200-500 por ml
Acuoso, oligospermico	Menos de 200 millones por ml

Nota. Tomado de Martins et al. (2016).

Motilidad. El análisis de la motilidad de los espermatozoides es históricamente la prueba más común para determinar la calidad seminal, principalmente porque se puede hacer aún bajo condiciones ambientales muy diversas (Love, 2005). Se pueden presentar variaciones debidas al tipo de microscopio, al aumento utilizado para analizar la muestra, a las condiciones ambientales de trabajo, a la experiencia del evaluador, entre otras. Sin embargo, aunque ya se han desarrollado nuevas técnicas para evaluar la calidad seminal, las pruebas de motilidad y, particularmente, el movimiento en masa, siguen siendo buenos indicadores cualitativos de la calidad espermática.

La motilidad total o movimiento en masa. Es una estimación cualitativa de la calidad espermática de semen puro y fresco. Debe hacerse de manera rápida, puesto que la motilidad disminuye rápidamente. Se debe hacer preferiblemente durante los primeros 15 a 20 segundos poscolecta. La motilidad masal se observa como una masa de movimiento ondulatorio producido por espermatozoides vivos progresivamente móviles. Cuando el semen está fresco, hay un movimiento continuo de vetas oscuras y remolinos que aparecen y desaparecen con extrema rapidez. Estos remolinos y ondas se deben al movimiento rápido de los espermatozoides viables, lo que ayuda en la clasificación inicial de los eyaculados (Srivastava & Pande, 2017).

El análisis consiste en poner una gota de semen fresco sobre una lámina precalentada y observar al microscopio con un aumento total de 100 veces, es decir, ocular 10X y objetivo 10X. La medición se efectúa usando una escala que va del 0 (sin ningún movimiento) a 5 (movimientos en masa muy fuertes y con ondulaciones muy vigorosas). A mayor movimiento masal, mejor calidad espermática. Este método demanda que la persona que lo aplique esté debidamente entrenada (Tabla 10).

Tabla 10
Clasificación general del semen en función de la motilidad masal

Categoría	Explicación
5	80-100% de células espermáticas presentan motilidad en ondulaciones rápidas. No se observan células espermáticas individuales.
4	60-80% de las células espermáticas con motilidad con remolinos hacia los extremos de la muestra. No se observan células espermáticas individuales.
3	40-60% de las células espermáticas con movimiento en ondulaciones suaves. Pueden verse células espermáticas individuales.
2	20-40% de células espermáticas con movimiento. No se observan ondulaciones.
1	10-20% de células espermáticas con motilidad, No se observan ondulaciones.
0	No se detecta motilidad.

Aunque esta clasificación resulta útil para diferenciar eyaculados de baja y alta motilidad masal, presenta limitaciones para discriminar con precisión diferencias en el porcentaje de espermatozoides móviles y en la calidad de la motilidad individual. La denominada “onda de movimiento” o motilidad masal se observa con mayor facilidad en especies con alta concentración espermática, como ocurre en pequeños rumiantes (Maule, 1962).

La concentración, el porcentaje de células con movimiento progresivo y la velocidad/vigor del movimiento de los espermatozoides son los factores que influyen en el movimiento en masa. Si uno o más de estos factores se encuentran comprometidos, el movimiento en masa se reducirá. En la Tabla 10, se relacionaron los valores de motilidad masal estimados para diversas razas de ovinos de pelo.

No obstante, frente a la alta subjetividad que ha presentado la interpretación de la motilidad masal, desde hace ya más de cuatro décadas, se ha venido trabajando

en la aplicación de un sistema de análisis de esperma asistido por computadora: CASA (por sus siglas en inglés, *Computer Assisted Sperm Analysis*) (Amann & Waberski, 2014).

Actualmente, el sistema CASA es confiable en los análisis de la fertilidad de animales domésticos. Aparte de la concentración de espermatozoides y la evaluación de su motilidad, las versiones modernas del sistema CASA automatizan otros análisis como la morfología de los espermatozoides, la viabilidad, la fragmentación y la reacción del acrosoma (Van der Horst, 2020).

Motilidad individual. En la evaluación de la motilidad individual de los espermatozoides, se pueden determinar al menos tres categorías de proporción: de células espermáticas que muestran movimiento progresivo lineal (MPL), con movimiento in situ y de espermatozoides sin movimiento.

Tabla 11
Clasificación de la motilidad individual de los espermatozoides

Categoría	Explicación
Motilidad progresiva	Los espermatozoides se mueven activamente, ya sea de forma lineal o en un círculo grande, independientemente de la velocidad.
Motilidad no progresiva	Todas las formas de motilidad, pero sin progresión.
Inmóvi	Sin movimiento, inmóvil o estacionado.

El movimiento progresivo lineal es el que facilita el tránsito de los espermatozoides a través del tracto reproductivo de la hembra y su encuentro con el óvulo (Larsson & Rodríguez-Martínez, 2000). Los espermatozoides con movimiento progresivo serán capaces de migrar a través del moco cervical y penetrar el óvulo y sus revestimientos, de tal forma que esta estimación es muy importante en la evaluación del semen.

Un bajo porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva disminuye la posibilidad de tener espermatozoides competentes para llegar al oviducto. En conclusión, la motilidad progresiva es una medida de la habilidad del espermatozoide para dirigirse hacia el óvulo después de la eyaculación y un indicador de velocidad de la célula espermática.

En el laboratorio, la muestra se prepara realizando una dilución (1/100), para lo cual se toman 10 µl de semen completo y se adicionan a 990 µl del medio.

Seguidamente, se ponen 5 µl de semen sobre una lámina portaobjetos precalentada a 37 °C, se crea una gota de aproximadamente 3 a 5 mm de diámetro y se cubre con una lámina cubreobjetos. El volumen de semen usado para este tipo de evaluación (5 ó 7 µl) depende del tamaño del cubreobjetos preferido por el usuario (cubreobjetos de 18x18 mm o 22x22 mm).

La muestra se observa con microscopía de contraste de fase y con aumento de 200– 400x; así se determina el porcentaje de células espermáticas con movimiento progresivo lineal. Cuando el semen está muy concentrado, la muestra puede diluirse con una solución amortiguadora o diluyente de semen antes de ponerle el cubreobjetos. En la Tabla 12, se presentan valores promedio de motilidad progresiva lineal de espermatozoides con valores entre 62,9 y 88,4%.

Tabla 12
Porcentaje de motilidad progresiva en ovinos de pelo de diferentes razas

Razas	Motilidad individual (%)	Referencia
Pelibuey	88,42±4,21	Aké-Villanueva et al. (2019)
Dorper	84,6±5,24	
Blackbelly	87,50±4,19	
Katahdin cruce	80±10	Hafez & Hafez (2000)
Santa Inés cruce	70±20	
Santa Inés	76±6	
Ovino criollo	70,5±14,22	Proyecto INNOVIS (2018)
Ovino criollo de pelo	62,91±11,74	

El análisis visual de la motilidad individual progresiva en microscópico tiene la tendencia a ser subjetivo, así sea efectuado por personal muy experimentado. En la evaluación descriptiva de la motilidad individual, se usa la siguiente calificación:

Tabla 13
Calificación en la evaluación descriptiva de la motilidad individual

Calificación	Descripción
Muy buena (MB)	80 - 100% con motilidad progresiva
Buena (B)	60 - 79% con motilidad progresiva
Regular (R)	40 - 59% con motilidad progresiva
Pobre (P)	< 40% con motilidad progresiva

Viabilidad. La evaluación rápida y precisa de la viabilidad de los espermatozoides es vital en la determinación de la calidad seminal. La viabilidad espermática debe entenderse como aquella que refleja la integridad de la membrana plasmática y, en la mayoría de los casos, también la membrana acrosomal de los espermatozoides. Para que el óvulo se fecunde, es requisito indispensable que la membrana del espermatozoide esté completamente íntegra.

La viabilidad espermática se basa en el análisis de la integridad de la membrana plasmática, mediante el uso de dos fluorocromos combinados. Uno de ellos es capaz de penetrar la membrana plasmática dañada o degenerada, y permite identificar las células muertas o en proceso de degeneración. Mientras, el otro es capaz de atravesar membranas celulares intactas y, por tanto, permite identificar poblaciones celulares vivas. Durante años, la evaluación de la viabilidad de espermatozoides se ha basado en procedimientos microscópicos que utilizan métodos de tinción simples o duales; la tinción eosina-nigrosina (EN) y la doble tinción han sido los más populares.

En las tinciones fluorescentes, la visualización de los fluorocromos requiere equipos especializados provistos de filtros adaptados a las longitudes de onda de excitación y emisión características de cada marcador. Por su parte, la evaluación de la viabilidad espermática mediante citometría de flujo constituye un método rápido, objetivo y preciso, ya que permite analizar simultáneamente miles de células y reducir la subjetividad asociada con las evaluaciones microscópicas convencionales (Hossain et al., 2011).

Una de las técnicas de fluorescencia más usadas para evaluar la viabilidad espermática de una muestra seminal es la que utiliza como colorantes el yoduro de propidio y el diacetato de carboxifluoresceína. El yoduro de propidio solo penetra los espermatozoides con daños en la membrana. Tiene afinidad por el ADN y tiñe el núcleo celular de color rojo. El diacetato de carboxifluoresceína puede atravesar la membrana espermática íntegra por difusión. En su interior, es hidrolizado por algunas enzimas que lo convierten en acetato de fluoresceína y que, bajo iluminación adecuada, emite fluorescencia de color verde (Chenoweth & Lorton, 2022).

El protocolo para montar la doble tinción fluorescente yoduro-carboxifluoresceína consiste en realizar una dilución de 1:200 del eyaculado en un medio de mantenimiento; posteriormente, tomar 200 μL de este semen diluido y adicionarle 5 μL de carboxifluoresceína (10 mM), 5 μL de yoduro de propidio (1.5 mM) y 5 μL de formaldehído (1.7 mM) e incubar por 15 minutos en condiciones de oscuridad. La lectura debe realizarse en microscopio de epifluorescencia a 400x, en un lapso no mayor a 30 minutos después de finalizada la incubación (Tabla 14).

Tabla 14

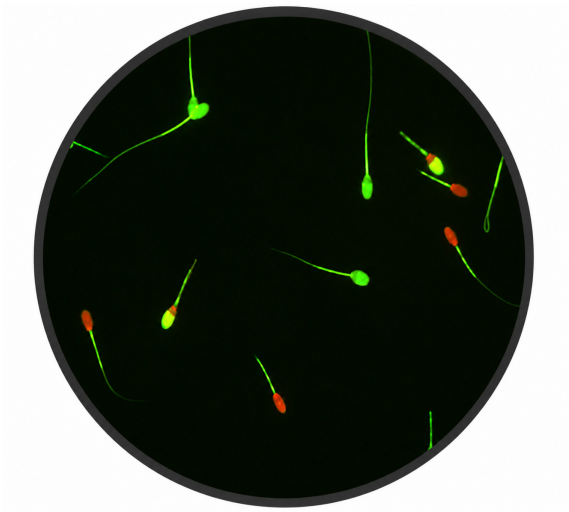
Valores promedio integral de membranas (técnica carboxifluorescencia / yoduro propidio) en ovinos criollos de pelo

Edad	N	Promedio ± Ds
10 meses	18	60,27±18,78
1 año	11	60,1±9,2
1,5 años	28	59,62±11,24
2 años	8	64,25±5,78
2,5 años	8	64,56±4,49
4 años	8	56,55±7,11

Para la lectura, se pone una gota homogenizada de 5µl entre el porta- y cubreobjeto, y se cuentan los espermatozoides; como mínimo, 200 células. La lectura de las coloraciones en cabeza, pieza intermedia y cola se interpreta de la siguiente manera. Ambas indican que el espermatozoide está vivo. El verde: funcional. Rojo, en alguna de las partes mencionadas: no funcionales (Figura 25).

Figura 25

Viabilidad espermática por técnica de fluorescencia



Morfología espermática. Este parámetro mide la forma de los espermatozoides contenidos en un eyaculado. Calcula el porcentaje de células con morfología normal o anormal de la muestra. Nos permite también predecir la fertilidad potencial del ovino. Una muestra con un alto porcentaje de anomalías tiene una menor probabilidad de fertilizar un óvulo. La evaluación de este parámetro se realiza mediante un frotis teñido con colorantes no fluorescentes como eosina-nigrosina, Giemsa, Wright o azul de tripán. Su lectura se realiza en un microscopio.

Las anomalías han sido descritas como primarias. Se producen durante el proceso de espermatogénesis y pueden ocurrir a nivel del acrosoma (pérdida del borde apical, abultamiento, arrugado, incompleto), cabeza (piriforme, flagelado, lanceolado, irregular, angosta, microcefalia, macrocefalia, defecto de diadema), cuello (fractura, gota citoplasmática proximal) y cola (corta, doble, retorcida, enrollada fuertemente sobre sí), entre otras (Delgado Cáceres, 2013) (Tabla 15).

Tabla 15
Promedios de anomalías en ovinos criollos de pelo

Parámetro evaluado	Edad (años)			
	1,5	2	2,5	4
Cola doblada	4,25 ± 1,92	4,75 ± 0,83	3,75 ± 1,92	4,50 ± 1,12
Cola enrollada	2,33 ± 0,47	2,67 ± 1,70	2,00 ± 1,22	2,00 ± 0
Cola enrollada sobre sí	1,00 ± 0	1,33 ± 0,47	2,00 ± 0	1,5 ± 0,87
Cabeza suelta	1,25 ± 0,43	1,00 ± 0	4,00 ± 3,56	1,5 ± 0,5
Cola suelta	2,33 ± 1,89	1,00 ± 0	1,00 ± 0	1,33 ± 0,47
Gota citoplasmática distal	NA	1,00 ± 0	NA	NA

Nota. Tomado del proyecto INNOVIS (AGROSAVIA, 2018).

Yániz et al. (2012) propusieron un método para determinar automáticamente la morfometría de la cabeza espermática en un tiempo reducido, lo que facilita su uso en el análisis de semen de rutina. Concluyeron que automatizar la morfometría de los espermatozoides es factible utilizando microscopía de fluorescencia y análisis de imágenes.

Las anomalías secundarias se originan durante el proceso de transporte de los espermatozoides desde el túbulo seminífero y/o epidídimo hasta la salida por la uretra en la eyaculación. Estas afectan principalmente la pieza intermedia y la cola del espermatozoide. Entre ellas, se encuentran cabezas pequeñas normales, cabezas pequeñas anchas y gigantes, cabezas sueltas, colas sueltas, membrana acrosomal

suelta, gotas citoplasmáticas distales, colas dobladas simple, cola enrollada simple, cola partida, etc.

La morfología mínima normal recomendada es del 70%. Este parámetro tiene un peso de 40% dentro de la evaluación reproductiva del macho. Estos valores pueden variar por efectos de temperatura, toma de la muestra y edad del animal. En ovinos pelibuey, el porcentaje reportado de anomalías es de $7,82 \pm 5,48$; dorper $8,69 \pm 5,65$; blackbelly $7 \pm 4,49$; katahdin $9,10 \pm 4,35$ y ovino criollo de pelo de $10,04 \pm 6,20$.

Pruebas complementarias en la evaluación espermática

Con el propósito de obtener una mejor visión sobre la capacidad fecundante de los espermatozoides de una muestra seminal, se han desarrollado una serie de pruebas que involucran aspectos a nivel celular y molecular. En este apartado, se hablará sobre algunas de estas técnicas.

Fertilización *in vitro* de ovocitos homólogos. Esta es una técnica de laboratorio en la que se evalúan los machos, de acuerdo con el número de ovocitos que fecunden en condiciones *in vitro*. Sin embargo, se reportan resultados contradictorios. Pueden explicarse por el hecho de no poder detectar defectos no remediables en los espermatozoides empleados. Esta prueba es, tal vez, la más relevante para evaluar la capacidad fecundante del espermatozoide, pero la correlación con los resultados de fertilidad *in vivo* no ha sido convincente; en muchas ocasiones, los resultados han sido inconsistentes. Esta prueba consume tiempo y dinero, por lo que ahora no es común realizarla. Además, al ser una prueba *in vitro*, no tiene en cuenta aspectos relacionados con el paso del espermatozoide a través del tracto genital femenino.

Inducción *in vitro* de la reacción acrosómica. Con esta prueba, se aprovecha el hecho de que el espermatozoide debe llegar con su membrana plasmática íntegra al sitio de la fecundación y alcanzar la reacción de su acrosoma ante la presencia del óvulo, para que el contenido de enzimas presentes sea liberado y se produzca su fusión con el óvulo. Esta prueba es mucho más fácil y rápida que la anterior; pero, igualmente, se asumen aspectos relacionados con el óvulo que no están presentes en su realización.

Test de equilibrio osmótico. La funcionalidad de la membrana celular espermática es una propiedad que permite el transporte de moléculas de forma selectiva a través de la membrana. Con el fin de mantener el equilibrio osmótico en un ambiente hiposmótico, los espermatozoides permiten que las moléculas de agua atraviesen la membrana plasmática. El test hiposmótico aprovecha esta propiedad para determinar la integridad de la membrana plasmática y, consecuentemente,

la viabilidad del espermatozoide. Mide la habilidad del espermatozoide para resistir cambios osmóticos en su entorno. Si la membrana plasmática está íntegra y funcional, el espermatozoide se expande a medida que entra el agua a la célula para mantener el equilibrio osmótico (Figura 26).

En conclusión, el test de equilibrio osmótico proporciona una medida precisa y repetible de la integridad de la membrana funcional, definida como la capacidad de la membrana externa de los espermatozoides para mantener el equilibrio entre el contenido de los espermatozoides y el entorno circundante.

Integridad de la cromatina del espermatozoide. Como ya quedó dicho en el capítulo 4, el daño en la cromatina se adquiere en el momento de la espermatogénesis y durante la maduración del espermatozoide. Las alteraciones en la estructura de la cromatina solo se manifiestan hasta cuando ocurre la fusión del espermatozoide y el ovocito, cuando se activa el ovocito o en las etapas iniciales del desarrollo embrionario.

La integridad de la estructura de la cromatina se ha correlacionado altamente con la fertilidad del espermatozoide ovino. Los espermatozoides que contienen cromatina inestable son capaces de fecundar el ovocito tanto *in vivo* como *in vitro*.

Figura 26

Espermatozoides con reacción positiva a la prueba de equilibrio osmótico



Nota. Las flechas indican los espermatozoides con relación positiva. Tomado de Santiani et al. (2004).

Sin embargo, el defecto puede persistir durante el periodo embrionario, lo cual induce a la apoptosis, interrupción embrionaria y aborto. En semen fresco, se acepta hasta 7,1% de espermatozoides con inestabilidad de la cromatina nuclear; mientras, en semen fresco diluido, de 0,5 a 8%. La fragmentación de la cromatina de los espermatozoides puede deberse a varios factores. Los más importantes son las ROS.

Fragmentación del ADN. Un espermatozoide con daño en el ADN puede fertilizar un ovocito, pero los efectos se van a observar posteriormente con el desarrollo del embrión y el feto. Se han generado varios métodos para evaluar la integridad del ADN; una de ellas es la técnica de tinción fluorescente de naranja de acridina.

También se usa el método de Wright, que permite visualizar el procedimiento en microscopio de luz normal. Esta técnica puede unirse a otras que utilizan kits (Sperm-HalomaxI kit, ChromaCell SL, Madrid, España) para ver en microscopios de fluorescencia. La dispersión observada denota el grado de fragmentación.

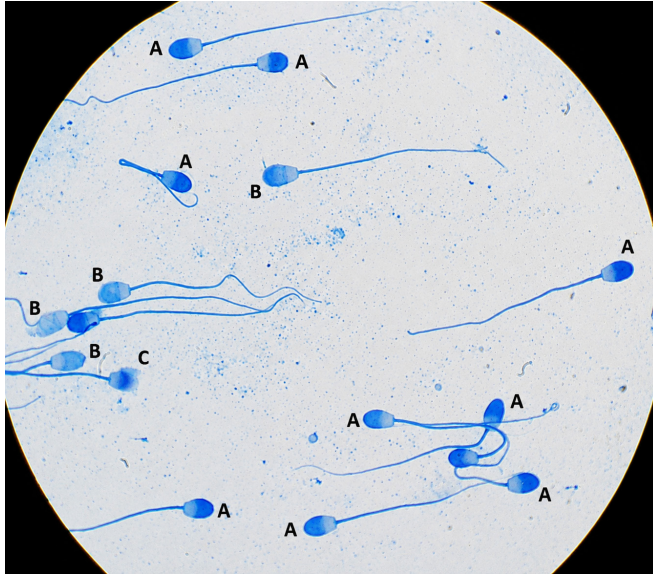
Cuando los espermatozoides eyaculados se utilizan con fines de reproducción artificial, se produce un episodio de variación de temperatura, porque los espermatozoides, a menudo, se almacenan como muestras congeladas o refrigeradas, y la temperatura biológica solo se recupera después de la inseminación. Estos procedimientos pueden desencadenar procesos de fragmentación del ADN espermático. Otro método que se utiliza para determinar la degradación del ADN se conoce como método de TUNEL (*transferase-mediated dUTP nick end labeling*) y se puede utilizar para la detección tanto por medio de citometría de flujo como por microscopia. Esta técnica permite determinar la presencia de fragmentación de ADN en células individuales, por lo que es posible conocer la proporción de células que están muriendo por apoptosis en un determinado momento (López-Fernández et al., 2008).

Potencial de membrana mitocondrial. La importancia de determinar este factor radica en el hecho que es la mitocondria la responsable de la producción de ATP y sostiene la motilidad del espermatozoide.

La valoración de integridad acrosomal. Se realiza con la tinción de azul de Coomassie. El acrosoma está localizado en la parte anterior de la cabeza del espermatozoide, está formado por dos membranas que contienen entre ellas glicoproteínas, azúcares y enzimas. Estas enzimas desempeñan papeles fundamentales en el proceso de fecundación, al participar en la digestión de la zona pelúcida, y permiten la penetración del óvulo por el espermatozoide (Chenoweth & Lorton, 2022). Mediante la tinción, se pueden identificar espermatozoides con acrosoma íntegro y con acrosoma reaccionado (alterado) (Figura 27).

Figura 27

Espermatozoides con valoración de integridad acrosomal



Nota. A: espermatozoide con acrosoma íntegro. B: espermatozoide con acrosoma reaccionado (no íntegro). C: espermatozoide sin acrosoma.

Los trabajos adelantados por nuestro grupo (AGROSAVIA, 2018) evidenciaron valores promedio de acrosoma íntegro en ovino criollo de pelo de $66,70 \pm 7,83$, acrosoma no íntegro o alterado de $30,7 \pm 8,2$ y reaccionados $4,35 \pm 3,5$ en semen fresco.

Conclusiones

El presente libro constituye una aproximación integral al manejo reproductivo y genético de los sistemas ovinos, pues aborda desde fundamentos biológicos y fisiológicos hasta herramientas avanzadas como la proteómica, con el propósito de contribuir al fortalecimiento técnico y científico del sector ovino en contextos tropicales.

En primer lugar, se resalta que el desempeño reproductivo y productivo de los ovinos no depende exclusivamente del potencial genético de los animales, sino de la interacción compleja entre factores ambientales, nutricionales, sanitarios y de manejo. En este sentido, el conocimiento de la fisiología reproductiva, así como de los mecanismos de adaptación al trópico, permite orientar prácticas que reduzcan las limitaciones impuestas por el entorno y mejoren la eficiencia de los sistemas productivos.

Uno de los principales aportes del texto radica en la valorización de los recursos genéticos criollos, los cuales constituyen una reserva estratégica de adaptación frente a condiciones adversas propias del trópico. Si bien la introducción de razas mejoradas ha sido una estrategia ampliamente adoptada para incrementar la productividad, se evidencia la necesidad de implementar estos procesos bajo criterios técnicos, para evitar la erosión genética y promoviendo esquemas de mejoramiento que integren productividad y adaptación.

Desde la perspectiva genética, los resultados y discusiones presentados permiten orientar la selección de reproductores con base en criterios más objetivos, que incluyen tanto características productivas como adaptativas. En este contexto, el uso de registros productivos, evaluaciones genealógicas y herramientas de análisis genómico se consolida como un componente fundamental para la toma de decisiones informadas en los sistemas ovinos.

Por otra parte, el abordaje proteómico expuesto en la obra amplía la comprensión de los procesos reproductivos a nivel molecular, ya que permite identificar proteínas y biomarcadores asociados a la fertilidad, la calidad seminal y la competencia ovocitaria. Esta información representa una herramienta emergente para la evaluación de reproductores y el desarrollo de tecnologías reproductivas más eficientes, con potencial aplicación en la selección temprana de animales de alto valor genético.

La aplicación de los conocimientos desarrollados en este libro permite establecer lineamientos fundamentales para el manejo reproductivo y genético en los sistemas de producción ovina. En este sentido, resulta esencial estructurar planes de

manejo reproductivo que incidan positivamente en parámetros clave como la fertilidad, la prolificidad y la reducción de los intervalos entre partos. Asimismo, la selección de reproductores debe apoyarse en información objetiva y cuantificable, incorporando datos productivos, fenotípicos y, cuando sea posible, genéticos, dejando atrás la simple valoración visual como único criterio de decisión.

Un aspecto igualmente relevante es la planificación cuidadosa de los cruzamientos, procurando tanto el mejoramiento de las características productivas como la conservación de la adaptación al entorno, fundamental para la sostenibilidad de los sistemas tropicales. Paralelamente, la implementación de registros reproductivos y productivos se erige como herramienta indispensable para evaluar el desempeño del rebaño y orientar con precisión las decisiones técnicas. La integración de estrategias nutricionales y ambientales adecuadas también repercute de manera directa sobre los resultados reproductivos, lo cual favorece la eficiencia y la competitividad del sistema. La puesta en práctica de estas orientaciones facilita que productores, técnicos y profesionales traduzcan el conocimiento científico en acciones concretas de manejo; así, podrán incrementar la sostenibilidad y eficacia de la ovinocultura. Por otra parte, los avances presentados abren espacios prometedores para futuras investigaciones, como la validación de biomarcadores proteómicos de fertilidad en condiciones de campo, el desarrollo de modelos de selección más precisos integrando información genética, genómica y productiva, y la evaluación de estrategias de mejoramiento que prioricen la conservación de la variabilidad genética de las poblaciones criollas.

El fortalecimiento de la investigación en reproducción asistida, especialmente adaptada a contextos tropicales y a sistemas de pequeña y mediana escala, representa otro eje prioritario para potenciar la productividad. Además, resulta fundamental analizar el impacto del cambio climático sobre la reproducción ovina, en lo cual deben desarrollarse estrategias de adaptación que permitan enfrentar los desafíos que impone el entorno. Todas estas líneas de acción contribuyen a consolidar el conocimiento científico y su transferencia efectiva al sector productivo, garantizando el uso sostenible de los recursos genéticos y la viabilidad de la ovinocultura en el trópico.

En síntesis, este libro no solo recopila información científica de actualidad, sino que ofrece un marco de referencia integral que articula el conocimiento académico con la realidad del campo, y facilita la comprensión y aplicación de prácticas innovadoras que fortalecen la producción ovina bajo condiciones tropicales.

Referencias

- Agarwal, A., Makker, K., & Sharma, R. (2008). Clinical Relevance of Oxidative Stress in Male Factor Infertility: An Update. *American Journal of Reproductive Immunology*, 59(1), 2–11. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2007.00559.x>
- Agarwal, A., Saleh, R. A., & Bedaiwy, M. A. (2003). Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertility and Sterility*, 79(4), 829–843. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(02\)04948-8](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(02)04948-8)
- Aguayo, L., Miranda, G., Pascual, M., Olleta, J., Villarroel, M., & María, G. (2013). Efecto del enriquecimiento ambiental sobre el bienestar, la producción y la calidad de la carne de corderos de cebaderos: rampas de alimentación. En J. H. Calvo Lactosa, I. Casasús Pueyo, M. Joy Torrens, J. Álvarez Rodríguez, L. Varona Aguado, B. Panea Doblao, C. Calvete Margolles, & J. Belcells Teres (Eds.), *XV Jornadas sobre Producción Animal (Tomo I)* (pp. 49–51). Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario. <https://www.aida-itea.org/aida-itea/files/jornadas/2013/2013-%20XV%20Jornadas%20Prod.%20Animal%20TOMO%20I.pdf>
- Aitken, R. J., & Baker, M. A. (2013). Causes and consequences of apoptosis in spermatozoa; contributions to infertility and impacts on development. *International Journal of Developmental Biology*, 57(2–4), 265–272. <https://doi.org/10.1387/ijdb.130146ja>
- Aké-Villanueva, J. R., Aké-López, J. R., Magaña-Monforte, J. G., & Segura-Correa, J. C. (2019). Reproductive behavior in hair sheep rams under tropical conditions. *Tropical Animal Health and Production*, 51(6), 1627–1635. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01856-8>
- Akey, J. M., Zhang, G., Zhang, K., Jin, L., & Shriver, M. D. (2002). Interrogating a High-Density SNP Map for Signatures of Natural Selection. *Genome Research*, 12(12), 1805–1814. <https://doi.org/10.1101/gr.631202>
- Alexander, D. H., Novembre, J., & Lange, K. (2009). Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research*, 19(9), 1655–1664. <https://doi.org/10.1101/gr.094052.109>
- Alvarez, J. G., & Storey, B. T. (1989). Role of glutathione peroxidase in protecting mammalian spermatozoa from loss of motility caused by spontaneous lipid peroxidation. *Gamete Research*, 23(1), 77–90. <https://doi.org/10.1002/mrd.1120230108>

- Amann, R. P., & Waberski, D. (2014). Computer-assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potential developments. *Theriogenology*, 81(1), 5-17.e3. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.004>
- Ambekar, A. S., Nirujogi, R. S., Srikanth, S. M., Chavan, S., Kelkar, D. S., Hinduja, I., Zaveri, K., Prasad, T. S. K., Harsha, H. C., Pandey, A., & Mukherjee, S. (2013). Proteomic analysis of human follicular fluid: A new perspective towards understanding folliculogenesis. *Journal of Proteomics*, 87, 68-77. <https://doi.org/10.1016/j.jpro.2013.05.017>
- Ambulo Pineda, Y. H. (2025). *Respuestas fisiológicas, características morfológicas y desempeño productivo de corderos FI (Pelibuey x Dorper) y FI (Pelibuey x Katahdin) en sistema estabulado bajo condiciones tropicales* [Universidad de Panamá: tesis de pregrado]. <http://up-rid.up.ac.pa/id/eprint/8626>
- Arangasamy, A., Singh, L. P., Ahmed, N., Ansari, M. R., & Ram, G. C. (2005). Isolation and characterization of heparin and gelatin binding buffalo seminal plasma proteins and their effect on cauda epididymal spermatozoa. *Animal Reproduction Science*, 90(3-4), 243-254. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.12.014>
- Ax, R. L., Dickson, K., & Lenz, R. W. (1985). Induction of acrosome reactions by chondroitin sulfates in vitro corresponds to nonreturn rates of dairy bulls. *Journal of dairy science*, 68(2), 387-390. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)80836-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)80836-5)
- Baker, M. A., & Aitken, R. J. (2004). The importance of redox regulated pathways in sperm cell biology. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 216(1-2), 47-54. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2003.10.068>
- Barrios, B., Fernández-Juan, M., Muñio-Blanco, T., & Cebrián-Pérez, J. A. (2005). Immunocytochemical Localization and Biochemical Characterization of Two Seminal Plasma Proteins That Protect Ram Spermatozoa Against Cold Shock. *Journal of Andrology*, 26(4), 539-549. <https://doi.org/10.2164/jandrol.04172>
- Barrios, B., Pérez-Pé, R., Gallego, M., Tato, A., Osada, J., Muñio-Blanco, T., & Cebrián-Pérez, J. A. (2000). Seminal Plasma Proteins Revert the Cold-Shock Damage on Ram Sperm Membrane1. *Biology of Reproduction*, 63(5), 1531-1537. <https://doi.org/10.1095/biolreprod63.5.1531>
- Barrios, C. (2018). *Elección de la raza en la granja ovina*. Asociación de Criadores de Ganado Ovino de Colombia. <https://es.scribd.com/document/913379020/Eleccion-de-La-Raza>

- Bartlewski, P. M., Beard, A. P., Cook, S. J., Chandolia, R. K., Honaramooz, A., & Rawlings, N. C. (1999). Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *Reproduction*, 115(1), 111–124. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1150111>
- Baumber, J., Ball, B. A., Linfor, J. J., & Meyers, S. A. (2003). Reactive Oxygen Species and Cryopreservation Promote DNA Fragmentation in Equine Spermatozoa. *Journal of Andrology*, 24(4), 621–628. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2003.tb02714.x>
- Bergeron, A., Villemure, M., Lazure, C., & Manjunath, P. (2005). Isolation and characterization of the major proteins of ram seminal plasma. *Molecular Reproduction and Development*, 71(4), 461–470. <https://doi.org/10.1002/mrd.20310>
- Bijttebier, J., Tilleman, K., Dhaenens, M., Deforce, D., Van Soom, A., & Maes, D. (2009). Comparative proteome analysis of porcine follicular fluid and serum reveals that excessive $\alpha 2$ -macroglobulin in serum hampers successful expansion of cumulus-oocyte complexes. *PROTEOMICS*, 9(19), 4554–4565. <https://doi.org/10.1002/pmic.200900270>
- Brewis, I. a, & Wong, C. H. (1999). Gamete recognition: sperm proteins that interact with the egg zona pellucida. *Reviews of reproduction*, 4(3), 135–142. <https://doi.org/10.1530/ror.0.0040135>
- Browning, S. R., & Browning, B. L. (2011). Haplotype phasing: existing methods and new developments. *Nature Reviews Genetics*, 12(10), 703–714. <https://doi.org/10.1038/nrg3054>
- Burger, H. G. (1988). Inhibin: definition and nomenclature, including related substances. *Journal of Endocrinology*, 117(2), 159–160. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1170159>
- Calvete, J. J., Carrera, E., Sanz, L., & Töpfer-Petersen, E. (1996). Boar Spermadhesins AQN-1 and AQN-3: Oligosaccharide and Zona Pellucida Binding Characteristics. *Biological Chemistry Hoppe-Seyler*, 377(7–8), 521–528. <https://doi.org/10.1515/bchm3.1996.377.7-8.521>
- Calvete, J. J., Ensslin, M., Mburu, J., Iborra, A., Martínez, P., Adermann, K., Waberski, D., Sanz, L., Töpfer-Petersen, E., Weitze, K.-F., Einarsson, S., & Rodríguez-Martínez, H. (1997). Monoclonal Antibodies against Boar Sperm Zona Pellucida-Binding Protein AWN-1. Characterization of a Continuous Antigenic Determinant and Immunolocalization Of AWN Epitopes in Inseminated Sows. *Biology of Reproduction*, 57(4), 735–742. <https://doi.org/10.1095/biolreprod57.4.735>

- Calvete, J. J., Mann, K., Sanz, L., Raida, M., & Töpfer-Petersen, E. (1996). The primary structure of BSP-30K, a major lipid-, gelatin-, and heparin-binding glycoprotein of bovine seminal plasma. *FEBS Letters*, 399(1-2), 147-152. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(96\)01310-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(96)01310-5)
- Calvete, J. J., Mann, K., Schäfer, W., Raida, M., Sanz, L., & Töpfer-Petersen, E. (1995). Boar spermadhesin PSP-II: Location of posttranslational modifications, heterodimer formation with PSP-I glycoforms and effect of dimerization on the ligand-binding capabilities of the subunits. *FEBS Letters*, 365(2-3), 179-182. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(95\)00452-F](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)00452-F)
- Calvete, J. J., Raida, M., Gentzel, M., Urbanke, C., Sanz, L., & Töpfer-Petersen, E. (1997). Isolation and characterization of heparin- and phosphorylcholine-binding proteins of boar and stallion seminal plasma. Primary structure of porcine pBl. *FEBS Letters*, 407(2), 201-206. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)00344-X](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)00344-X)
- Cansino-Arroyo, G., Herrera-Camacho, J., & Aké-López, J. R. (2009). Tasas de concepción, fertilidad y prolificidad en ovejas de pelo alimentadas con dietas enriquecidas con ácidos grasos polinsaturados. *Universidad y Ciencia*, 25(2). https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-29792009000200008
- Cardozo, J. (2006). *Identificación mediante electroforesis bidimensional de proteínas del plasma seminal ovino capaces de proteger de los daños del frío [tesis]*. Universidad de Zaragoza.
- Cardozo, J. A., Fernández-Juan, M., Forcada, F., Abecia, A., Muiño-Blanco, T., & Cebrián-Pérez, J. A. (2006). Monthly variations in ovine seminal plasma proteins analyzed by two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Theriogenology*, 66, 841-850. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.058>
- Cardozo, J. A., Grasa, P., Muriño, M. T., & Cebrián, J. Á. (2009). Adición de proteínas del plasma seminal ovino durante la congelación del espermatozoide y efectos sobre su motilidad y viabilidad. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 10(1), 51-59. https://doi.org/10.21930/rcta.vol10_num1_art:128
- Cardozo, J. A., Velásquez, J. G., Rodríguez, G., Prieto, E., Tarazona, G., & Espitia, A. (2002). *Evaluación reproductiva del macho bovino en condiciones tropicales*. https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/16507/Ver_Documento_16507.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Chay-Canul, A. J. (2019). Productividad de ovejas Pelibuey y Katahdin en el trópico húmedo. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 6(16), 159–165. <https://doi.org/10.19136/era.a6n16.1872>
- Chen, Z. P., Yan, Y. P., Ding, Q. J., Knapp, S., Potenza, J. A., Schugar, H. J., & Chen, K. Y. (1996). Effects of inhibitors of deoxyhypusine synthase on the differentiation of mouse neuroblastoma and erythroleukemia cells. *Cancer Letters*, 105(2), 233–239. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(96\)04287-5](https://doi.org/10.1016/0304-3835(96)04287-5)
- Chenoweth, P. J., & Lorton, S. P. (2022). *Manual of Animal Andrology*. CABI.
- Codazzi, C. (2020). *AGROSAVIA y Asoovinos fortalecen el mejoramiento genético de los ovinos*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. <https://www.agrosavia.co/noticias/agrosavia-y-asooovinos-convenio>
- Dandekar, S. P., Nadkarni, G. D., Kulkarni, V. S., & Punekar, S. (2002). Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in male infertility. *Journal of Postgraduate Medicine*, 48(3), 186–189.
- De, K., Saxena, V. K., Kumar, D., Mohapatra, A., Balagnur, K., & Naqvi, S. M. K. (2019). Oscillatory thermo-regulatory behavior of fecundity-gene-introgressed sheep in the hot semi-arid region. *Journal of Veterinary Behavior*, 33, 75–80. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2019.06.005>
- De Menezes, E. B., van Tilburg, M., Plante, G., de Oliveira, R. V., Moura, A. A., & Manjunath, P. (2016). Milk proteins interact with goat Binder of SPERM (BSP) proteins and decrease their binding to sperm. *Cell and Tissue Research*, 366(2), 427–442. <https://doi.org/10.1007/s00441-016-2438-2>
- Delgado Cáceres, B. E. (2013). *Evaluación espermática de semen de ovino tratado por la técnica de gradiente de densidad [tesis de pregrado]* [Universidad Ricardo Palma]. <https://repositorio.urp.edu.pe/entities/publication/26a57952-a8bb-4eb8-adbe-686c2b381d01>
- Desnoyers, L., & Manjunath, P. (1992). Major proteins of bovine seminal plasma exhibit novel interactions with phospholipid. *The Journal of biological chemistry*, 267(14), 10149–10155. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1577785/>
- Desnoyers, L., Théarien, I., & Manjunath, P. (1994). Characterization of the major proteins of bovine seminal fluid by two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Molecular Reproduction and Development*, 37(4), 425–435. <https://doi.org/10.1002/mrd.1080370409>

- Díaz-Hernández, V., Márquez, Y., & Merchant-Larios, H. (2021). *Reproducción de los animales domésticos*. Universidad Nacional Autónoma de México. <https://reproduccionanimalesdomesticos.fmvz.unam.mx/libro/index.html>
- Dostalova, Z., Calvete, J. J., Sanz, L., & Topfer-Petersen, E. (1995). Boar Spermadhesin AWN-1. Oligosaccharide and Zona Pellucida Binding Characteristics. *European Journal of Biochemistry*, 230(1), 329–336. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1995.tb20567.x>
- Fahiminiya, S., Labas, V., Dacheux, J., & Gérard, N. (2011). Improvement of 2D-PAGE Resolution of Human, Porcine and Equine Follicular Fluid by Means of Hexapeptide Ligand Library. *Reproduction in Domestic Animals*, 46(3), 561–563. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2010.01683.x>
- Fahiminiya, S., Reynaud, K., Labas, V., Batard, S., Chastant-Maillard, S., & Gérard, N. (2010). Steroid hormones content and proteomic analysis of canine follicular fluid during the preovulatory period. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 8(132), 1–14. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-8-132>
- FAOSTAT. (2021). *Datos sobre alimentación y agricultura*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <https://www.fao.org/faostat/es/#home>
- Fariello, M.-I., Servin, B., Tosser-Klopp, G., Rupp, R., Moreno, C., Cristobal, M. S., & Boitard, S. (2014). Selection Signatures in Worldwide Sheep Populations. *PLoS ONE*, 9(8), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103813>
- Fernández, J. C. N., Herrera, N. P., Vergara, M. A., Coronado, L. M., Rúgeles, C. P., Rueda, F. A., & Cardozo, J. C. (2022). Seminal plasma proteins and sperm quality of Romosinuano and Costeño con Cuernos bulls. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*, 33(2), 1–15. <https://doi.org/10.15381/rivep.v33i2.21033>
- Findlay, J. K. (1993). An Update on the Roles of Inhibin, Activin, and Follistatin as Local Regulators of Folliculogenesis. *Biology of Reproduction*, 48(1), 15–23. <https://doi.org/10.1095/biolreprod48.1.15>
- Fleischer, J., Breer, H., & Strotmann, J. (2009). Mammalian olfactory receptors. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 3(9), 1–10. <https://doi.org/10.3389/neuro.03.009.2009>
- Flesch, F. M., & Gadella, B. M. (2000). Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes*, 1469(3), 197–235. [https://doi.org/10.1016/S0304-4157\(00\)00018-6](https://doi.org/10.1016/S0304-4157(00)00018-6)

- Flórez Murillo, J. M., Hernández Pérez, M. D. J., Bustamante Yáñez, M. D. J., & Vergara Garay, O. D. (2020). Caracterización morfológica y faneróptica de hembras Ovino de Pelo Criollo Colombiano "OPC" Sudán. *Revista MVZ Córdoba*, 25(1). <https://doi.org/10.21897/rmvz.1263>
- Foley, C., Chapwanya, A., Creevey, C. J., Narciandi, F., Morris, D., Kenny, E. M., Cormican, P., Callanan, J. J., O'Farrelly, C., & Meade, K. G. (2012). Global endometrial transcriptomic profiling: transient immune activation precedes tissue proliferation and repair in healthy beef cows. *BMC Genomics*, 13(489), 1–13. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-489>
- Franck, E., Madsen, O., van Rheede, T., Ricard, G., Huynen, M. A., & de Jong, W. W. (2004). Evolutionary Diversity of Vertebrate Small Heat Shock Proteins. *Journal of Molecular Evolution*, 59(6), 792–805. <https://doi.org/10.1007/s00239-004-0013-z>
- García-López, N., Ollero, M., Cebrián-Pérez, J. A., & Muiño-Blanco, T. (1996). Reversion of thermic-shock effect on ram spermatozoa by adsorption of seminal plasma proteins revealed by partition in aqueous two-phase systems. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 680(1–2), 137–143. [https://doi.org/10.1016/0378-4347\(95\)00394-0](https://doi.org/10.1016/0378-4347(95)00394-0)
- Gibb, Z., Blanco-Prieto, O., & Bucci, D. (2021). The role of endogenous antioxidants in male animal fertility. *Research in Veterinary Science*, 136, 495–502. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.03.024>
- Gizaw, S., & Tegegne, A. (2018). Bio-economic and operational feasibility of introducing oestrus synchronization and artificial insemination in simulated smallholder sheep breeding programmes. *Animal*, 12(7), 1517–1526. <https://doi.org/10.1017/S1751731117003032>
- Gray-Owen, S. D., & Blumberg, R. S. (2006). CEACAM1: contact-dependent control of immunity. *Nature Reviews Immunology*, 6(6), 433–446. <https://doi.org/10.1038/nri1864>
- Guttman, J. A., Obinata, T., Shima, J., Griswold, M., & Vogl, A. W. (2004). Non-Muscle Cofilin Is a Component of Tubulobulbar Complexes in the Testis1. *Biology of Reproduction*, 70(3), 805–812. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.022723>
- Gwathmey, T. M., Ignatz, G. G., & Suarez, S. S. (2003). PDC-109 (BSP-A1/A2) Promotes Bull Sperm Binding to Oviductal Epithelium In Vitro and May Be Involved in Forming the Oviductal Sperm Reservoir1. *Biology of Reproduction*, 69(3), 809–815. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.010827>

- Haase, B., Schlötterer, C., Hundrieser, M. E., Kuiper, H., Distl, O., Töpfer-Petersen, E., & Leeb, T. (2005). Evolution of the spermadhesin gene family. *Gene*, 352, 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2005.04.015>
- Hafez, B., & Hafez, E. S. E. (Eds.). (2000). *Reproduction in Farm Animals*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119265306>
- Hahn, G. L., & Mader, T. L. (1997). Heat waves in relation to thermoregulation, feeding behaviour and mortality of feedlot cattle. En R. W. Bottcher & S. J. Hoff (Eds.), *Proceedings of the Fifth International Symposium* (pp. 563–571). American Society of Agricultural Engineers (ASAE). <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19982210651>
- Hossain, Md. S., Johannisson, A., Wallgren, M., Nagy, S., Siqueira, A. P., & Rodriguez-Martinez, H. (2011). Flow cytometry for the assessment of animal sperm integrity and functionality: state of the art. *Asian Journal of Andrology*, 13(3), 406–419. <https://doi.org/10.1038/aja.2011.15>
- Iñiguez Rojas, L. (Ed.). (2013). *La producción de rumiantes menores en las zonas áridas de Latinoamérica*. Embrapa, IFAD, ICARDA.
- Jonas, E., & Koning, D.-J. (2015). Genomic selection needs to be carefully assessed to meet specific requirements in livestock breeding programs. *Frontiers in Genetics*, 6(49), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00049>
- Kastelic, J. P. (2014). Thermoregulation of the Testes. En R. M. Hopper (Ed.), *Bovine Reproduction* (pp. 26–29). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118833971.ch3>
- Kijas, J. W., Lenstra, J. A., Hayes, B., Boitard, S., Porto Neto, L. R., San Cristobal, M., Servin, B., McCulloch, R., Whan, V., Gietzen, K., Paiva, S., Barendse, W., Ciani, E., Raadsma, H., McEwan, J., & Dalrymple, B. (2012). Genome-Wide Analysis of the World's Sheep Breeds Reveals High Levels of Historic Mixture and Strong Recent Selection. *PLoS Biology*, 10(2), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001258>
- Kim, Y.-S., Gu, B.-H., Choi, B.-C., Kim, M.-S., Song, S., Yun, J.-H., Chung, M. K., Choi, C.-H., & Baek, K.-H. (2013). Apolipoprotein A-IV as a novel gene associated with polycystic ovary syndrome. *International Journal of Molecular Medicine*, 31(3), 707–716. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2013.1250>

- Kumar, D., De, K., Sejian, V., & Naqvi, S. M. K. (2017). Impact of Climate Change on Sheep Reproduction. En V. Sejian, R. Bhatta, J. B. Gaughan, P. Malik, M. Naqvi, & R. Lal (Eds.), *Sheep Production Adapting to Climate Change* (pp. 71–93). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4714-5_3
- Kumar, P., Kumar, D., Singh, I., & Yadav, P. S. (2012). Seminal Plasma Proteome: Promising Biomarkers for Bull Fertility. *Agricultural Research*, 1(1), 78–86. <https://doi.org/10.1007/s40003-011-0006-2>
- La diversidad biológica de Iberoamérica I. (1992). En G. Halffter (Ed.), *La Diversidad Biológica De Iberoamérica I*. Instituto de Ecología A. C. https://www.rds.org.co/apc-aa-files/ba03645a7c069b5ed406f13122a61c07/diversidad_biologica_iberoamerica.pdf
- Laplante, A. F., Moulin, V., Auger, F. A., Landry, J., Li, H., Morrow, G., Tanguay, R. M., & Germain, L. (1998). Expression of heat shock proteins in mouse skin during wound healing. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 46(11), 1291–1301. <https://doi.org/10.1177/002215549804601109>
- Larsson, B., & Rodriguez-Martinez, H. (2000). Can we use in vitro fertilization tests to predict semen fertility? *Animal Reproduction Science*, 60–61, 327–336. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00089-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00089-0)
- Leblond, E., Desnoyers, L., & Manjunath, P. (1993). Phosphorylcholine-binding proteins from the seminal fluids of different species share antigenic determinants with the major proteins of bovine seminal plasma. *Molecular Reproduction and Development*, 34(4), 443–449. <https://doi.org/10.1002/mrd.1080340414>
- Li, K., Xue, Y., Chen, A., Jiang, Y., Xie, H., Shi, Q., Zhang, S., & Ni, Y. (2014). Heat shock protein 90 has roles in intracellular calcium homeostasis, protein tyrosine phosphorylation regulation, and progesterone-responsive sperm function in human sperm. *PLoS ONE*, 9(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115841>
- Liliana J. Chacón, Germán D. Yepes, Jaime Cardozo, Fabian Rueda, Viviana Castillo, Andres Torres, Jorge Martins, & Ariosto Ardila. (2023). Seminal Plasma Proteins Associated with The Fertility of Brahman Bulls in The Colombian Low Tropics. *Tropical Life Sciences Research*, 34(3). <https://doi.org/10.21315/tlsr2023.34.3.14>
- Linington, M. J. (1990). The use of Sanga cattle in beef production. *Technical Communication (Department of Agriculture, South Africa)*, (223), 31–37. <http://www.cabdirect.org/abstracts/19910191726.html>

- Liu, Z., Ji, Z., Wang, G., Chao, T., Hou, L., & Wang, J. (2016). Genome-wide analysis reveals signatures of selection for important traits in domestic sheep from different ecoregions. *BMC Genomics*, 17(863), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3212-2>
- López-Fernández, C., Fernández, J. L., Gosálbez, A., Arroyo, F., Vázquez, J. M., Holt, W. V., & Gosálvez, J. (2008). Dynamics of sperm DNA fragmentation in domestic animals. *Theriogenology*, 70(6), 898–908. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.055>
- Love, C. C. (2005). The sperm chromatin structure assay: A review of clinical applications. *Animal Reproduction Science*, 89(1–4), 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.06.019>
- Lu, Z., Ma, Y., Zhang, Q., Zhao, X., Zhang, Y., & Zhang, L. (2018). Proteomic analyses of ram (*Ovis aries*) testis during different developmental stages. *Animal Reproduction Science*, 189, 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.12.012>
- Luna, C., Colás, C., Casao, A., Serrano, E., Domingo, J., Pérez-Pé, R., Cebrián-Pérez, J. A., & Muño-Blanco, T. (2015). Ram seminal plasma proteins contribute to sperm capacitation and modulate sperm-zona pellucida interaction. *Theriogenology*, 83(4), 670–678. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.10.030>
- Macías Cruz, U., Gastélum, M. A., Avendaño-Reyes, L., Correa-Calderón, A., Mellado, M., Chay-Canul, A., & Arechiga, C. F. (2018). Variaciones en las respuestas termoregulatorias de ovejas de pelo durante los meses de verano en un clima desértico. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 9(4), 738–753. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v9i4.4527>
- Maddison, J. W., Rickard, J. P., Bernecic, N. C., Tsikis, G., Soleilhavoup, C., Labas, V., Combes-Soia, L., Harichaux, G., Druart, X., Leahy, T., & de Graaf, S. P. (2017). Oestrus synchronisation and superovulation alter the cervicovaginal mucus proteome of the ewe. *Journal of Proteomics*, 155, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.01.007>
- Magalhães, M. J., Martins, L. F., Senra, R. L., Santos, T. F. dos, Okano, D. S., Pereira, P. R. G., Faria-Campos, A., Campos, S. V. A., Guimarães, J. D., & Baracat-Pereira, M. C. (2016). Differential abundances of four forms of Binder of Sperm 1 in the seminal plasma of *Bos taurus indicus* bulls with different patterns of semen freezability. *Theriogenology*, 86(3), 766–777.e2. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.02.030>

- Maniwa, J., Izumi, S., Isobe, N., & Terada, T. (2005). Studies on substantially increased proteins in follicular fluid of bovine ovarian follicular cysts using 2-D PAGE and MALDI-TOF MS. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 3(23), 1–9. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-3-23>
- Manjunath, P., Lefebvre, J., Jois, P. S., Fan, J., & Wright, M. W. (2009). New Nomenclature for Mammalian BSP Genes. *Biology of Reproduction*, 80(3), 394–397. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.074088>
- Manjunath, P., & Sairam, M. R. (1987). Purification and biochemical characterization of three major acidic proteins (BSP-A1, BSP-A2 and BSP-A3) from bovine seminal plasma. *Biochemical Journal*, 241(3), 685–692. <https://doi.org/10.1042/bj2410685>
- Manjunath, P., Soubeyrand, S., Chandonnet, L., & Roberts, K. D. (1994). Major proteins of bovine seminal plasma inhibit phospholipase A2. *Biochemical Journal*, 303(1), 121–128. <https://doi.org/10.1042/bj3030121>
- Manjunath, P., & Thérien, I. (2002). Role of seminal plasma phospholipid-binding proteins in sperm membrane lipid modification that occurs during capacitation. *Journal of Reproductive Immunology*, 53(1–2), 109–119. [https://doi.org/10.1016/S0165-0378\(01\)00098-5](https://doi.org/10.1016/S0165-0378(01)00098-5)
- Manunza, A., Cardoso, T. F., Noce, A., Martínez, A., Pons, A., Bermejo, L. A., Landi, V., Sánchez, A., Jordana, J., Delgado, J. V., Adán, S., Capote, J., Vidal, O., Ugarte, E., Arranz, J. J., Calvo, J. H., Casellas, J., & Amills, M. (2016). Population structure of eleven Spanish ovine breeds and detection of selective sweeps with BayeScan and hapFLK. *Scientific Reports*, 6(27296), 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep27296>
- Marai, I. F. M., El-Darawany, A. A., Fadiel, A., & Abdel-Hafez, M. A. M. (2007). Physiological traits as affected by heat stress in sheep—A review. *Small Ruminant Research*, 71(1–3), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.10.003>
- Martins, C., Feliciano Silva, A. E., Gonzales da Silva, C., Ribeiro Da Cunha, E., De Oliveira Carvalho, J., & Nunes Dode, M. (2016). *Atlas de Morfologia Espermática Bovina*. Empraba.
- Matz, J. M., Blake, M. J., Tatelman, H. M., Lavoie, K. P., & Holbrook, N. J. (1995). Characterization and regulation of cold-induced heat shock protein expression in mouse brown adipose tissue. *The American journal of physiology*, 269(1 Pt 2), R38–R47. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1995.269.1.R38>

- Maule, J. P. (1962). *The Semen of Animals and Artificial Insemination*. Commonwealth Agricultural Bureaux.
- McMahon, J. M., Conroy, S., Lyons, M., Greiser, U., O'shea, C., Strappe, P., Howard, L., Murphy, M., Barry, F., & O'brien, T. (2006). Gene Transfer into Rat Mesenchymal Stem Cells: A Comparative Study of Viral and Nonviral Vectors. *Stem Cells and Development*, 15(1), 87–96. <https://doi.org/10.1089/scd.2006.15.87>
- Melo, L. M., Alves Teixeira, D. Í., Havt, A., Silva Da Cunha, R. M., Gondim Martins, D. B., Madeiros Castelletti, C. H., Eleutério De Souza, P. R., De Lima Filho, J. L., De Figueiredo Freitas, V. J., Sousa Cavada, B., & Rádis-Baptista, G. (2008). Buck (*Capra hircus*) Genes Encode New Members of the Spermadhesin Family. *MOLECULAR REPRODUCTION AND DEVELOPMENT*, 75(8), 8–16. <https://doi.org/10.1002/mrd>
- Mendoza González, A., Berumen Alatorre, A. C., Santamaría Mayo, E., & Vera Cuspinera, G. (2010). *Diagnóstico clínico del ovino*. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. <https://archivos.ujat.mx/2011/difusion/libros/9.pdf>
- Menon, A. G., Barkema, H. W., Wilde, R., Kastelic, J. P., & Thundathil, J. C. (2011). Associations between sperm abnormalities, breed, age, and scrotal circumference in beef bulls. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne de Recherche Veterinaire*, 75(4), 241–247.
- Mi, H., Huang, X., Muruganujan, A., Tang, H., Mills, C., Kang, D., & Thomas, P. D. (2017). PANTHER version 11: expanded annotation data from Gene Ontology and Reactome pathways, and data analysis tool enhancements. *Nucleic Acids Research*, 45(D1), D183–D189. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1138>
- Miao, X., Luo, Q., Zhao, H., & Qin, X. (2016). Ovarian proteomic study reveals the possible molecular mechanism for hyperprolificacy of Small Tail Han sheep. *Scientific Reports*, 6(27606), 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep27606>
- Miki, K., Qu, W., Goulding, E. H., Willis, W. D., Bunch, D. O., Strader, L. F., Perreault, S. D., Eddy, E. M., & O 'brien, D. A. (2004). Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase-S, a sperm-specific glycolytic enzyme, is required for sperm motility and male fertility. *Proc Natl Acad Sci*, 101(47), 16501–16506. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407708101>
- Moore, B. R., & Free, S. J. (1985). Protein modification and its biological role. *The International Journal of Biochemistry*, 17(3), 283–289. [https://doi.org/10.1016/0020-711x\(85\)90202-2](https://doi.org/10.1016/0020-711x(85)90202-2)

- Moradi, M. H., Nejati-Javaremi, A., Moradi-Shahrbabak, M., Dodds, K. G., & McEwan, J. C. (2012). Genomic scan of selective sweeps in thin and fat tail sheep breeds for identifying of candidate regions associated with fat deposition. *BMC Genetics*, 13(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-13-10>
- Moreau, R., Thérien, I., Lazure, C., & Manjunath, P. (1998). Type II Domains of BSP-A1/-A2 Proteins: Binding Properties, Lipid Efflux, and Sperm Capacitation Potential. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 246(1), 148–154. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.8513>
- Moreno, D. C., & Grajales, H. A. (2017). Caracterización de los sistemas de producción ovinos de trópico alto en Colombia: manejo e indicadores productivos y reproductivos. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 64(3), 36–51. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v64n3.68693>
- Morlans, M. (2004). *Introducción a la ecología de poblaciones (Vol. 1)*. Editorial Científica Universitaria de la Universidad Nacional de Catamarca.
- Moura, A. A., Chapman, D. A., Koc, H., & Killian, G. J. (2007). A comprehensive proteomic analysis of the accessory sex gland fluid from mature Holstein bulls. *Animal Reproduction Science*, 98(3–4), 169–188. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.03.012>
- Mozo, R., Alabart, J. L., Rivas, E., & Folch, J. (2019). New method to automatically evaluate the sexual activity of the ram based on accelerometer records. *Small Ruminant Research*, 172, 16–22. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.01.009>
- Murcia, J. D. (2023). *Más de 259 millones de animales hacen parte de las actividades pecuarias del agro*. AGRONEGOCIOS. <https://www.agronegocios.co/agricultura/asi-esta-el-mapa-de-la-poblacion-pecuaria-3617839>
- Naaby-Hansen, S., Mandal, A., Wolkowicz, M. J., Sen, B., Westbrook, V. A., Shetty, J., Coonrod, S. A., Klotz, K. L., Kim, Y.-H., Bush, L. A., Flickinger, C. J., & Herr, J. C. (2002). CABYR, a Novel Calcium-Binding Tyrosine Phosphorylation-Regulated Fibrous Sheath Protein Involved in Capacitation. *Developmental Biology*, 242(2), 236–254. <https://doi.org/10.1006/dbio.2001.0527>
- Nass, S. J., Miller, D. J., Winer, M. A., & Ax, R. L. (1990). Male accessory sex glands produce heparin-binding proteins that bind to cauda epididymal spermatozoa and are testosterone dependent. *Molecular Reproduction and Development*, 25(3), 237–246. <https://doi.org/10.1002/mrd.1080250305>

- Nishimura, K., Ohki, Y., Fukuchi-Shimogori, T., Sakata, K., Saiga, K., Beppu, T., Shirahata, A., Kashiwagi, K., & Igarashi, K. (2002). Inhibition of cell growth through inactivation of eukaryotic translation initiation factor 5A (eIF5A) by deoxyspergualin. *Biochem J*, 363(Pt 3), 761–768. <https://doi.org/10.1042/0264-6021:3630761>
- Ocampo Gallego, R. J. (2014). *Caracterización genética de ovinos en Colombia por medio de marcadores microsatélite [tesis de maestría]* [Universidad de Antioquia]. <https://bibliotecadigital.udea.edu.co/server/api/core/bitstreams/5126d573-25db-4012-912f-cfa3bb0ff4da/content>
- Ocampo, R., Cardona, H., & Martínez, R. (2016). Genetic diversity of Colombian sheep by microsatellite markers. *Chilean journal of agricultural research*, 76(1), 40–47. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392016000100006>
- OCDE, & FAO. (2025). *OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2025–2034*. OECD Publishing. <https://doi.org/10.1787/67cefa05-es>
- Odet, F., Gabel, S. A., Williams, J., London, R. E., Goldberg, E., & Eddy, E. M. (2011). Lactate Dehydrogenase C and Energy Metabolism in Mouse Sperm. *Biology of Reproduction*, 85(3), 556–564. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.111.091546>
- O’Flaherty, C., de Lamirande, E., & Gagnon, C. (2006). Positive role of reactive oxygen species in mammalian sperm capacitation: triggering and modulation of phosphorylation events. *Free Radical Biology and Medicine*, 41(4), 528–540. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.04.027>
- Olivera, M., Ruiz, T., Tarazona, A., & Giraldo, C. (2006). El espermatozoide, desde la eyaculación hasta la fertilización. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 19(4).
- Orozco, J. A. (2017). *Características de la pubertad en ovinos machos de pelo colombiano y sus cruces con Katahdin y Santa Inés en Villavicencio, Meta (tesis de pregrado)* [Universidad de La Salle]. <https://hdl.handle.net/20.500.14625/18906>
- Paoli, D., Gallo, M., Rizzo, F., Baldi, E., Francavilla, S., Lenzi, A., Lombardo, F., & Gandini, L. (2011). Mitochondrial membrane potential profile and its correlation with increasing sperm motility. *Fertility and Sterility*, 95(7), 2315–2319. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.03.059>

- Pardo Gambarte, L. (2017). *El testículo: estructura, función y patología testicular más frecuente* [Universidad de Cantabria]. <https://repositorio.unican.es/xmlui/bitstream/handle/10902/11694/Pardo%20Gambarte%20Laura.pdf?sequence=4>
- Parra, R. I., Magaña, M. A., Duarte, J. H., & Téllez I., G. (2015). Caracterización técnica y rentabilidad de granjas ovinas con visión empresarial del departamento del Tolima. *Revista Colombiana De Ciencia Animal*, 7(1), 64–72. <https://revistas.ut.edu.co/index.php/ciencianimal/article/view/543>
- Patel, M., Gandotra, V. K., Cheema, R. S., Bansal, A. K., & Kumar, A. (2016). Seminal plasma heparin binding proteins improve semen quality by reducing oxidative stress during cryopreservation of cattle bull semen. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(9), 1247–1255. <https://doi.org/10.5713/ajas.15.0586>
- Paula Junior, A. R., Van Tilburg, M. F., Lobo, M. D. P., Monteiro-Moreira, A. C. O., Moreira, R. A., Melo, C. H. S., Souza-Fabjan, J. M. G., Araújo, A. A., Melo, L. M., Teixeira, D. I. A., Moura, A. A., & Freitas, V. J. F. (2018). *Proteomic analysis of follicular fluid from tropically-adapted goats. Animal Reproduction Science*, 188, 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.11.005>
- Pérez-Pé, R., Cebrián-Pérez, J. A., & Muio-Blanco, T. (2001). Semen plasma proteins prevent cold-shock membrane damage to ram spermatozoa. *Theriogenology*, 56(3), 425–434. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00574-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00574-X)
- Peris, S. I., Bilodeau, J., Dufour, M., & Bailey, J. L. (2007). Impact of cryopreservation and reactive oxygen species on DNA integrity, lipid peroxidation, and functional parameters in ram sperm. *Molecular Reproduction and Development*, 74(7), 878–892. <https://doi.org/10.1002/mrd.20686>
- Perry, V. E. A. (2021). The Role of Sperm Morphology Standards in the Laboratory Assessment of Bull Fertility in Australia. *Frontiers in Veterinary Science*, 8(672058), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.672058>
- Pini, T., Leahy, T., Soleilhavoup, C., Tsikis, G., Labas, V., Combes-Soia, L., Harichaux, G., Rickard, J. P., Druart, X., & De Graaf, S. P. (2016). Proteomic Investigation of Ram Spermatozoa and the Proteins Conferred by Seminal Plasma. *Journal of Proteome Research*, 15(10), 3700–3711. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.6b00530>

- Powell, M. D., Manandhar, G., Spate, L., Sutovsky, M., Zimmerman, S., Sachdev, S. C., Hannink, M., Prather, R. S., & Sutovsky, P. (2010). Discovery of putative oocyte quality markers by comparative ExacTag proteomics. *PROTEOMICS – Clinical Applications*, 4(3), 337–351. <https://doi.org/10.1002/prca.200900024>
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A. R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P. I. W., Daly, M. J., & Sham, P. C. (2007). PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *The American Journal of Human Genetics*, 81(3), 559–575. <https://doi.org/10.1086/519795>
- Puri, P., Myers, K., Kline, D., & Vijayaraghavan, S. (2008). Proteomic Analysis of Bovine Sperm YWHA Binding Partners Identify Proteins Involved in Signaling and Metabolism. *Biology of Reproduction*, 79(6), 1183–1191. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.068734>
- R Core Team. (2018). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Ramírez Ramírez, A. I., Delgado Tiburcio, G. I., Cruz-Espinoza, F., Herrera-Corredor, A. C., & Gallegos-Sánchez, J. (2021). Photoperiod and its relationship to sheep reproduction. *Agro Productividad*. <https://doi.org/10.32854/agrop.v14i10.1620>
- Ramos Antón, J. J., & Ferrer Mayayo, L. M. (2007). *La exploración clínica del ganado ovino y su entorno*. Editorial Servet.
- Ramos, J. J., & Ferrer, L. M. (2017). *Alteraciones testiculares más frecuentes en ganado ovino*. https://zaguan.unizar.es/record/110671/files/texto_completo.pdf
- Red de Innovación de Ganadería y Especies Menores. (2002). *Ovinos colombianos de pelo: alternativa productiva para el sur del departamento del Tolima*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA.
- Rego, J. P. A., Martins, J. M., Wolf, C. A., van Tilburg, M., Moreno, F., Monteiro-Moreira, A. C., Moreira, R. A., Santos, D. O., & Moura, A. A. (2016). Proteomic analysis of seminal plasma and sperm cells and their associations with semen freezability in Guzerat bulls. *Journal of Animal Science*, 94(12), 5308–5320. <https://doi.org/10.2527/jas.2016-0811>

- Reinert, M., Calvete, J. J., Sanz, L., & Topfer-Petersen, E. (1997). Immunohistochemical localization in the stallion genital tract, and topography on spermatozoa of seminal plasma protein SSP-7, a member of the spermadhesin protein family. *Andrologia*, 29(4), 179–186.
- Rickard, J. P., Leahy, T., Soleilhavoup, C., Tsikis, G., Labas, V., Harichaux, G., Lynch, G. W., Druart, X., & de Graaf, S. P. (2015). The identification of proteomic markers of sperm freezing resilience in ram seminal plasma. *Journal of Proteomics*, 126, 303–311. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.05.017>
- Ritossa, F. (1962). A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in drosophila. *Experientia*, 18(12), 571–573. <https://doi.org/10.1007/BF02172188>
- Martínez, R., & Vásquez, R. (2005). Evaluación de la conservación y comportamiento productivo del Banco de Germoplasma de la especie ovina en Colombia. *Animal Genetic Resources Information*, 36, 33–45. <https://doi.org/10.1017/S1014233900001851>
- Rodríguez-Martínez, H. (2003). Laboratory Semen Assessment and Prediction of Fertility: still Utopia?*. *Reproduction in Domestic Animals*, 38(4), 312–318. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2003.00436.x>
- Romão, M. J., Kölln, I., Dias, J. M., Carvalho, A. L., Romero, A., Varela, P. F., Sanz, L., Töpfer-Petersen, E., & Calvete, J. J. (1997). Crystal structure of acidic seminal fluid protein (aSFP) at 1.9 Å resolution: A bovine polypeptide of the spermadhesin family. *Journal of Molecular Biology*, 274(4), 650–660. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1997.1423>
- Roncoletta, M., Franceschini, P. H., De Lima, V. F. M. H., Rodrigues, L. H., Oliveira, M. A., & Silva, C. da. (1999). Perfil em SDS-PAGE das proteínas do plasma seminal e sua relação com a congelabilidade do sêmen de touros doadores da raça gir. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 36(2). <https://doi.org/10.1590/S1413-95961999000200005>
- Rotilio, D., Della Corte, A., D'Imperio, M., Coletta, W., Marcone, S., Silvestri, C., Giordano, L., Di Michele, M., & Donati, M. B. (2012). *Proteomics: bases for protein complexity understanding*. *Thrombosis Research*, 129(3), 257–262. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2011.12.035>
- Rueda, F., Garcés, T., Herrera, R., Arbeláez, L., Velásquez, H., Peña, M., Hernández, A., & Cardozo, J. (2013). Seminal plasma proteins increase the post-thaw sperm viability of Sanmartinero bull's semen. *Revista MVZ Córdoba*, 18(1), 3327–3335.

- Santiani, A., Sandoval, R., Ruiz, L., & Coronado, L. (2004). Estudio de la integridad de membrana en espermatozoides de ovino mediante la prueba de estrés hipoosmótico. *XXVII Reunión APPA*. https://www.researchgate.net/publication/272892372_Estudio_de_la_integridad_de_membrana_en_espermatozoides_de_ovino_mediante_la_prueba_de_estres_hipoosmotico/link/54f471b00cf2f9e34f0a422c/download?_tp=eyJjb250ZXh0Ijp7ImZpcnN0UGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9uliwicGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9uIn19
- Sanyal, D., Arya, D., Nishi, K., Balasinar, N., & Singh, D. (2024). Clinical Utility of Sperm Function Tests in Predicting Male Fertility: A Systematic Review. *Reproductive Sciences*, 31(4), 863–882. <https://doi.org/10.1007/s43032-023-01405-7>
- Sañudo, C. (Ed.). (2009). *Valoración morfológica de los animales domésticos*. Mo Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
- Sejian, V., Hyder, I., Maurya, V. P., Bagath, M., Krishnan, G., Aleena, J., Archana, P. R., Lees, A. M., Kumar, D., Bhatta, R., & Naqvi, S. M. K. (2017). Adaptive Mechanisms of Sheep to Climate Change. En V. Sejian, R. Bhatta, J. Gaughan, P. Kumar Malik, S. M. K. Navqui, & R. Lal (Eds.), *Sheep Production Adapting to Climate Change* (pp. 117–147). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4714-5_5
- Setchell, B., & Breed, W. (2006). Anatomy, Vasculature, and Innervation of the Male Reproductive Tract. En T. M. Plant & A. J. Zeleznik (Eds.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction* (pp. 771–825). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-012515400-0/50022-1>
- Setchell, B. P. (1978). *Mammalian Testis*. Cornell University Press.
- Setchell, B. P. (2006). The effects of heat on the testes of mammals. *Animal Reproduction*, 3(2), 81–91. <https://animal-reproduction.org/article/5b5a607ef7783717068b47c0/pdf/animreprod-3-2-81.pdf>
- Shidaifat, F. (2001). Inhibin-A and estradiol content of sheep follicles and their association with follicular diameter. *Small Ruminant Research*, 42(3), 177–181. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(01\)00258-9](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(01)00258-9)
- Sicherle, C. C., Maia, M. S., Bicudo, S. D., Rodello, L., & Azevedo, H. C. (2011). Lipid peroxidation and generation of hydrogen peroxide in frozen-thawed ram semen supplemented with catalase or Trolox. *Small Ruminant Research*, 95(2–3), 144–149. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.10.011>

- Sikka, S. C. (2001). Relative impact of oxidative stress on male reproductive function. *Current medicinal chemistry*, 8(504), 851–862. <https://doi.org/10.2174/0929867013373039>
- Souza, C., Araújo, A., Oliveira, J., Lima Souza, A., Neiva, J., & Moura, A. (2009). Reproductive Development of Santa Inês Rams During the First Year of Life: Body and Testis Growth, Testosterone Concentrations, Sperm Parameters, Age at Puberty and Seminal Plasma Proteins. *Reproduction in Domestic Animals*. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01322.x>
- Souza, C., Campbell, B., & Baird, D. (1998). Follicular waves and concentrations of steroids and inhibin A in ovarian venous blood during the luteal phase of the oestrous cycle in ewes with an ovarian autotransplant. *Journal of Endocrinology*, 156(3), 563–572. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1560563>
- Srivastava, N., & Pande, M. (Eds.). (2017). *Protocols in Semen Biology* (Comparing Assays). Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-5200-2>
- Tedeschi, G., Oungre, E., Mortarino, M., Negri, A., Maffeo, G., & Ronchi, S. (2000). Purification and primary structure of a new bovine spermadhesin. *European Journal of Biochemistry*, 267(20), 6175–6179. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01698.x>
- Thérien, I., Moreau, R., & Manjunath, P. (1999). Bovine Seminal Plasma Phospholipid-Binding Proteins Stimulate Phospholipid Efflux from Epididymal Sperm1. *Biology of Reproduction*, 61(3), 590–598. <https://doi.org/10.1095/biolreprod61.3.590>
- Thérien, I., Soubeyrand, S., & Manjunath, P. (1997). Major Proteins of Bovine Seminal Plasma Modulate Sperm Capacitation by High-Density Lipoprotein1. *Biology of Reproduction*, 57(5), 1080–1088. <https://doi.org/10.1095/biolreprod57.5.1080>
- Tisdall, D. J., Hudson, N., Smith, P., & McNatty, K. P. (1994). Localization of ovine follistatin and α and β A inhibin mRNA in the sheep ovary during the oestrous cycle. *Journal of Molecular Endocrinology*, 12(2), 181–193. <https://doi.org/10.1677/jme.0.0120181>
- Töpfer-Petersen, E., Romero, A., Varela, P. F., Ekhlas-Hundrieser, M., Dostálová, Z., Sanz, L., & Calvete, J. J. (2009). Spermadhesins: A new protein family. Facts, hypotheses and perspectives. *Andrologia*, 30(4–5), 217–224. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1998.tb01163.x>
- Tvrďá, E., Hrnčár, C., Benko, F., Ďuračka, M., Kováčik, A., Vozaf, J., Svoradová, A., Arpášová, H., Kačániová, M., & Chrenek, P. (2025). Age-related changes in semen characteristics of selected Slovak geese breeds. *Animal Reproduction Science*, 279(107888). <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2025.107888>

- Urner, F., & Sakkas, D. (2003). Protein phosphorylation in mammalian spermatozoa. *Reproduction*, 125(1), 17–26. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1250017>
- Van der Horst, G. (2020). Computer Aided Sperm Analysis (CASA) in domestic animals: Current status, three D tracking and flagellar analysis. *Animal Reproduction Science*, 220(106350). <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106350>
- Varela, P. F., Romero, A., Sanz, L., Romão, M. J., Töpfer-Petersen, E., & Calvete, J. J. (1997). The 2.4 Å resolution crystal structure of boar seminal plasma PSP-I/PSP-II: A zona pellucida-binding glycoprotein heterodimer of the spermadhesin family built by a CUB domain architecture. *Journal of Molecular Biology*, 274(4), 635–649. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1997.1424>
- Villemure, M., Lazure, C., & Manjunath, P. (2003). Isolation and characterization of gelatin-binding proteins from goat seminal plasma. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 1(39), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-1-39>
- Visscher, P. M. (2007). Variation of Estimates of SNP and Haplotype Diversity and Linkage Disequilibrium in Samples from the Same Population Due to Experimental and Evolutionary Sample Size. *Annals of Human Genetics*, 71(1), 119–126. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.2006.00305.x>
- Vivas Ascue, N. J. (2013). *Diversidad genética de ovinos criollos colombianos* [Universidad de Palmira: tesis de maestría]. <https://bffrepositorio.unal.edu.co/server/api/core/bitstreams/716df2df-29d4-4e59-b4c2-02b8cdd17527/content>
- Vordenbäumen, S., Saenger, T., Braukmann, A., Tahan, T., Bleck, E., Jose, J., & Schneider, M. (2016). Human casein alpha s1 induces proinflammatory cytokine expression in monocytic cells by TLR4 signaling. *Molecular Nutrition and Food Research*, 60(5), 1079–1089. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500792>
- Wang, T.-H., Chang, C.-L., Wu, H.-M., Chiu, Y.-M., Chen, C.-K., & Wang, H.-S. (2006). Insulin-like growth factor-II (IGF-II), IGF-binding protein-3 (IGFBP-3), and IGFBP-4 in follicular fluid are associated with oocyte maturation and embryo development. *Fertility and Sterility*, 86(5), 1392–1401. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2006.03.064>
- Wassarman, P. M., Jovine, L., Litscher, E. S., Qi, H., & Williams, Z. (2004). Egg-sperm interactions at fertilization in mammals. *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology*, 115(SUPPL.), 57–60. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2004.01.025>

- Wempe, F., Einspanier, R., & Scheit, K. H. (1992). Characterization by cDNA cloning of the mRNA of a new growth factor from bovine seminal plasma: Acidic seminal fluid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 183(1), 232–237.
- Willforss, J., Morrell, J. M., Resjö, S., Hallap, T., Padrik, P., Siino, V., de Koning, D. J., Andreasson, E., Levander, F., & Humblot, P. (2021). Stable bull fertility protein markers in seminal plasma. *Journal of Proteomics*, 236, 104135. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2021.104135>
- Wrobel, K.-H., Reichold, J., & Schimmel, M. (1995). Quantitative morphology of the ovine seminiferous epithelium. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*, 177(1), 19–32. [https://doi.org/10.1016/S0940-9602\(11\)80126-3](https://doi.org/10.1016/S0940-9602(11)80126-3)
- Yanagimachi, R. (1994). Mammalian fertilization. En E. Knobil & J. D. Neill (Eds.), *The Physiology of Reproduction* (pp. 189–318). Raven Press.
- Yániz, J. L., Vicente-Fiel, S., Capistrós, S., Palacín, I., & Santolaria, P. (2012). Automatic evaluation of ram sperm morphometry. *Theriogenology*, 77(7), 1343–1350. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.10.039>
- Yoshida, M., Kawano, N., & Yoshida, K. (2008). Control of sperm motility and fertility: Diverse factors and common mechanisms. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65(21), 3446–3457. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-8230-z>
- Zeder, M. (2008). Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact. *PNAS*, 105(33), 11597–11604. <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.0801317105>
- Zhang, B. R., Larsson, B., Lundeheim, N., Håård, M. G., & Rodriguez-Martinez, H. (1999). Prediction of bull fertility by combined in vitro assessments of frozen-thawed semen from young dairy bulls entering an AI-programme. *International Journal of Andrology*, 22(4), 253–260. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2605.1999.00178.x>
- Zhang, L., Liu, J., Zhao, F., Ren, H., Xu, L., Lu, J., Zhang, S., Zhang, X., Wei, C., Lu, G., Zheng, Y., & Du, L. (2013). Genome-Wide Association Studies for Growth and Meat Production Traits in Sheep. *PLoS ONE*, 8(6), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066569>

Manejo reproductivo y genético en ovinos:

orientaciones básicas

Julio Enrique Gómez Mesa
Román David Castañeda Serrano
William Orlando Burgos Paz
Sergio Falla Tapias
Jaime Antonio Cardozo Cerquera
Yolanda Gómez Vargas
Fabián Leonardo Rueda Alfonso
Eliana Neira Rivera
Mary Yuriana Quintero Puentes
Diana Carolina Cediél Devia