



MÁSTER INTERUNIVERSITARIO EN MEJORA GENÉTICA ANIMAL Y BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

**Efecto del estrés por calor sobre la calidad espermática
de toros de la raza Holstein. Respuesta fenotípica y
desviación individual.**

Trabajo fin de Máster

Septiembre, 2020

Guido Gomez Proto

Directoras:

Dra. María Jesús Carabaño Luengo

Dra. Clara Díaz Martín



Contenido	Página
Índice de tablas	4
Índice de figuras	5
Dedicación	6
Agradecimientos	7
Abstract	8
Resumen	9
Resume	10
Justificación del trabajo	11
Objetivo del trabajo	12
1. Revisión bibliográfica: Factores que afectan la producción y calidad seminal, efecto de la carga térmica y de parámetros genéticos de estos caracteres.	13
Parámetros de producción y calidad seminal	14
Factores que afectan la calidad espermática	16
Efectos ligados al animal	17
Edad	17
Raza	7
Número de eyaculado	18
Influencia de las variables meteorológicas en la producción y calidad seminal	19
Análisis De Caracteres Que Modifican Su Valor (Fenotipo) En función de Variables Medidas En una Escala Continua	22
Modelo de repetibilidad	22
Modelo de regresión aleatoria (MRA)	22
Estructura del modelo del MRA	23
Polinomios de Legendre	24
Parámetros genéticos de los caracteres seminales: heredabilidad y correlaciones genéticas	25

2. Estudio de efectos ambientales y de parámetros genéticos de los caracteres de producción y calidad seminal	28
Introducción	29
Datos fenotípicos	30
Métodos	32
Resultados y discusión	33
Análisis preliminares	33
Componentes ambientales y genéticos de los caracteres seminales	36
Estimas de correlaciones genéticas y heredabilidades	40
Conclusiones	42
3. Estudio del efecto de la carga térmica sobre los caracteres de producción y calidad seminal: respuesta poblacional e individual	43
Introducción	44
Datos meteorológicos	45
Métodos	46
Resultados y discusión	49
Componente genético de respuesta individual a las variables meteorológicas	50
Varianza genética y heredabilidades a lo largo del gradiente de las variables meteorológicas	50
Respuesta media de la población a la HR y THI	51
Componente Genético de Respuesta Individual a las Variables Meteorológicas	54
Varianza genética y heredabilidades a lo largo del gradiente de las variables meteorológicas	54
Correlaciones Genéticas entre medidas de los caracteres seminales a lo largo de la escala de carga térmica. Interacción genotipo-ambiente.	60
Variabilidad en las respuestas individuales a la carga térmica	60
Conclusiones	64
Referencias bibliográficas	65
Material suplementario	71

Índice de tablas	Página
Tabla 1.1. Caracteres seminales utilizados para definir la fertilidad del semen.	15
Tabla 1.2. Estimaciones de las heredabilidades entre los caracteres seminales encontradas en la literatura.	25
Tabla 1.3. Estimaciones de correlaciones genéticas entre los caracteres seminales encontradas en la literatura.	27
Tabla 2.1. Criterios de depuración de la base de datos fenotípicos.	30
Tabla 2.2. Descripción del número de registros por parámetro seminal,	31
Tabla 2.3. Estadísticos descriptivos de los datos de producción y de calidad de semen	33
Tabla 2.4. Descripción de los datos de producción de semen por eyaculado	34
Tabla 2.5. Descripción de los datos de semen por sistema de valoración seminal, convencional o CASA	36
2.6. Estimaciones de los componentes de varianza para los caracteres seminales.	40
Tabla 2.7. Estimaciones de las heredabilidades (en la diagonal) y correlaciones genéticas (sobre la diagonal) de los caracteres seminales.	41
Tabla 3.1. Estructura de la base de datos de los datos meteorológicos.	45
Tabla 3.2. Estadísticos descriptivos de los datos meteorológicos.	49
Tabla 3.3. Valores de AIC para el modelo base y los modelos con polinomios Legendre de orden 2 y de orden 3 del THI y la HR medias.	50
Tabla 3.4. Desviación individual de la distribución de la pendiente de los parámetros seminales en función al THI y HR medios en los tres períodos en estudio.	61
Tablas 3.5a y 3.5b. Estimaciones de la varianza genética los coeficientes de regresión aleatoria (polinomios de Legendre de grado 3) en los modelos THI (a) y HR (b), para los caracteres seminales durante los tres períodos en estudio	71
Tablas 3.6a y 3.6b. Estimaciones de la varianza del ambiente permanente de los coeficientes de regresión aleatoria (polinomios de Legendre de grado 3) en los modelos THI (a) y HR (b), para los caracteres seminales durante los tres períodos en estudio	72

Índice de figuras	Página
Figura 1.1. Relación esquemática entre la temperatura corporal interna y la producción de calor de un animal con diferentes ambiente en relación con el estrés térmico.	20
Figura 2.1. Media del volumen del eyaculado (VOL), concentración espermática (CONC), motilidad masal (MM), motilidad individual (MI), y motilidad post-congelación (MPC) por mes de edad del toro.	35
Figura 2.2. Estimaciones asociadas al efecto edad a la colecta para volumen del eyaculado, concentración espermática, motilidad masal, motilidad individual, y motilidad post-congelación.	38
Figura 2.3. Estimaciones asociadas al efecto número de colecta para volumen del eyaculado, concentración espermática, motilidad masal, y motilidad individual.	39
Figura 3.1. Variación del volumen, concentración, motilidad masal, motilidad individual y motilidad post-congelación en función de la HR media. Períodos: DC=día de colecta; ME: maduración en el epidídimo; SG= espermatogénesis.	51
Figura 3.2. Variación del volumen, la concentración, motilidad masal, motilidad individual y motilidad post-congelación en función del THI medio. Períodos: DC=día de colecta; ME: maduración en el epidídimo; SG= espermatogénesis.	53
Figura 3.3. Varianza genética del volumen, concentración, motilidad masal, motilidad individual y motilidad post-congelación en función de la HR media para cada uno de los periodos estudiados: DC=día de colecta; ME: maduración en el epidídimo; SG= espermatogénesis.	55
Figura 3.4. Varianza genética del volumen, concentración, motilidad masal, motilidad individual y motilidad post-congelación en función del THI medio para cada uno de los periodos estudiados: DC=día de colecta; ME: maduración en el epidídimo; SG= espermatogénesis.	56
Figura 3.5. Heredabilidad del volumen, concentración, motilidad masal, motilidad individual y motilidad post-congelación en función del HR media para cada uno de los periodos estudiados: DC=día de colecta; ME: maduración en el epidídimo; SG= espermatogénesis.	58
Figura 3.6. Heredabilidad del volumen, concentración, motilidad masal, motilidad individual y motilidad post-congelación en función del THI medio para cada uno de los periodos estudiados: DC=día de colecta; ME: maduración en el epidídimo; SG= espermatogénesis.	59
Figura 3.7. Correlación genética entre medidas del volumen, concentración, motilidad masal, motilidad individual y motilidad post-congelación a dos niveles de HR. Nivel: Bajo= 43%; Alto:=83%.	62
Figura 3.8. Correlación genética entre medidas del volumen, concentración, motilidad masal, motilidad individual y motilidad post-congelación a dos niveles de THI. Nivel: Bajo= 38%; Alto:=72%.	63

Dedicado a

Mis padres y mis hermanos
mis sobrinos Amparo y Pedro;
y a la memoria de mi Noni.

Agradecimientos

Al Instituto Agronómico del Mediterráneo (IAMZ) y a la Facultad de Agronomía y Zootecnia de la Universidad Nacional de Tucumán (UNT) por brindarme esta gran oportunidad.

A los profesores del máster, especialmente a Noelia Ibañez Escriche y Agustín Blasco de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV).

A mis directoras, María Jesús y Clara por su inmensa generosidad y paciencia durante el trabajo fin de máster, y mis compañeros de oficina Carmen, Cristina, Geles y Alejandro.

Y a mi familia, mis padres, mis hermanos y mis sobrinos, ya que sin su apoyo incondicional esto no hubiese sido posible.

Abstract

The aim of this study was to determine the impact of heat stress (HS) on seminal traits, and to quantify the genetic variability in the individual phenotypic response to HS in a search for evidence that could suggest that HS may affect the fertilizing capacity of semen and therefore affect male fertility. Three sources of information to carry out this work have been used: a historical database of seminal quality provided by the artificial seminal centre (CIA) ABEREKIN SA, constituted by 98,981 seminal records of 962 bulls of the Holstein breed, collected between the years 1980 and 2019; and a meteorological database with 14,376 daily records of temperature (T) and relative humidity (RH), belonging to Agencia Estatal de Meteorología (AEMET) closest to the AI center (6.5 km), from the meteorological variables the index of temperature and humidity THI has been calculated); and a pedigree database with 3583 individuals built from the information of the AI center and the Confederación Nacional de Frisón Española (CONAFE). The seminal characteristics studied were the volume of each ejaculate (VOL), sperm concentration (CONC), mass motility (MM, scale from 0 to 5), individual motility (MI%), and post-freezing motility (MPC%). In a first step, analyses were carried out to estimate environmental and genetic effects on these characteristics, without taking into account the thermal load, using a multitrait animal model (MAMC) in order to establish a base model that would allow us to evaluate the effect of the inclusion of the thermal load on the estimation model and on the estimated genetic parameters. The environmental effects studied were date of semen collection (DC), age at semen collection (AG), collection number (NC), and seminal evaluation system (SV). All characters have shown some sensitivity to AG and NC, with VOL being the parameter that has shown the least variation with AG, and MI the least affected by NC. The estimation of the genetic parameters of the semen production and quality traits has been carried out using REML methodology. In general, the heritability estimates have been moderate, except for the MI (0.07). For the rest of the characters have been: VOL (0.17), CONC (0.16), MM (0.18), and MPC (0.24). The estimated genetic correlations between the three motilities have been high (0.81-0.91), and between the CONC and moieties (0.45-0.67). On the contrary, the estimated value for the correlation between VOL and CONC has been negative (-0.10). In the step, THI have been defined combining maximum, minimum and average T and RH, respectively, besides defining the three moments in which it has been considered that the effect of thermal load could be higher: the collect day (CD), the epididymal maturation (EM=10-15 before CD) and the spermatogenesis period (S =60-70 days before CD). Finally, a model has been defined to determine the average effects of thermal loads on seminal characteristics using climatic covariates, and from this model a random regression model (RRM) has been used. The mean population responses for each of the production and seminal quality characteristics to the RH and THI gradients in each of the periods studied do not seem to be very marked, being the period of SG the most sensitive to the HR and THI gradients. This is not the case when we study the individual responses whose variability is evident at both low and high values of THI and RH as in each of the periods studied. The estimates of genetic variance and heritabilities for the SG and EM periods showed relevant changes for all characters along the RH and THI gradients. The genotype–environment interaction (G*E) has been detected in the motility characteristics whether the environment is represented by RH or THI and particularly in the SG and EM periods.

Keywords: dairy cattle, heat stress, fertility, genetic parameters.

Resumen

El objetivo de este estudio ha sido determinar el impacto del estrés por calor (EC) sobre los caracteres seminales, y cuantificar la variabilidad genética en la respuesta fenotípica individual al EC en una búsqueda de evidencias que pudieran sugerir que el estrés térmico puede afectar la capacidad fecundante del semen y por lo tanto afectar la fertilidad de los machos. Para la realización del trabajo se ha dispuesto de tres fuentes de información: una base de datos histórica de calidad seminal cedida por el centro de IA ABEREKIN SA, constituida por 98.981 registros seminales de 962 toros de la raza Holstein, recogidos entre los años 1980 y 2019; y una base de datos meteorológicos con 14.376 registros diarios de temperatura (T) y humedad relativa (HR, perteneciente a la estación meteorológica de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET) más cercana al centro de IA (6,5 km), a partir de las variables meteorológicas se ha calculado el índice de temperatura y humedad THI); y base de datos de pedigrí con 3583 individuos construida a partir de la información del centro de IA y de la Confederación Nacional de Frisona Española (CONAFE). Los caracteres seminales estudiados han sido el volumen de cada eyaculado (VOL), la concentración espermática (CONC), la motilidad masal (MM, escala de 0 a 5), la motilidad individual (MI%) , y la motilidad post-congelación (MPC%). En un primer paso se llevaron a cabo análisis de estimación de efectos ambientales y genéticos sobre estos caracteres, sin tener en cuenta la carga térmica usando un modelo animal multicarácter (MAMC) con el objeto de establecer un modelo base que nos permitiera evaluar el efecto de la inclusión de la carga térmica sobre el modelo de estimación y sobre los parámetros genéticos estimados. Los efectos ambientales estudiados han sido la fecha de colecta de semen (FC), edad a la colecta de semen (EC), número de colecta (NC), y sistema de evaluación seminal (SV). Todos los caracteres han mostrado cierta sensibilidad ante la EC y NC, siendo el VOL el parámetro que ha mostrado menor variación con la EC, y la MI el menos afectado por el NC. La estima de los parámetros genéticos de los caracteres de producción y calidad de semen se ha llevado a cabo utilizando la metodología REML. En general las heredabilidades estimadas han sido moderadas, con excepción la de la MI (0,07). Para el resto de los caracteres han sido: VOL (0,17), CONC (0,16), MM (0,18), y MPC (0,24). Las correlaciones genéticas estimadas entre las tres motilidades han sido altas (0,81-0,91), y entre la CONC y las motilidades (0,45-0,67). Por el contrario el valor estimado para la correlación entre el VOL y la CONC ha sido negativa (-0,10). En la siguiente etapa se han definido los índices de THI combinando T y HR máximos, mínimos y medios, respectivamente además de definir los tres momentos en los que se ha considerado que el efecto de la carga térmica podría ser mayor: el día de control (DC), el periodo de maduración espermática ME (10-15 antes del DC) el periodo de espermatogénesis SG (60-70 días antes del DC). Por último se ha definido un modelo para determinar los efectos medios de las cargas térmicas sobre las características seminales utilizando las covariables climáticas, y a partir de este modelo se ha extendido a un modelo de regresión aleatoria (MRA) para estimar los parámetros genéticos asociados a la respuesta al EC, determinar la existencia de GXA y evaluar la variabilidad en las respuestas individuales. Las respuestas medias poblacionales para cada una de las características de producción y calidad seminal a los gradientes de HR y THI en cada uno de los periodos estudiados no parecen ser muy marcadas, siendo el periodo de SG el más sensible a los gradientes de HR y THI. No ocurre así cuando estudiamos las respuestas individuales cuya variabilidad es manifiesta tanto a valores bajos como altos de THI y HR como en cada uno de los periodos. Las estimas de varianza genética y heredabilidades para los periodos de SP y ME mostraron cambios relevantes para todos los caracteres a lo largo de los gradientes de HR y THI. Se han detectado interacción G*A en las características de motilidad tanto si el ambiente viene representado por la HR como por el THI y particularmente en los periodos de SG y ME.

Palabras clave: ganado lechero, estrés por calor, fertilidad, parámetros genéticos

Resume

L'objectiu d'aquest estudi ha sigut determinar l'impacte de l'estrés per calor (*EC) sobre els caràcters seminals, i quantificar la variabilitat genètica en la resposta fenotípica individual al *EC en una cerca d'evidències que pogueren suggerir que l'estrés tèrmic pot afectar la capacitat *fecundante del semen i per tant afectar la fertilitat dels mascles. Per a la realització del treball s'ha disposat de tres fonts d'informació: una base de dades històrica de qualitat seminal cedida pel centre de *IA *ABEREKIN SA, constituïda per 98.981 registres seminals de 962 bous de la raça *Holstein, recollits entre els anys 1980 i 2019; i una base de dades meteorològics amb 14.376 registres diaris de temperatura (T) i humitat relativa (*HR, pertanyent a l'estació meteorològica de l'Agència Estatal de Meteorologia (*AEMET) més pròxima al centre de *IA (6,5 km), a partir de les variables meteorològiques s'ha calculat l'índex de temperatura i humitat *THI); i base de dades de pedigrí amb 3583 individus construïda a partir de la informació del centre de *IA i de la Confederació Nacional de Frisona Espanyola (*CONAFE). Els caràcters seminals estudiats han sigut el volum de cada ejaculat (*VOL), la concentració espermàtica (*CONC), la motilitat *masal (MM, escala de 0 a 5), la motilitat individual (LA MEUA%), i la motilitat post-congelació (*MPC%). En un primer pas es van dur a terme anàlisi d'estimació d'efectes ambientals i genètics sobre aquests caràcters, sense tindre en compte la càrrega tèrmica usant un model animal *multicaràcter (*MAMC) a fi d'establir un model base que ens permetera avaluar l'efecte de la inclusió de les càrrega tèrmica sobre el model d'estimació i sobre els paràmetres genètics *estimados. Els efectes ambientals estudiats han sigut la data de col·lecta de semen (FC), edat a la col·lecta de semen (*EC), número de col·lecta (*NC), i sistema d'avaluació seminal (*SV). Tots els caràcters han mostrat certa sensibilitat davant la *EC i *NC, sent el *VOL el paràmetre que ha mostrat menor variació amb la *EC, i la LA MEUA el menys afectat pel *NC. L'estima dels paràmetres genètics dels caràcters de producció i qualitat de semen s'ha dut a terme utilitzant la metodologia *REML. En general les *heredabilidades estimades han sigut moderades, amb excepció la de la LA MEUA (0,07). Per a la resta dels caràcters han sigut: *VOL (0,17), *CONC (0,16), MM (0,18), i *MPC (0,24). Les correlacions genètiques estimades entre les tres motilitats han sigut altes (0,81-0,91), i entre la *CONC i les motilitats (0,45-0,67). Per contra el valor estimat per a la correlació entre el *VOL i la *CONC ha sigut negativa (-0,10). En la següent etapa s'han definit els índexs de *THI combinant T i *HR màxims, mínims i mitjans, respectivament a més de definir els tres moments en els quals s'ha considerat que l'efecte de la càrrega tèrmica podria ser major: el dia de control (DC), el període de maduració espermàtica EM (10-15 abans del DC) el període d'espermatogènesi *SG (60-70 dies abans del DC). Finalment s'ha definit un model per a determinar els efectes mitjans de les càrregues tèrmiques sobre les característiques seminals utilitzant les *covariables climàtiques, i a partir d'aquest model s'ha emprat un model de regressió aleatòria (*MRA). Les respostes mitjanes poblacionals per a cadascuna de les característiques de producció i qualitat seminal als gradients de *HR i *THI en cadascun dels períodes estudiats no semblen ser molt marcades, sent el període de *SG el més sensible als gradients de *HR i *THI. No ocorre així quan estudiem les respostes individuals la variabilitat de les quals és manifesta tant a valors baixos com alts de *THI i *HR com en cadascun dels períodes. Les estimes de variància genètica i *heredabilidades per als períodes de *SP i EM van mostrar canvis rellevants per a tots els caràcters al llarg dels gradients de *HR i *THI. S'han detectat interacció G*A en les característiques de motilitat tant si l'ambient ve representat per la *HR com pel *THI i particularment en els períodes de *SG i EM.

Paraules clau: bestiar lleter, estrés per calor, fertilitat, paràmetres genètics

Justificación del trabajo

En la industria láctea la mayor parte de la atención se ha centrado en el estudio la fertilidad de la hembra, mientras que la fertilidad del macho ha recibido mucha menos atención. Sin embargo, este carácter tiene una importancia económica notable si se tiene en cuenta que con una sola eyaculación de un toro es posible producir miles de dosis de semen para inseminación artificial (IA) lo que tiene un impacto significativo en la sostenibilidad y la rentabilidad de la ganadería y, si además, este toro tiene un mérito genético alto en otros caracteres de interés económico, puede limitar el progreso genético de la población.

La fertilidad del toro engloba su comportamiento, es decir su libido, y aptitud para la monta, así como la capacidad fecundante de su semen. Dicha capacidad fecundante está dada por la capacidad del espermatozoide para encontrar, fertilizar y activar el ovocito, y contribuir al desarrollo embrionario que resultará en una descendencia viva (Memili et al. 2020).

El éxito de esta técnica reproductiva y el uso óptimo de toros de mayor mérito genético depende en gran parte de la capacidad fecundante de su semen que tratamos de determinar a partir de parámetros de calidad seminal fáciles de medir en centros de IA. El uso de semen subfétil o infértil no solo afecta negativamente a los ganaderos que lo utilizan sino también a las empresas de IA que lo distribuyen. En el caso de los ganaderos, genera retrasos y/o fallos en la concepción, prolongación de la temporada de partos, incremento de los periodos de secado, reducción del peso de los terneros al destete y aumento el número de hembras sacrificadas, mayores pérdidas económicas y detrimento de la sostenibilidad de una explotación ganadera (Kastelic, 2013). En el caso de las empresas de IA genera pérdidas directas importantes además de reducir la capacidad de testaje de toros.

El actual incremento de la temperatura a nivel mundial como resultado del cambio climático (CC) puede tener profundas consecuencias en el desempeño reproductivo del ganado, incluso en los países de clima templado. Por lo tanto, para maximizar la eficiencia reproductiva es vital entender los efectos de las elevadas temperaturas y el estrés por calor en la reproducción del ganado.

Por este motivo, y ante la creciente demanda mundial de semen para IA, es importante conocer los factores que afectan la producción y la calidad espermática. La temperatura, la humedad, el fotoperíodo, la nutrición, y las enfermedades son algunos de los factores ambientales que afectan negativamente a la calidad seminal (Brito et al. 2002b). El estrés por calor (EC) puede perjudicar a la fertilidad del macho; ya que bajo una temperatura y/o humedad ambiental elevada, los mecanismos de termorregulación corporal son incapaces de disipar calor y la temperatura interna aumenta por encima de los límites fisiológicos.

Como se ha mencionado antes, ya sea desde la perspectiva del CC o de las actuales condiciones ambientales en los periodos de más altas temperaturas, es necesario buscar herramientas que permitan mitigar los efectos del EC, por ejemplo partir de la modificación del pienso y/o la adaptación de las instalaciones de manejo (Negrón-Pérez et al. 2019). Asimismo, es factible pensar en la selección genética como una estrategia complementaria, dado que tiene un efecto acumulativo en el tiempo y puede ayudar a conformar la adaptabilidad de los animales en condiciones ambientales adversas o de EC.

Objetivo del trabajo

El objetivo de este estudio es determinar el impacto del estrés por calor (EC) sobre los caracteres seminales, cuantificar la variabilidad genética en la respuesta individual al EC e identificar herramientas que permitan seleccionar toros cuya calidad seminal, su capacidad fecundante, no se vea afectada por el EC.

A diferencia de la mayor parte de los estudios sobre termotolerancia que han utilizado un pequeño número de registros fenotípicos obtenidos bajo condiciones experimentales, en este estudio se usará la base de datos históricos de producción y calidad de semen en toros Holstein recogidos en un centro de IA en condiciones comerciales y los datos meteorológicos de la estación más cercana al centro.

El documento de tesis comprende los siguientes apartados, 1) Revisión bibliográfica sobre los factores que afectan la producción y calidad seminal, con especial énfasis en el efecto de la carga térmica y de los parámetros genéticos de estos caracteres; 2) Estudio de efectos ambientales y de parámetros genéticos de los caracteres de producción y calidad seminal; 3) Estudio del efecto carga térmica y parámetros genéticos relacionados con la respuesta individual al gradiente de temperatura y humedad en la ubicación del centro de IA; 4) Conclusiones y recomendaciones.

- 1. Revisión bibliográfica: Factores que afectan la producción y calidad seminal, efecto de la carga térmica y de parámetros genéticos de estos caracteres.**

Parámetros de Producción y De Calidad Seminal

La evaluación de la calidad del esperma es un procedimiento esencial en programas de reproducción asistida de las especies domésticas. En los último 20 años se han desarrollado métodos cada vez más sofisticados para examinar lo que podrían denominarse características espermáticas basales o estructurales.

Los parámetros de producción y calidad del semen suelen ser el punto de partida para evaluar la fertilidad en los toros, ya que son relativamente fáciles de medir, y a menudo existen múltiples registros disponibles en las empresas de IA. Desde sus inicios, el objetivo principal de dichas compañías ha sido maximizar la producción y comercialización de semen proveniente de los toros con mayor mérito genético, lo que implica reducir la cantidad de espermatozoides en cada dosis, sin comprometer la fertilidad a campo. Los obstáculos para alcanzar este objetivo han sido, en primer lugar la naturaleza de la recolección de datos fenotípicos de fertilidad de los toros, y en segundo lugar la limitación de los métodos de valoración seminal, ya que inicialmente las determinaciones han sido subjetivas y registradas por técnicos de laboratorio. Esto introdujo la posibilidad de sesgo o dificultad en la combinación de registros entre distintos sementales y técnicos.

El desarrollo de herramientas informáticas como el sistema CASA, ha proporcionado medidas más objetivas de la cantidad y la calidad del semen. Sin embargo, aunque ha brindado mayor precisión y objetividad, en ciertas ocasiones introdujo sesgos a partir de las variaciones en los ajustes del software, las diferencias entre los distintos sistemas, y la lentitud para su uso rutinario (Christensen et al. 2011; Kumaresan et al. 2017; Butler et al. 2019). El objetivo es reducir la variabilidad en las evaluaciones espermáticas, y minimizar la variación de la calidad de las dosis seminales que se ponen a disposición de los ganaderos. Esto también permitiría mantener un criterio homogéneo en lo que podría ser un indicador de fertilidad en los toros (Dejarnette et al. 2004). Durante mucho tiempo se ha intentado identificar los parámetros de calidad seminal que ayudan a predecir la fertilidad en los toros (Dejarnette et al. 2004; Gillan et al. 2008; Karoui et al. 2011; Karoui et al. 2012; Butler et al. 2019). De acuerdo con la literatura revisada indica que ningún ensayo de laboratorio permite determinar con total fiabilidad a aquellos toros que poseen mayor fertilidad. Tanto las empresas de IA como los ganaderos son conscientes de la problemática y buscan continuamente herramientas para predecir la fertilidad de los progenitores con mayor precisión a fin de ofrecer sementales de alta fertilidad, sin sacrificar los objetivos genéticos de sus clientes. En la Tabla 1.1 se resumen los principales parámetros de producción y calidad seminal.

Tabla 1.1. Caracteres seminales utilizados para definir la fertilidad del semen en el toro (adaptado de Butler et al., 2019)

Caracteres seminales	Descripción	Unidades
Caracteres de producción		
Volumen (VOL)	Cantidad total de eyaculado	mL
Concentración (CONC)	Cantidad relativa de espermatozoides por eyaculado	Millones de espermatozoides/mL
Numero de espermatozoides (NESP)	Calculada multiplicando la CONC y el VOL	Millones de espermatozoides
Medidas de calidad		
Motilidad masal (MM)	Puntuación subjetiva basada en una escala que varía de 0-5, siendo 0 la ausencia de actividad y 5 remolinos rápidos.	Puntuación
Motilidad (MOT)	Células con movimiento natatorio	%
Motilidad progresiva (PROG)	Células con movimiento en línea recta o en grandes círculos	%
Morfología		
Porcentaje de espermatozoides normales	Porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales	%
Porcentaje de espermatozoides vivos	Porcentaje de espermatozoides vivos con una membrana plasmática intacta después del descongelamiento	%
Anormalidades		
Espermatozoides con una gota citoplasmática anormal	Porcentaje de espermatozoides con un defecto de gota citoplasmática	%
Espermatozoides con una cabeza anormal	Porcentaje de espermatozoides con un defecto en la cabeza	%
Espermatozoides con una cola anormal	Porcentaje de espermatozoides con un defecto en la cola de los espermatozoides	%
Anormalidades primarias	Defectos principalmente de la cabeza	%
Anormalidades secundarias	Ligeros defectos de la cola	%
Anormalidades totales	Porcentaje total de anomalías en la muestra	%

Para la presente tesis se estudiarán cinco de los parámetros de calidad seminal arriba mencionados, estos se miden habitualmente durante el control de calidad en el centro de IA: volumen del eyaculado (VOL), concentración del eyaculado, motilidad masal (MM), motilidad individual (MI), y MPC (motilidad post-congelación).

La calidad seminal superior puede dar lugar a más dosis de semen por eyaculado, por lo que los centros de IA tratan de recolectar la máxima cantidad de espermatozoides de la mayor calidad posible al menor costo. El semen se criopreserva en pajuelas, y cada pajuela contiene suficiente CONC para una IA. Una reducción de la CONC de espermatozoides en una dosis aumentaría el número de pajuelas producidas a partir de un eyaculado, pero también podría afectar negativamente los resultados de inseminación, es decir la tasa de concepción (TC) de las vacas inseminadas. Por lo tanto, el número de espermatozoides móviles por dosis se determina para no perjudicar la TC y el número de pajuelas producidas (Mathevon et al. 1998; Yin et al. 2019). A su vez, el número de dosis producidas por eyaculado depende, principalmente del VOL, la CONC, y la MI. Por ello es importante la estimación de los parámetros genéticos de los parámetros del seminales ya que puede ofrecer información importante que podría utilizarse para mejorar aún más la calidad seminal de los toros, y contribuir al incremento en la TC de las vacas.

Factores que Afectan la Calidad Espermática

Habitualmente los parámetros de semen evaluados en los centros de IA se han relacionado de una u otra forma con la fertilidad del toro. Sin embargo estos parámetros se ven afectados por factores ambientales que pueden sesgar la evaluación del mérito del toro en cuanto a la capacidad fecundante de su semen. El efecto ambiental sobre los parámetros seminales ha sido ampliamente estudiado (Mathevon et al. 1998; Brito et al. 2002a; Hoflack et al. 2006; Karoui et al. 2011; Al-Kanaan et al. 2015; Morrell et al. 2018; Murphy et al. 2018; Olsen et al. 2020), en diferentes razas bovinas, ambientes y condiciones experimentales. A partir de la gran variabilidad de los parámetros de producción de semen a nivel comercial, es necesario identificar los factores a corto plazo que afectan la producción y la calidad seminal alrededor del día de recolección. La calidad espermática se encuentra influenciada por las variables meteorológicas, así también como otros factores ambientales, como la nutrición y el manejo. Una mejor comprensión y conocimiento de estos factores, permitiría a las compañías de IA adaptar el manejo de los sementales para mejorar los parámetros seminales. La repetibilidad de los caracteres seminales puede indicar si es posible predecir la capacidad de producción semen en la madurez a partir de la evaluación temprana del rendimiento a una temprana edad, lo que sería útil para la preselección e implementación de estrategias para la recolección de semen antes de comercializar toros probados en progenie. Por otro lado la evaluación de las heredabilidades y correlaciones de estos rasgos de semen ayuda a predecir la respuesta y una posible respuesta correlacionada a una posible selección genética para mejorar estos rasgos (Mathevon et al. 1998).

Efectos ligados al animal

- Edad

Las empresas de IA tienden seleccionar y recolectar semen de toros a la edad más temprana posible, incluso antes de la pubertad, con el objetivo de reducir el intervalo generacional (Picard-Hagen et al. 2002). La edad del toro al momento de la recolección del semen afecta parámetros seminales, los animales maduros poseen mayor volumen y calidad de semen que los toros más jóvenes. Dicha variación se debe sobre todo a cambios fisiológicos como el aumento de la masa corporal y el desarrollo simultáneo de los testículos y las glándulas accesorias después de la pubertad y durante la maduración sexual, lo que, en consecuencia, conduce a un aumento de la producción de semen (Everett & Bean, 1982; Brito et al. 2002b; Fuerst-Waltl et al. 2006; Milinkovic, 2012; Berry et al. 2018; Murphy et al. 2018; Felton-Taylor et al. 2020). Estos estudios también han señalado que los parámetros seminales mejoran notablemente hasta cierta edad. Karoui et al., (2011) ha encontrado que el VOL aumenta con la edad hasta los 11 años, mientras que la CONC y la MM aumentan notablemente hasta los 2 años, se estabilizan y luego descienden a partir de los 5 años de edad. Al respecto Fuerst-Waltl et al., (2006) han mencionado que los resultados pueden verse influidos por un tratamiento preferencial, ya que gran parte de los centros de IA están interesados en producir el mayor número de dosis de semen posible de los mejores sementales mientras que, los toros en prueba más jóvenes son de menor interés. En un estudio sobre el efecto de la extracción de semen a temprana edad en toros Holstein, Picard-hagen et al. (2002) ha señalado que la calidad espermática se ve perjudicada en toros Holstein de menos de un año de edad, cuando se los somete a un intenso ritmo de colecta (seis colectas cada 15 días), dicha disminución en calidad no se ha observado cuando el ritmo de colecta disminuye, por lo que ha sugerido que las extracciones de semen deben ajustarse a la capacidad fisiológica y no a la edad del animal. Por último, Snoj et al. (2013) en un trabajo con datos seminales de distintas razas, han reportado que el VOL ha sido el único parámetro que aumenta con la edad en todas las razas, disminuyendo a partir de los siete años en Brown Swiss, Limousin y Charolais.

- Raza

Morrell et al. (2018), en un estudio en el que se comparaba la calidad de semen de toros razas de carne y leche, han concluido que existen diferencias a favor de los primeros en cuanto a parámetros cinemáticos, y de los segundos respecto a la integridad del ADN espermático, sin embargo ha señalado que es necesario implementar análisis de calidad espermática específicos para los sementales de cada raza. En el mismo sentido Berry et al. (2019) en un estudio de parámetros seminales de 16 razas bovinas encontró diferencias entre razas de forma que los sementales de la raza Belgian y Charolais han presentado menor VOL y MI que el resto de las razas.

Las razas derivadas de Bos Indicus (cebú) se encuentran mejor adaptadas a condiciones climáticas adversas que aquellas derivadas de Bos Taurus (europeas) (Bruto et al. 2002b; Barnabe et al. 2006). Al respecto, Kastelic, (2013) ha reportado que toros expuestos a una temperatura ambiente de 40°C y a una humedad relativa del 35 a 45% durante tan sólo 12 horas han reducido marcadamente su calidad del semen. Dichos autores han registrado que las disminuciones en la calidad del semen fueron menos severas, ocurrieron más tarde, y se recuperaron más rápidamente en los toros cruces de (Bos

indicus x Bos taurus) que aquellos de pura raza Bos taurus expuestos a altas temperaturas ambientales. Como hemos mencionado con anterioridad la temperatura testicular debe ser 4-5°C más que la temperatura corporal para la espermatogénesis se desarrolle normalmente. El escroto, y el cono vascular testicular (una compleja red venosa compuesta por la arteria testicular y el plexo pampiniforme venoso) participan en la termorregulación, por lo que la variación en estas estructuras entre los toros podría afectar la capacidad termorreguladora, la producción y la calidad del semen. Por ejemplo, un escroto pendular (característico de razas cebú) puede mejorar la termorregulación testicular al alejar los testículos de la cavidad abdominal y facilitar la pérdida de calor del sistema vascular. A pesar de que se han señalado diferencias en los parámetros de producción y calidad seminal entre toros de razas carniceras y lecheras, estudios como el de Morrell et al. (2018), en el que ha analizado una comparativamente la calidad de semen de toros razas de carne y leche, han concluido que existen diferencias a favor de los primeros en cuanto a parámetros cinemáticos, y de los segundos respecto a integridad del ADN espermático. Sin embargo los mismos autores han señalado que es necesario implementar análisis de calidad espermática específicos para los sementales de cada raza. En el mismo sentido Berry et al. (2019) en un estudio de parámetros seminales de 16 razas bovinas encontró diferencias entre ellas, resultando que los sementales de la raza Blue Belgian y Charolais han presentado menor VOL y MI que el resto de las razas.

- *Número de eyaculado*

Los resultados del efecto del número de eyaculado en los parámetros seminales han sido variables en la bibliografía consultada. La mayoría de los estudios han señalado que el primer eyaculado recolectado posee mayor volumen y concentración en comparación con las recolecciones subsiguientes en el mismo día, esto indicaría que la reducción de la producción de semen parece estar relacionada en gran medida con el corto intervalo de recogida entre eyaculaciones consecutivas, ya que los intervalos más largos producen mayores volumen de eyaculado y número total de espermatozoides (Karoui et al. 2011). Otros estudios como el de Murphy et al. (2018) han reportado que el volumen y la concentración disminuyen con el número de eyaculados recogidos en un día determinado. Dichos autores han indicado valores más elevados de MI (a la que llama “motilidad pre-congelación”) en el primer eyaculado respecto al segundo, pero estas diferencias no se han repetido en los valores de MPC entre eyaculados. Sin embargo parece que no todos los caracteres se ven influenciados de manera importante por el número de eyaculado. Fuerst-Waltl et al. (2006) ha encontrado diferencias favorables al primer eyaculado únicamente en el VOL, y casi insignificantes en la MI.

Influencia de las Variables Meteorológicas en la Producción y Calidad Seminal

El efecto de las variables meteorológicas en la producción y calidad del semen se ha evaluado ampliamente en diversos estudios (Mathevon, et al. 1998; Brito et al. 2002a; Karoui al. 2011; Al-Kanaan et al. 2015). La variación de las características seminales se ha atribuido principalmente a la termorregulación escrotal y los mecanismos de disipación de calor corporal (Murphy et al. 2018). Asimismo, la adaptabilidad de un toro a las condiciones climáticas puede tener consecuencias para la calidad del semen y, por lo tanto, podría explicar las diferencias en su capacidad reproductiva a lo largo del año. Los factores climáticos que mayor impacto tienen en la calidad espermática son la temperatura (T), la humedad (HR), la presión atmosférica y la duración del día (Gwazdauskas, 1985; Mathevon et al, 1998; Nardone et al, 2010; Misztal, 2016).

Se ha identificado que las temperaturas testiculares elevadas, ya sea por exposición a altas T ambientales o corporales, causan una interrupción en la espermatogénesis, generando anormalidades en los espermatozoides con la consiguiente disminución en la calidad del semen, lo que eventualmente puede resultar en un detrimento en la calidad del embrión o en la falla del embrión para llevar a cabo el reconocimiento materno de la gestación (Valeanu et al. 2015). Diversos estudios han señalado que la T ambiental óptima para la producción de esperma oscila entre 15 y 18°C para todo el período de espermatogénesis, es decir, durante 65-70 días antes de la recolección.

Los animales de granja, como individuos homeotermos, poseen mecanismos para mantener su temperatura corporal en valores relativamente estables cuando la temperatura externa cambia. El ganado lechero en especial, es altamente susceptible a las condiciones ambientales extremas, trata de mantener este equilibrio balanceando el calor producido por su metabolismo con el calor del ambiente poniendo en marcha mecanismos de disipación. Para ello, los animales intentan mantener ese equilibrio perdiendo el calor de la superficie corporal a través de procesos sensibles (conducción, convección y radiación) e insensibles (evaporación; por medio de jadeo y sudor). Además de disipar grandes cantidades de calor al medio ambiente, intentan reducir la producción de calor metabólico para aliviar la magnitud del estrés por calor (EC). La producción de calor se identifica como el total de las transformaciones de energía que ocurren en el cuerpo del animal por unidad de tiempo.

El sistema nervioso y endocrino controlan la producción de calor directamente mediante la modificación del apetito y de los procesos digestivos de los alimentos, e indirectamente a través de las alteraciones en la actividad de las enzimas respiratorias y la síntesis de proteínas (Collier et al. 2017). La disminución de la eficiencia de aprovechamiento de los piensos se debe principalmente a que se destina más energía para los procesos de termorregulación o a la disminución de la producción de calor metabólico (Howard et al 2013). Para entender la relación entre el animal y su ambiente térmico es necesario introducirnos al concepto de zona termoneutral (ZTN). La ZTN se define como el rango de temperatura ambiente dentro del cual la tasa metabólica está en un mínimo, y la regulación de la temperatura se logra solamente a partir procesos físicos no “evaporantes” (Bligh & Johnson, 1973). En la ZTN, delimitada por la temperatura crítica inferior (TCI) y la temperatura crítica superior (TCS), sólo se requiere un mínimo de energía para mantener la temperatura corporal del animal, por ejemplo, la vasodilatación de los vasos sanguíneos periféricos y el cambio de postura del animal son suficientes para el enfriamiento (Collier et al. 2017) por lo que no se ve afectada ninguna de sus funciones productivas ni reproductivas. La TCI se define como un umbral para la temperatura ambiente. Por debajo de este umbral, la tasa de producción de calor del animal en reposo aumenta para mantener el equilibrio térmico. La TCS es el punto en el que la pérdida de calor por evaporación y/o la tasa

metabólica comienza a aumentar. La Figura 1 describe las respuestas fisiológicas de los animales (temperatura corporal y producción de calor metabólico) para diferentes temperaturas ambientales dentro de diferentes zonas térmicas.

La ZTN puede diferir según la raza, la edad, el sexo, el estado reproductivo, fisiológico y de lactación, así como también el nivel de producción y la composición de la leche (Brügemann et al, 2012). Sin embargo, el elemento que mayormente condiciona la necesidad de adaptación de los animales es la diferencia entre los tipos de clima (clima templado, subtropical, tropical, subárido o árido) característicos de las zonas de producción.

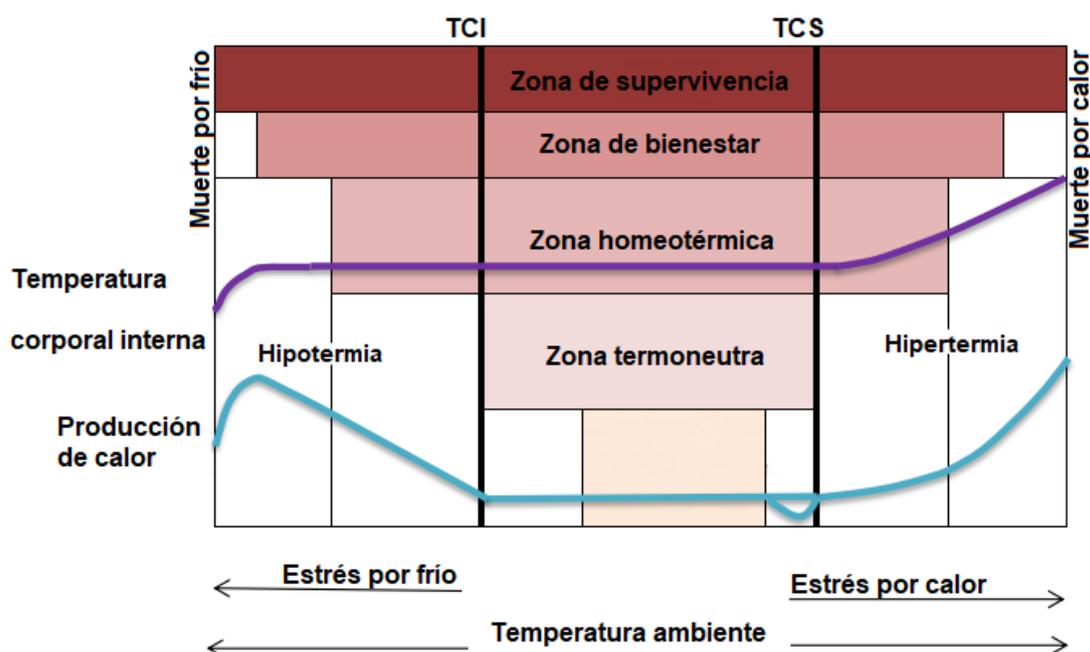


Figura 1.1. Relación esquemática entre la temperatura corporal interna y la producción de calor de un animal con diferentes ambiente en relación con el estrés por calor. Adaptado de Kadzere et al., (2002). TCI=Temperatura crítica inferior; TCS=Temperatura crítica superior.

El EC se produce cuando el exceso de calor proveniente del calor metabólico y el calor recibido del entorno, supera la cantidad de calor disipado por el cuerpo del animal. El EC es causado por una combinación inapropiada de factores ambientales como la temperatura ambiente (T), la humedad relativa (HR), la radiación solar, la velocidad del viento y las precipitaciones. Estos factores ambientales tienden a perturbar la homeostasis y a apartar las variables fisiológicas del animal de sus valores de normales (Collier et al. 2017). Además de las ya mencionadas proyecciones sobre el calentamiento global, el problema del EC está creciendo debido a las aumento en el nivel de producción del ganado lechero durante las últimas décadas. A medida que aumenta la producción de leche y la masa corporal de los animales, aumenta la producción de calor, lo que dificulta la regulación de la temperatura corporal sobre todo en ganado que produce en ambientes cálidos. Hasta el momentos se ha detectado que la selección para el aumento del nivel de producción de leche en ganado Holstein ignorando las manifestaciones de EC, ha provocado un deterioro de la tolerancia del ganado al calor, con un creciente problema de sensibilidad ambiental (Misztal, 2016; Carabaño et al. 2017).

Las respuestas generales al EC incluyen una variedad de efectos negativos (directos e indirectos) en la fisiología, el comportamiento, la producción, la reproducción, la salud y el bienestar, que a su vez influyen las posibilidades de producción y la calidad del producto (Rojas-Downing et al, 2017). Comprender la relación entre la calidad seminal y las variables meteorológicas posibilita mejorar la eficiencia de la reproducción, y llevar a cabo con éxito los programas de mejoramiento genético. La exposición a un clima cálido durante mucho tiempo antes de la pubertad puede afectar al desarrollo del sistema reproductivo de los terneros en crecimiento (Brito et al, 2012), seguido de una disminución de la calidad y la cantidad de semen de estos animales. En los toros empleados para IA, el EC causa numerosas alteraciones indeseadas en los parámetros de calidad y cantidad del semen, por ejemplo, a nivel de la espermatogénesis y la maduración del epidídimo (Meyerhoeffer et al, 1985), posteriormente las características físicas y morfológicas (Staub & Johnson, 2018), así como la eyaculación y el comportamiento reproductivo (Morrell, 2020). Cuando se produce el incremento de la temperatura escrotal/testicular, inicialmente la morfología de los espermatozoides no suele verse afectada (durante el período correspondiente al tránsito de los espermatozoides a través del epidídimo), pero posteriormente disminuye. Sin embargo, Vogler et al.,(1993) han demostrado que cuando se recogían espermatozoides del epidídimo poco después del calentamiento escrotal eran morfológicamente anormales. Por el contrario, otros estudios han indicado cambios evidentes en las células espermáticas sólo después de ser congelados, descongelados (Khalil et al, 2018), y que la morfología de los espermatozoides suele volver a los valores previos al tratamiento aproximadamente seis semanas después del cambio térmico. Sin embargo, un aumento prolongado o severo de la temperatura testicular retardará el período de recuperación. En general, la disminución de la calidad del semen tras el aumento de la temperatura testicular está relacionada con la severidad y la duración del shock térmico (Kastelic, 2013). Los efectos desfavorables del estrés térmico en el semen no se limitan al día de la recolección del semen, sino que comienzan unas dos semanas antes de la eyaculación y no vuelven a la normalidad hasta ocho semanas después del fin del estrés (Llamas Luceño et al. 2020). En este sentido, Vogler et al. (1993) han señalado que la espermatogénesis es más sensible al EC que la maduración epididimaria en condiciones experimentales, sin embargo Fuerst-waltl et al. (2006) han demostrado que ambos períodos, la maduración del epidídimo (1-11 días antes de la eyaculación) y la espermatogénesis (días 12-65 antes de la eyaculación), son intervalos críticos en los que se pudieron identificar importantes efectos del estrés en las características seminales. Dichos resultados han sido avalados por el más reciente estudio sobre EC, llevado a cabo por Al-Kanaan et al. (2015) en el que se han evaluado cuatro intervalos críticos previos a la fecha de colecta de semen. Por lo antes detallado, para el estudio de las consecuencias de la carga térmica en los parámetros seminales, en el presente estudio no sólo se considerará el THI registrado en la fecha de colecta, sino también se analizará el impacto del THI de los períodos anteriores a la fecha de recogida de semen en las valoraciones del semen. Se tendrá en cuenta la fecha de colecta (DC); el período correspondiente a la maduración del epidídimo (ME=10-15 días previos del DC); y el período considerado como espermatogénesis total (SG=60-70 días antes del DC).

Análisis De Caracteres Que Modifican Su Valor (Fenotipo) En función de Variables Medidas En una Escala Continua

En los programas de mejora genética existen muchos caracteres que se incluyen en el objetivo de selección que se miden a lo largo del gradiente de variables continuas, también llamados caracteres longitudinales (CL). Los CL se registran varias veces durante la vida o el ciclo fisiológico del animal, como la producción de leche, la producción de huevos en las aves, el aumento de peso de los animales en crecimiento, o la producción y calidad de semen (Oliveira et al. 2019). Debido a que los centros de IA registran rutinariamente datos de la cantidad y calidad del semen, disponen de muchos registros a lo largo del período productivo de cada toro, por lo que es posible estudiar efectos ambientales (EF) y efectos individuales (EA) dependientes del tiempo. A pesar de que la evaluación genética de los parámetros seminales, y por ende de los CL, se ha centrado principalmente en los modelos de regresión aleatoria (MRA), en base a los objetivos de la presente tesis es necesario mencionar brevemente los modelos utilizados para evaluar los caracteres seminales.

Modelo de repetibilidad

El modelo repetibilidad (MR) ha sido ampliamente utilizado para la evaluación de los caracteres seminales, ya que, como se ha indicado se dispone de varias medidas tomadas en un mismo animal. En este modelo se asume que los efectos genéticos no cambian con el orden del registro, es decir, que son los mismos para las diferentes observaciones (y eyaculados) y que los efectos permanentes no genéticos afectan por igual a todos los registros del mismo animal. El MR se ha utilizado en muchos trabajos (Mathevon, Buhr et al. 1998; Petrunkina et al. 2006; Berry et al. 2019) para evaluar los caracteres seminales asumiendo que no hay correlación entre los datos repetibles pero ignorando el factor tiempo entre las diferentes medidas. Sin embargo, probablemente la correlación entre medidas del mismo individuo sea mayor entre datos adyacentes que entre datos alejados y por otra parte es razonable que los genes implicados en la variación de un registro no sean exactamente los mismos que los que afectan a otra medición. El MR es sencillo, pero resulta de una simplificación excesiva, presentando problemas de no ajustar correctamente a los datos. Hay otras alternativas que se han planteado para el análisis de datos longitudinales que permiten reconocer cambios en las medias, varianzas y covarianzas entre las observaciones a lo largo del tiempo.

Modelo de regresión aleatoria

Los modelos de regresión aleatoria (MRA) se han propuesto inicialmente por Henderson, (1982) y Laird y Ware (1982), pero fueron llevados a la práctica en el ámbito de la mejora genética animal por Schaeffer y Dekkers (1994) para la modelización de datos de producción de leche registrados a lo largo de la lactancia. Posteriormente, Kirkpatrick & Heckman, (1989) han propuesto el uso de las funciones de covarianza para modelar las varianzas y covarianzas de los CL, analizar la interacción entre la parte genética y la parte ambiental (G^*A), considerar que las covarianzas genéticas e ambientales son funciones temporales.

Estructura del MRA

La estructura básica del MRA de acuerdo a Schaeffer, (2004) es la siguiente:

$$y_{ijkn:t} = F_i + g(t)_j + r(a;x;m1)_k + r(pe;x;m2)_k + e_{ijklmn}$$

Donde:

$y_{ijkn:t}$: es la observación n del k-ésimo animal en el tiempo t perteneciente al i-ésimo efecto fijo del j-ésimo grupo

F_i : es el efecto fijo que es independiente de la escala de tiempo para las observaciones

$g(t)_j$: es la función o funciones que tienen en cuenta la trayectoria fenotípica de las observaciones promedios para todos los animales del j-ésimo grupo.

$g(t)$: es una función que puede ser lineal o cuadrática en t . Esta función es necesaria en los MRA para tener en cuenta las covariables del tiempo (u otros tipos de covariables que pueden ser usadas en MRA).

La función de la regresión aleatoria para el efecto genético aditivo se representa de la siguiente forma:

$$r(a, x, m1) = \sum_{l=0}^{m1} a_{kl} x_{ijk:t}$$

Donde a es el efecto aditivo, x la covariable en el tiempo y $m1$ el orden de la función de regresión en función de la curva o la ecuación. La función de la regresión aleatoria para el efecto del ambiente permanente se representa de la siguiente forma:

$$r(pe, x, m2) = \sum_{l=0}^{m2} pe_{kl} x_{ijk:t}$$

Donde pe es el efecto aleatorio del ambiente permanente, x la covariable en el tiempo y $m2$ orden de la función de regresión en función de la curva o la ecuación.

La notación matricial del MRA es:

$$y = Xb + Z_1a + Z_2a + e$$

Donde b = vector de F_i y $g(t)$; a : vector de $m1+1$ (coeficientes de regresión genético aditivo para cada animal); p : vector de $m2+1$ (coeficiente de regresión del ambiente permanente para cada animal con datos); e : vector del ambiente temporal.

Además:

$$\text{var} \begin{bmatrix} a \\ p \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} G \otimes A & 0 & 0 \\ 0 & P \otimes I & 0 \\ 0 & 0 & I \otimes R \end{bmatrix}$$

Donde **G**: matriz de (co)varianzas de los coeficientes aleatorios de regresión del efecto genético aditivo de orden m_1+1 ; **P**: matriz de (co)varianzas de los coeficientes aleatorios de regresión del efecto del ambiente permanente de orden m_2+1 ; **R**: matriz diagonal con una estructura de autocorrelación para los registros de cada animal; \otimes = producto de Kronecker.

Polinomios de Legendre

Kirkpatrick & Heckman, (1989) han propuesto los polinomios ortogonales de Legendre (PL) para modelar las funciones de covarianza de los CL, ya que su plasticidad garantiza la forma de cualquier patrón posible. Además, de acuerdo a Schaeffer, (2004), los PL ofrecen correlaciones más bajas entre los coeficientes de regresión aleatoria y las estimaciones de producción de las matrices de covarianza que tienden a ser más robustas sobre diferentes bases de datos fenotípicos. Los MRA se han empleado en numerosos trabajos en mejora genética animal, y continúan siendo vigentes incorporando información genómica (Oliveira et al. 2019). A partir de la aplicación de los MRA es posible estudiar la trayectoria fenotípica y genética de los caracteres seminales en dependencia de las variables meteorológicas (T, HR, y THI), permitiendo modelar la curva de regresión aleatoria de cada efecto aleatorio y, estimando las heredabilidades, repetibilidades y varianzas genéticas para un nivel determinado de carga térmica. Diversos trabajos han empleado este tipo de modelos en el análisis del componente genético de la tolerancia al EC, en el análisis de la dinámica del THI (Ravagnolo et al. 2000; Ravagnolo & Misztal, 2002). En ganado lechero se han utilizado los MRA para analizar los parámetros fenotípicos (Brügemann et al. 2012) y genotípicos (Brügemann, 2013; Bernabucci et al. 2014) de producción y reproducción (Al-Kanaan et al., 2015) identificando los umbrales del THI y la G^*A .

Parámetros genéticos De Los Caracteres Seminales: Heredabilidad Y Correlaciones Genéticas

La magnitud del componente genético de un carácter viene reflejada por la heredabilidad de dichos caracteres en nuestro caso los caracteres seminales. Las estimas de heredabilidad de los parámetros seminales varían considerablemente entre los parámetros y dentro de cada uno de ellos. La variación en los resultados dentro de los caracteres puede deberse a factores como las diferencias en el tamaño de la muestra, la modelización estadística, la población o la raza, la edad y la madurez de los toros, así como la forma en la que se registran los caracteres. Las estimaciones de heredabilidad en la literatura en diferentes poblaciones y países oscilaron entre 0,14 y 0,49 para el VOL, 0,04 y 0,52 para la CONC y 0,03 y 0,54 para la MI, siendo que no todos los trabajos han estimado dicho parámetro para la MPC. Es de destacar, que en un trabajo realizado por Karoui et al. (2011) en toros Holstein todas las estimaciones de heredabilidad fueron moderadas excepto la de la MI (0.04-0.07). En la Tabla 1.2 se presenta un resumen de los resultados encontrados para la heredabilidad de los caracteres seminales en toros de diferentes razas lecheras.

Tabla 1.2. Estimaciones de heredabilidades de caracteres seminales encontradas en la literatura

Autores	N. obs ¹	País	Raza	VOL ²	CONC ²	MM ²	MI ²	MPC ²
Mathevon et al.,(1998)		Canadá	Holstein (J) ³	0,24	0,52		0,49	
			Holstein (A) ³	0,44	0,36		0,54	
Carabaño (2007)	8773	España	Holstein	0,15-0,35			0,04-0,07	
Druet et al. (2009)			Holstein	0,22	0,19		0,43	0,21
Karoui et al. (2011)	42338	España	Holstein	0,18-0,21	0,13-0,18	0,12-0,13		0,20
Al-Kanaan et al. (2015) ³	10341	Alemania	Holstein	0,18	0,27		0,29	
Burren et al. (2019)	124492	Suiza	Brown Swiss	0,42	0,34		0,18	
			Holstein	0,45	0,30		0,30	
			Red Holstein	0,49	0,20		0,04	
			Simmental	0,10	0,23		0,04	
Yin et al. (2019)		China	Holstein	0,15	0,22		0,12	
Olsen et al. (2020)	14972	Noruega	Noruego rojo	0,14	0,14		0,03	

¹N.obs: número de observaciones; ²VOL: Volumen, CONC; Concentración; MM: Motilidad masal; MPC: Motilidad post-congelación; ⁴J: Animal joven; A: Animal adulto; ³Se citan los valores máximos de heredabilidad.

En cuanto a las correlaciones genéticas, la mayoría de los estudios sobre la relación entre caracteres seminales tiene como objetivo analizar las correlaciones genéticas entre los diferentes caracteres o también con otros parámetros que están relacionados con la producción y calidad seminal como el caso del peso de los animales (Olsen et al. 2020c) o la circunferencia escrotal (Kealey et al. 2006; Garmyn et al. 2011) o con la tasa de concepción (Yin et al. 2019). En la Tabla 1.3 se muestran las correlaciones genéticas entre caracteres encontrados en la literatura. Las estimas son bastante consistentes entre razas, e incluso entre especies, con alguna excepción. Los caracteres que parecen más correlacionados entre sí son aquellos que miden la calidad del semen, como la CONC y motilidades. Y como era de esperar, parece detectarse un antagonismo entre VOL y el resto de los caracteres, sobre todo en las estimas entre VOL y CONC, con valores negativos en la mayor parte de los estudios, y solo algunos positivos pero muy bajos (0,02-0,09).

Tabla 1.3. Estimaciones de correlaciones genéticas entre los caracteres seminales encontradas en la literatura

Autores	País	Raza	VOL ¹ - CONC ¹	VOL- MM ¹	VOL- MI ¹	VOL- MPC ¹	CONC- MM	CONC- MI	CONC- MPC	MM- MI	MM- MPC	MI- MPC
Druet et al. (2009)	Francia	Holstein	-0,55		-0,2	-0,47		0,12	0,29			0,58
Karoui et al. (2011)	España	Holstein	0,05	0,29	0,39	0,38	0,85	0,82	0,49	0,85	0,76	0,74
Pelayo et al. (2019) ²	España	Assaf ²	-0,25	-0,33			0,20					
		Churra ²	0,02	0,12			0,34					
		Manchega ²	-0,49	-0,29			0,32					
Burren et al. (2019)	Suiza	Brown Swiss	-0,48		-0,04			0,50				
		Holstein	-0,29		0,46			-0,30				
		Holstein Rojo	-0,69		-0,14			0,24				
		Simmental	-0,42		0,35			0,26				
Yin et al. (2019)	China	Holstein	0,09		0,29			0,35				
Olsen et al. (2020a)	Noruega	Rojo Noruego	0,07		0,57			0,71				

¹VOL: Volumen, CONC; Concentración; MM: Motilidad masal; MPC: Motilidad post-congelación; ²Estudio realizado en razas ovinas productoras de leche.

2. Estudio de efectos ambientales y de parámetros genéticos de los caracteres de producción y calidad seminal

INTRODUCCIÓN

En los últimos 50 años , la IA ha permitido una mejora genética más rápida, ya que a partir de esta herramienta los ganaderos pueden introducir en sus rebaños a las hijas de los sementales genéticamente superiores y mejorar los rasgos de importancia económica (Davis & White, 2020; Dejarnette et al., 2004). El éxito de esta técnica reproductiva y el uso óptimo de toros de mayor mérito genético depende en gran parte de la capacidad fecundante de su semen que tratamos de determinar a partir de parámetros de calidad seminal fáciles de medir en centros de IA. El uso de semen subfétil o infértil no solo afecta negativamente a los ganaderos que lo utilizan sino también a las empresas de IA que lo distribuyen. En el caso de los ganaderos, genera retrasos y/o fallos en la concepción, prolongación de la temporada de partos, incremento de los periodos de secado, reducción del peso de los terneros al destete y aumento el número de hembras sacrificadas, mayores pérdidas económicas y detrimento de la sostenibilidad de una explotación ganadera (Kastelic, 2013). En el caso de las empresas de IA genera pérdidas directas importantes además de reducir la capacidad de testaje de toros.

En esta parte del estudio se han estimado los parámetros genéticos del usando un modelo animal, sin tener en cuenta el efecto de la carga térmica. El modelo base (MB) empleado en este análisis servirá de referencia para comparar estimas posteriores bajo modelos de regresión aleatoria (MRA) que contemplen el efecto del EC en la próxima sección.

DATOS FENOTÍPICOS

Para la realización del estudio se dispuso de la base de datos histórica de calidad seminal cedida por el centro de IA ABEREKIN SA, constituida por 98.981 registros seminales de 962 toros de la raza Holstein, recogidos entre los años 1980 y 2019. La colecta de semen en este centro de IA se lleva a cabo de una manera rutinaria obteniendo para cada toro dos eyaculados por día, las colectas sucesivas están separadas siete días. Los caracteres que se miden son el volumen de cada eyaculado (VOL), la concentración espermática (CONC), la motilidad masal (MM), que mide la calidad de movimiento del esperma en una escala de 0 (nulo) a 5 (óptimo), la motilidad individual (MI) en fresco, medida como porcentaje de espermatozoides móviles y la motilidad post-congelación (MPC), como porcentaje de espermatozoides móviles tras la congelación y posterior descongelación. Los detalles sobre el protocolo de manejo del eyaculado para la medición de estos caracteres en este centro de IA pueden encontrarse en Karoui et al. (2011). La manera de medir la motilidad espermática, que era llevada de forma visual por los técnicos del centro de IA, cambió en el año 2004 a medición mediante el sistema CASA, que produce la valoración de motilidad de forma automatizada, según se describió en el Capítulo 1 de esta tesis.

La base de datos original fue editada siguiendo los criterios de depuración de los registros de calidad seminal de la empresa de IA, y los consultados en la bibliografía (Fuerst-waltl et al. 2006; Karoui et al. 2011; Morrell et al. 2017; Murphy et al. 2018; Sabés-Alsina et al. 2019; Olsen et al. 2020b).. El procedimiento de depuración se detalla en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Criterios de depuración de la base de datos fenotípicos.

Registros	Toros	Criterio de eliminación	Eliminados	
			Registros	Toros
98.981	957	Datos de origen		
94.126	850	Eyaculados rechazados ¹	4.855	107
84.510	850	Ausencia de Fecha de nacimiento	9.616	-
80.368	850	3° y 4° eyaculados	4.142	-
80.304	831	Toros con <5 registros	64	19
80.150	828	Toros con edad negativa	154	3
78.721	828	Volumen=0	1.429	-
76.635	828	Concentración=0	2.086	-
76.516	828	Valores anómalos ²	119	-
74.177	828	Registros tomados con <12 y >96 meses de edad	2.339	-
70.039	828	Valores perdidos y 0 ³	4.138	-

¹Eyaculados rechazados: Extracciones rechazadas (por presencia de pus, grumos, sangre, o agentes contaminantes); ²Valores anómalos: registros con valores fuera del rango normal (VOL>20, CONC<0, MM>5, MPC>99); ³Valores perdidos y 0: registros con 0 y NA.

Tras la depuración, el fichero de datos contenía 70.039 registros correspondientes a 828 toros, nacidos entre los años 1980 y 2018, y recogidos entre marzo del 1986 y diciembre del 2019. La Tabla 2.2. presenta un resumen sobre la cantidad de información disponible para cada carácter. El promedio de observaciones por toro para cada una de las características seminales ha sido variable, oscilando entre 81 y 85, excepto para MPC para la que sólo se cuenta con una medida por fecha de colecta. No obstante, la variabilidad en el número de datos por animal fue grande, lo que podría explicarse, tal como lo ha indicado Dejarnette et al. (2004) a partir de la diferencia en la demanda del semen de cada toro, que depende de su valor genético.

Tabla 2.2. Descripción del número de registros por parámetro seminal

	VOL ²	CONC ²	MM ²	MI ²	MPC ²
N.obs ¹	69852	67457	69075	79714	33076
NToros	828	826	828	828	822
Nobs/Toro					
Media	84.36	81.67	83.42	85.19	40.23
D.T ²	78.59	78.21	78.56	78.56	51.72
[Min-Max] ²	[5-830]	[5-824]	[5-829]	[5-830]	[2-709]

¹Nobs: número total de observaciones por carácter; D.T: Desviación típica; [Min-Max]: valor mínimo y máximo.

²VOL: volumen del eyaculado; CONC: concentración; MM: motilidad masal; MI: motilidad individual; MPC:

Además de la base de datos fenotípicos, se obtuvo una base de datos de genealogía (individuo, padre y madre) a partir de la información cedida por el propio centro de IA y por CONAFE. Esta base de datos de pedigrí constaba de 3583 individuos, incluyendo información genealógica de 3 generaciones anteriores a los toros en la base de datos fenotípica.

MÉTODOS

En una fase inicial del presente estudio se han realizado análisis de gráficos exploratorios para conocer la relación entre los datos seminales y los distintos factores que, según se reflejó en el Capítulo 1 de esta tesis, pueden afectar la producción y calidad de semen observada que sirvieron para definir la modelización del efecto de dichos factores en los análisis del componente genético de los caracteres de interés.

En un segundo paso se llevaron a cabo análisis de estimación de efectos ambientales y genéticos sobre estos caracteres, usando modelos uni-carácter sobre cada carácter seminal en un primer paso y un modelo animal multicarácter (MAMC) que considera los cinco caracteres simultáneamente, en un segundo paso. Los efectos ambientales e individuales fueron los mismos en ambos casos, añadiendo únicamente la estructura de (co)varianzas entre caracteres en el modelo MAMC. Este modelo fue definido de la siguiente manera:

$$y_{ijklmn} = FC_i + AC_j + NE_k + SV_l + a_n + pe_m + e_{ijklmn} \quad [1.1]$$

Donde y_{ijklmn} es el vector de observaciones para los caracteres de producción y calidad seminal (VOL, CONC, MM, MI, y MPC); FC_i es el efecto fijo fecha de colecta del semen ($i=1, \dots, 4936$); AC_j es el efecto fijo edad a la colecta ($j=$ clases de edad $1, \dots, 6$), definidas en base a los análisis preliminares descriptivos de este factor; NE_k es el efecto fijo número de colecta ($k=1$ ó 2); y SV_l es el efecto fijo del sistema de valoración seminal ($l=$ Evaluación visual convencional o CASA). Los efectos aleatorios incluidos en el modelo fueron el efecto genético aditivo del toro (a_n , $n=1, \dots, 3538$), el efecto del ambiente permanente (pe_m , $m=1, \dots, 828$) y el residuo (e_{ijklmn})

Se asumió la siguiente estructura de (co)varianzas:

$$\text{var}(\mathbf{a}) = \mathbf{G}_o \otimes \mathbf{A}; \text{var}(\mathbf{p}) = \mathbf{P}_o \otimes \mathbf{I}; \text{var}(\mathbf{e}) = \mathbf{R}_o \otimes \mathbf{I}$$

donde \mathbf{a} , \mathbf{p} y \mathbf{e} son los vectores de efectos genéticos, ambiente permanente y efectos residuales respectivamente, \mathbf{A} es la matriz de relaciones aditivas, \mathbf{I} es la matriz identidad y \mathbf{G}_o , \mathbf{P}_o y \mathbf{R}_o son las matrices de (co)varianzas aditiva, de ambiente permanente y residual correspondientes a los cinco caracteres.

La estima de los parámetros genéticos de los caracteres de producción de semen se ha llevado a cabo utilizando el software remlf90 (Ignacy Misztal et al., 2015), aplicando la metodología de máxima verosimilitud restringida (REML).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2.3 se presenta un resumen estadístico de los datos fenotípicos para el total de la información usada en este estudio. Las medias observadas para los caracteres seminales en estudio son, en general, coincidentes con los valores hallados en la (Al-Kanaan et al. 2015; Karoui et al. 2011; Morrell et al. 2018; Berry et al. 2019; Yin et al. 2019; Olsen et al. 2020a).. En general, todos los caracteres mostraron una variabilidad considerable, atendiendo a los coeficientes de variación, más altos para la CONC y el VOL.

Tabla 2.3. Estadísticos descriptivos de los datos de producción y de calidad de semen

Estadísticos¹/Caracter²	VOL	CONC	MM	MI	MPC
Media	5,62	1248,4	3,23	84,0	52,7
Q1	3	575	2	80,0	45,0
Mediana	5	1210	3	85	50
[Min-Max]	[1-20]	[1-9741]	[0,5-5]	[1-99]	[10-95]
Q3	7	1600	4	90	60
D.T	2,46	552,5	1,08	12,0	9,5
C.V	43,70	44,3	33,73	14,1	18,0

¹Q1: primer cuartil; [Min-Max]: valor mínimo y máximo; Q3: tercer cuartil; D.T: desviación típica.; C.V: coeficiente de variación. ²VOL: volumen del eyaculado (ml); CONC: concentración del eyaculado (millones de espermatozoides/ml); MM: motilidad masal (escala del 0 al 5); MI: motilidad individual (%); MPC: motilidad post congelación (%).

Análisis preliminares

Según se ha indicado anteriormente, se realizaron en una primera fase una serie de análisis descriptivos preliminares para evaluar identificar posibles factores que afectan la producción y calidad seminal. En la Tabla 2.4 se muestran las diferencias en media y dispersión de las variables en estudio en función del número de eyaculado. La media de todos los caracteres fue ligeramente superior para el primer eyaculado, tal como ha sido reportado por Karoui et al., (2011) en un estudio similar llevado a cabo en toros Holstein. Sin embargo Murphy et al., (2018) en un reciente trabajo ha reportado diferencias significativas entre ambos eyaculados únicamente para el VOL y la CONC, siendo poco significativas para la MI y la MPC. La dispersión fue también similar para los dos eyaculados, con una tendencia a mostrar una desviación típica superior para el primer eyaculado en todos los caracteres. En definitiva, estos datos preliminares indican que la inclusión del efecto del número de eyaculado en el modelo de análisis de los caracteres seminales parece justificada en estos datos, sin ser necesaria una consideración de una varianza heterogénea asociada este factor.

Tabla 2.4. Descripción de los datos de producción de semen por eyaculado

Estadístico ¹ / Caracter ²	VOL		CONC		MM		MI	
	EY ₁	EY ₂						
Media	5,94	5,22	1427,5	1057,1	3,27	3,13	84,0	84,2
D.T.	2,51	2,31	563,9	473,3	1,10	1,05	12,3	11,4
C.V.	42,32	44,27	39,5	44,8	33,7	33,6	14,6	13,5

¹D.T: desviación típica.; C.V: coeficiente de variación. ²EY: Eyaculado i (i=1,2); VOL: volumen del eyaculado (ml); CONC: concentración del eyaculado (millones de espermatozoides/ml); MM: motilidad masal (escala del 0 al 5); MI: motilidad individual (%); MPC: motilidad post congelación (%).

Otro factor evaluado a nivel descriptivo ha sido la edad del toro en el momento de la colecta. Las medias de los caracteres para los datos recogidos en cada mes de edad del toro se muestran en la Figura 2.2. Tal como lo han señalado Karoui et al. (2011), Milinkovic (2012), Seidel (2012), y Staub y Johnson (2018), los toros más jóvenes han mostrado valores más bajos que los toros adultos para todos los caracteres seminales bajo estudio probablemente debido a la falta de maduración sexual y desarrollo. Únicamente, Picard-Hagen et al. (2002) no han señalado efectos significativos de la edad sobre la CONC. El VOL ha sido el carácter que mayor aumento muestra con la edad, principalmente por el incremento en el tamaño testicular (Curtis et al. 1981; Staub y Johnson, 2018). Todos los caracteres mantuvieron el nivel alcanzado en la maduración hasta los 96 meses de edad, que es la edad máxima de los toros en este estudio.

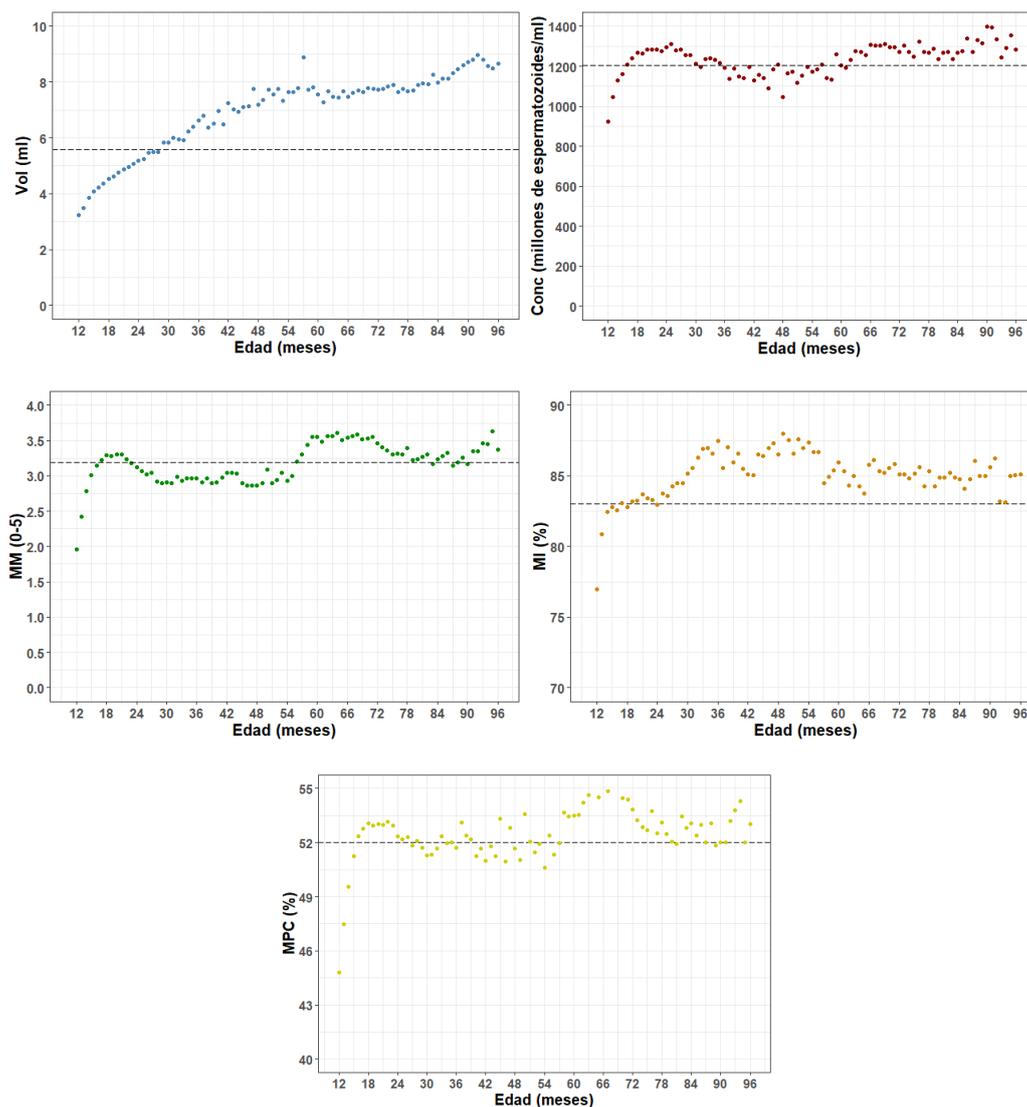


Figura 2.1. Media del volumen del eyaculado (VOL), concentración espermática (CONC), motilidad masal (MM), motilidad individual (MI), y motilidad post-congelación (MPC) por mes de edad del toro. La línea negra discontinua indica la media del carácter.

Por último, se ha evaluado el efecto del sistema de determinación de la calidad seminal, comparando estadísticos descriptivos de los caracteres medidos antes y después de la fecha de implantación del sistema CASA. En general, los resultados de la valoración seminal convencional dependen de la capacidad y experiencia del técnico por lo que como en cualquier carácter que implica subjetividad. Un técnico con poca experiencia y repetibilidad podría aportar una valoración cuyos resultados son discutibles (Seidel, 2012; Mortimer et al. 2018). Por ello, y casi de forma generalizada los centros de IA disponen de técnicas analíticas basadas en programas informáticos, como el antes mencionado sistema CASA, que permiten una estimación más objetiva de los parámetros de calidad seminal (Boe-hansen & Satake, 2019). En la Tabla 2.5 se describen los datos seminales de acuerdo con la técnica con la que han sido evaluados.

Tabla 2.5. Descripción de los datos de semen por sistema de valoración seminal, convencional (SC) o CASA.

Estadístico ¹ /Carácter ²	MM		MI		MPC	
	SC	CASA	SC	CASA	SC	CASA
Media	2,30	3,84	86,1	82,4	49,5	54,9
D.T.	0,73	0,81	9,18	14,1	10,9	7,59
C.V.	31,9	21,1	10,7	17,1	21,9	13,8

¹D.T.: desviación típica.; C.V.: coeficiente de variación; ²MM: motilidad masal (0-5); MM: motilidad masal (escala del 0 al 5); MI: motilidad individual (%); MPC: motilidad post-congelación (%).

Como puede verse en la Tabla 2.5, el sistema de evaluación ha presentado diferencias en las medias y en la dispersión de las medidas de motilidad, pero en distintos sentidos. Mientras que para MM y MPC las medias fueron más altas para el sistema CASA, se observó lo contrario para MI. En cuanto a la dispersión, cada carácter mostró un comportamiento diferente. De acuerdo a la literatura revisada, no se han realizado análisis comparativos entre las dos metodologías, pero en las revisiones de Seidel, (2012) y Simonik et al. (2015) antes citadas, se han mencionado sobreestimas y subestimas en el SC, relacionadas con el error del técnico que caracteriza a este sistema. También se ha señalado que el CASA es susceptible a ciertos errores provenientes de la parte preanalítica, es decir, durante la preparación de una muestra: otros parámetros seminales como la CONC, el VOL de la muestra, el tipo de cámara de recuento, la temperatura y el tipo de diluyente utilizado. Las diferencias encontradas en las valoraciones de MPC por Muñío et al. (2009) no han sido atribuidas al sistema de valoración, sino a las diferencias individuales de sensibilidad los eyaculados a la crioconservación, relacionadas principalmente con la raza. En este sentido es necesario señalar que se han dado algunas modificaciones en el protocolo de valoración de semen en el centro de IA, como el cambio de diluyente para la preparación del semen fresco a partir del año 2001, o la incorporación de un nuevo equipo de congelación programable a partir del año 1997.

Componentes ambientales y genéticos de los caracteres seminales

En las Figuras 2.2 y 2.3 se presentan las estimas de los efectos fijos edad a la colecta (AC), número de colecta (NC) y método de valoración seminal (SV), respectivamente, correspondientes al análisis uni-carácter. Todos los caracteres de semen han sido afectados por la AC, la mayoría de ellos, (excepto el VOL), ha mostrado un descenso brusco en edades avanzadas (superior >50 meses), dichas variaciones coincidieron con Bhakat et al. (2011) en ganado autóctono Pakistaní, quienes han observado una disminución en la CONC, MM y MI, a partir de los 48 meses de edad.. Tal como lo han registrado Mathevon et al (1998), Karoui et al. (2011), Milinkovic, (2012), y Murphy et al. (2018) se ha observado un aumento en el VOL de semen eyaculado con la edad, con una tendencia a estabilizarse. El aumento del VOL en los animales de mayor edad está relacionado con el incremento de la masa corporal y el rápido crecimiento testicular, lo que da origen a un aumento de la cantidad de semen y del número de espermatozoides maduros con una pronunciada motilidad progresiva.. Esto concuerda con lo señalado por Snoj et al. (2013) en un estudio multiraza, ya que ha indicado que el menor VOL se ha registrado

en animales menores de 24 meses. La CONC ha mostrado una disminución con la edad, a partir de los 48 meses. De acuerdo a Seidel, (2012), es probable que el descenso en la CONC, y por ende en la producción total de espermatozoides, en toros de avanzada edad, esté relacionada con la dificultad para la estimulación durante la preparación previa a la colecta de semen. Estos resultados coinciden con lo señalado por Mathevon et al. 1998), Karoui et al. (2011) y Fuerst-Waltl et al. (2006), por el contrario Brito et al. (2002) no ha observado efectos importantes de la edad sobre la CONC. Para las tres motilidades se ha observado una fase ascendente más rápida hasta los 24 meses de edad (Clase 3), disminuyendo luego en menor medida a partir de los 36 meses (Clase 4), y cayendo por último rápidamente a partir de los 50 meses de edad (Clase 5). Las diferencias entre el valor máximo y mínimo de los caracteres seminales alcanzaron: 3 ml en el caso del VOL, 200 millones de espermatozoides/ml para la CONC, y apenas 0,20 puntos para la MM y 3 puntos para las MI y MPC. Probablemente el efecto edad de toro se deba en parte a un tratamiento preferencial. Algunos toros adultos pueden beneficiarse de un tratamiento preferencial, mientras que un posible estado de salud desfavorable puede disminuir la cantidad y la calidad del semen de otros sementales. Por lo tanto el manejo animal y el estado sanitario pueden sesgar los resultados en lo que respecta a los efectos de la edad.

En cuanto al efecto del número de colecta se ha observado que, en general, afecta a todos los caracteres negativamente, sobre todo al VOL y la CONC. Este último parámetro ha sido el más afectado, la diferencia entre los dos niveles extremos de este efecto fue cercana a los 350 millones espermatozoides/ml. Los resultados del presente trabajo han sido acordes a los estudios previos (Karoui et al., 2011; Murphy et al., 2018) en lo que respecta al VOL y la CONC, sin embargo en las motilidades en nuestro estudio el efecto del número de eyaculado ha sido menos relevante.

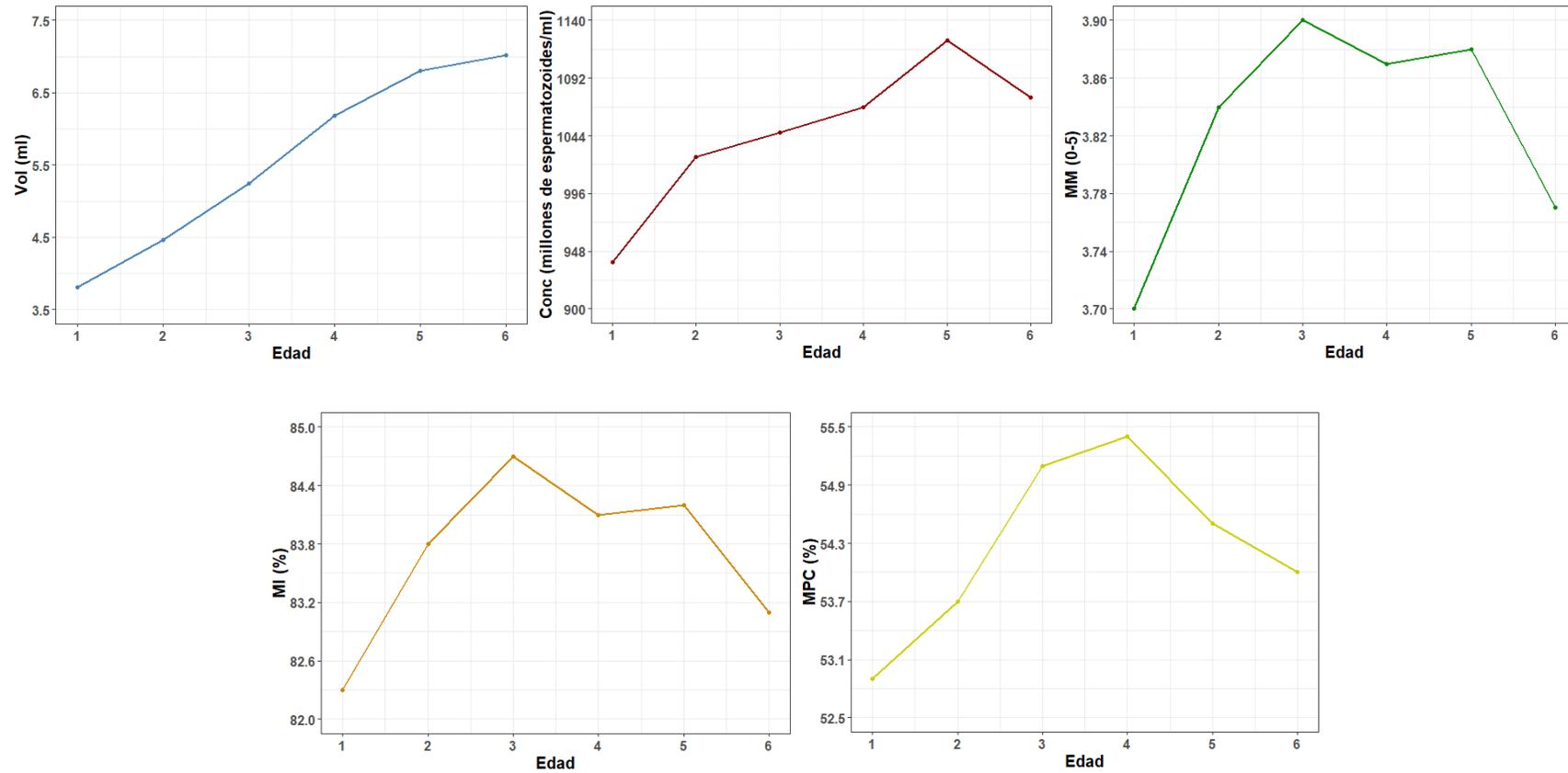


Figura 2.2. Estimaciones asociadas al efecto edad a la colecta para volumen del eyaculado (VOL), concentración espermática (CONC), motilidad masal (MM), motilidad individual (MI), y motilidad post-congelación (MPC).

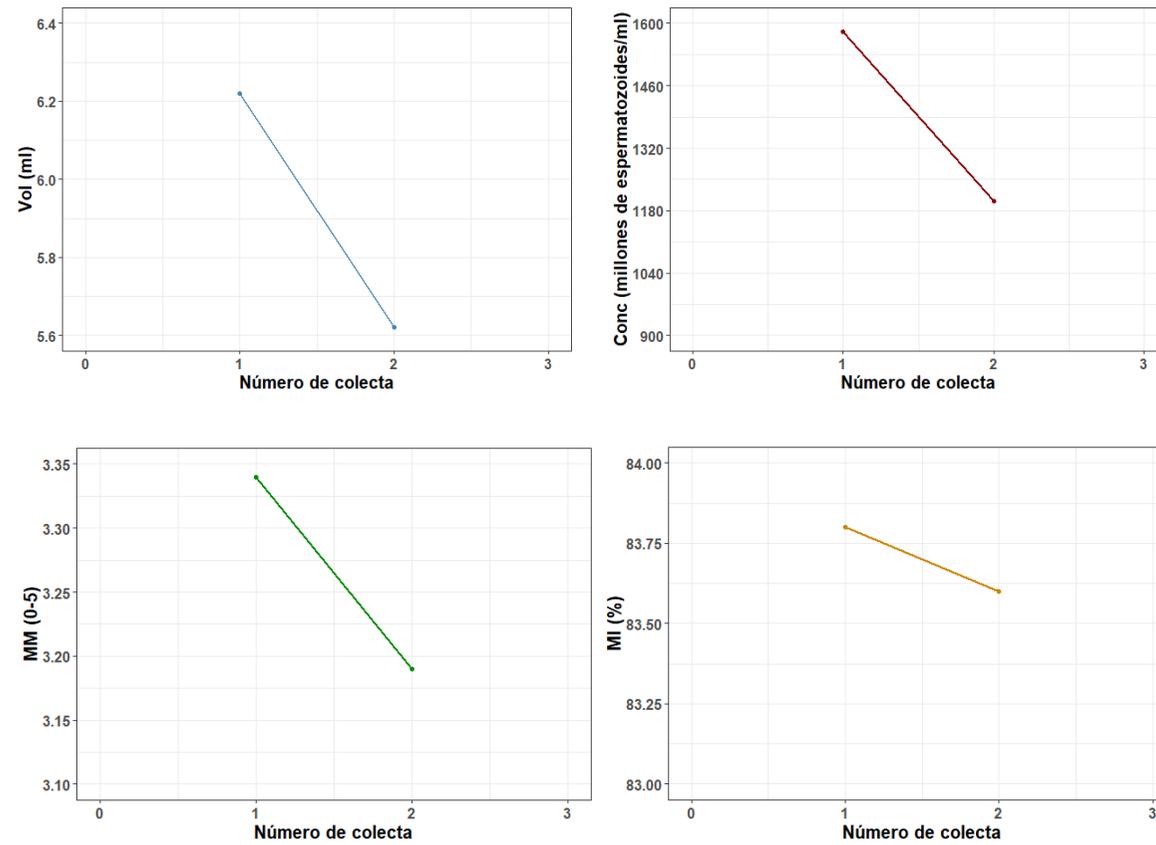


Figura 2.3. Estimaciones asociadas al efecto número de colecta para volumen del eyaculado (VOL), concentración espermática (CONC), motilidad masal (MM), y motilidad individual (MI).

Estimas de correlaciones genéticas y heredabilidades

En la Tabla 2.6 se presentan las estimas de componentes de varianza y heredabilidades de los caracteres estudiados bajo el modelo unicarácter. Las estimas de los parámetros genéticos de los caracteres de producción de semen encontrados en la literatura (Tabla 1.2) varían en un amplio rango de valores a partir de las diferencias en las poblaciones, las razas, la metodología de medición de los caracteres seminales, y por supuesto por las diferentes metodologías de estimación. En este estudio, las estimas de heredabilidad para la mayoría de los caracteres seminales estuvieron en el mismo del orden de magnitud que las halladas por Karoui et al (2011), Al-Kanaan et al., (2015), y Yin et al., (2019) en Holstein, y por debajo de las reportadas por Burren et al., (2019) en un estudio multiraza, y Olsen et al. (2020) en ganado noruego rojo. Los caracteres que mostraron una heredabilidad más baja fueron MI y CONC, con valores muy parecidos al de Karoui et al (2011) para MI, pero bastante por debajo de las estimas de la literatura para CONC. En el caso de MI, esperábamos que el uso del sistema CASA para medir motilidad de una forma más objetiva que la apreciación visual del técnico podría repercutir en la obtención de estimas más altas de la heredabilidad de estos caracteres, pero no fue así.

Tabla 2.6. Estimaciones de los componentes de varianza para los caracteres seminales.

Caracteres ²	Componentes de varianza ¹				
	σ_g^2	σ_{pe}^2	σ_e^2	σ_p^2	h^2
VOL	0,64	0,42	2,70	3,76	0,17
CONC	0,23e05	0,59e05	0,16e06	0,24e06	0,09
MM	0,10	0,07	0,37	0,54	0,18
MI	8,72	37,89	105,5	152,11	0,06
MPC	18,29	7,14	49,90	75,33	0,24

¹ σ_g^2 : varianza genética aditiva; σ_{pe}^2 : varianza ambiental permanente; σ_e^2 : varianza residual; σ_p^2 : varianza total; h^2 : heredabilidad. ² VOL: volumen (ml); CONC: concentración (millones de espermatozoides/ml); MM: motilidad masal (escala 0-5); MI: motilidad individual (%); MPC: motilidad post-congelación (%).

Las estimas de heredabilidades y correlaciones genéticas del MAMC se presentan en la Tabla 2.7. Las heredabilidades obtenidas con el modelo multicarácter fueron idénticas a las obtenidas con los modelos uni-carácter, a excepción del carácter CONC. En este caso, la estima de heredabilidad fue más alta, estando más en el rango de estimas previas de la literatura.

Las estimas de las correlaciones genéticas entre las diferentes motilidades fueron altas (0,81-0,91), y también entre la CONC y las motilidades (0,45-0,67). Este estudio mostró unas estimas de correlación entre el VOL y el resto de los caracteres que han sido moderadas con las motilidades (0,24-0,41) y ligeramente negativa con la CONC (-0,10). En general puede decirse que para VOL y CONC, las estimas de correlaciones con los otros caracteres están en el rango de estimas de la literatura, que han mostrado bastante variabilidad entre estudios (Ver Tabla 1.3). La correlación VOL-CONC en los otros estudios va de próxima a cero a -0,69 en Holstein Rojo (Burren et al., 2019). Quizá es razonable observar valores negativos para esta correlación, como ocurre con el volumen de leche y la concentración de grasa y proteína. En cuanto a la correlación entre VOL y motilidades, las estimas previas dan un rango de valores muy amplio, incluyendo tanto valores positivos como negativos, sin un a priori biológico sobre el valor esperado de esta correlación. Por último, las correlaciones entre CONC

y motilidades tienden a dar valores positivos en otros estudios, igual que en nuestro caso, lo que podría ser razonable si pensamos que todos son caracteres de calidad seminal.

Tabla 2.7. Estimaciones de las heredabilidades (en la diagonal) y correlaciones genéticas (sobre la diagonal) de los caracteres seminales.

Caracteres¹	VOL	CONC	MM	MI	MPC
VOL	0,17	-0,10	0,34	0,41	0,24
CONC		0,16	0,67	0,45	0,45
MM			0,18	0,91	0,84
MI				0,06	0,81
MPC					0,24

¹VOL: volumen de semen; CONC: concentración; MM: motilidad masal; MI: motilidad individual; MPC: motilidad post-congelación.

CONCLUSIONES

Los factores ambientales tales como la edad a la colecta y el número de eyaculado afectan de manera relevante a los parámetros seminales estudiados. El efecto de la edad muestra una peor producción y calidad seminal para los toros jóvenes, probablemente debido a los cambios fisiológicos que se producen cuando los animales alcanzan la madurez sexual, siendo este un asunto importante teniendo en cuenta que la industria lechera tiende a destinar toros de temprana edad (<12 meses) para IA.

Las estimas de heredabilidades obtenidas fueron de bajas a moderadas y las correlaciones mostraron sinergias entre los caracteres, a excepción de la correlación entre VOL y CONC. Es importante señalar que la MPC, que es probablemente el carácter más importante por su relación con los resultados de la IA, parece ser el más parámetro más heredable. Por otro lado presenta unas correlaciones genéticas altas con el resto de los caracteres, con lo cual se podría llevar a cabo una selección genética directa de la MPC, lo que generaría una respuesta positiva del resto de los caracteres seminales estudiados.

3. Estudio del efecto de la carga térmica sobre los caracteres de producción y calidad seminal: respuesta poblacional e individual

INTRODUCCIÓN

Según se ha indicado en el Capítulo 1, una elevada carga térmica puede tener efectos indeseados asociados sobre la cantidad y calidad seminal (Al-Kanaan et al. 2015; Fuerst-Waltl et al. 2006; Morrell et al. 2018).

El índice THI, que combina la temperatura (T) y la humedad relativa (HR) ambiental, es el indicador de EC más utilizado en producción animal. El THI propuesto por el NRC (1971) es el más empleado en ganado vacuno para medir la respuesta al gradiente de carga térmica y ha sido usado para medir esta respuesta sobre todo en los caracteres de producción lechera (Ravagnolo & Misztal, 2002; Aguilar et al. 2010; Brügemann et al. 2012; Carabaño et al. 2014) y en menor cuantía en los resultados de la IA (Al-Kanaan, et al 2013; Yin et al. 2014), o en los parámetros seminales (Fuerst-Waltl et al. 2006; Al-Kanaan et al. 2015) . Sin embargo, en un trabajo llevado a cabo por Bohmanova et al. (2007) en el que compara este índice con otros que dan diferentes ponderaciones a las variables de temperatura y humedad relativa, se ha llegado a la conclusión de que el factor limitante del EC depende de las características ambientales. Así, en climas húmedos, de acuerdo con estos autores, la HR es el factor limitante de la tolerancia EC, mientras que la T es el factor limitante de la tolerancia climas secos. El efecto de la HR per se en los caracteres de interés económico en ganadería no ha sido prácticamente estudiado, Vogler et al (1993) han llevado a cabo un estudio sobre el efecto de la HR y T en los parámetros seminales en condiciones experimentales y un pequeño tamaño muestral, han observado que la espermatogénesis ha sido especialmente sensible a elevados niveles de carga térmica.

Además de la elección de las variables meteorológicas o los índices que las combinan, otro aspecto importante en la caracterización de la carga térmica para medir la respuesta en diferentes caracteres es la determinación del periodo en que la intensidad de carga térmica tiene un efecto más crítico sobre el parámetro reproductivo de interés. En producción de leche está ampliamente reconocido que la temperatura o del THI en los dos o tres días previos a la toma del datos de producción es el periodo crítico para medir la respuesta al EC (; Ravagnolo & Misztal, 2002; Aguilar et al. 2010; Bernabucci et al. 2014; Misztal, 2016). Para los caracteres seminales se han encontrado menos evidencias sobre cuál es el momento óptimo para determinar el efecto de la carga térmica. Como se ha mencionado en la introducción, en el estudio de Fuerst-Waltl et al. (2006) han identificado que la maduración del epidídimo (ME) 1-11 días antes de la fecha de colecta (FC), y el período de espermatogénesis (SG) 12-65 días antes de la FC como etapas críticas para medir el efecto del EC. En cambio Al-Kanaan et al. (2015) han empleado el promedio del THI de los cuatro intervalos: I (1-11 días antes de la FC); II (12-28 días antes de la FC); III = 22-28 días, e intervalo IV = 29-35 días antes de la FC, indicando que la espermatogénesis ha sido más sensible a valores de THI > 60.

En este estudio se ha planteado como objetivo, estudiar la respuesta fenotípica de los parámetros seminales frente a dos niveles de HR y THI, el componente genético individual de la tolerancia al EC en tres períodos distintos, así como explorar la existencia de interacción genotipo-ambiente (G*A) en las características seminales.

DATOS METEOROLÓGICOS

Además de los datos de producción y calidad seminal para esta parte del estudio se ha utilizado una base de datos meteorológicos con 14.376 registros diarios de temperatura (T) y humedad relativa (HR) mínima, máxima y media, perteneciente a la estación meteorológica de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET) más cercana al centro de IA (6,5 km). El archivo de datos de T contenía valores mínimos, máximos y medios diarios; mientras que el de HR los registros diarios a las 00:00, 07:00, 13:00, y 18:00 h, así como también valores máximo y mínimo, el valor medio para ambas variables ha sido calculado. La estructura de las bases de datos de T y HR se presenta en las tabla 3.1

Tabla 3.1. Base de datos de las variables meteorológicas

Campo	Descripción
Indicativo	Indicativo climatológico
Nombre	Nombre de la estación meteorológica (EM)
Nombre prov.	Nombre de la provincia en la que se ubica la EM
Longitud	Longitud geográfica de la EM
Latitud	Latitud geográfica de la EM
Tmáx	Temperatura máxima en decimas de grados Celsius
Tmin	Temperatura mínima en decimas de grados Celsius
Tmed	Temperatura media en decimas de grados Celsius
HU00	Humedad relativa registrada a las 00.00 horas
HU07	Humedad relativa registrada a las 07.00 horas
HU13	Humedad relativa registrada a las 13.00 horas
HU18	Humedad relativa registrada a las 18.00 horas
HUMAX	Humedad relativa máxima registrada
HUMIN	Humedad relativa mínima registrada

Las bases de datos de producción y calidad seminal y de genealogía utilizadas en los estudios del Capítulo 2, se han empleado en este estudio junto con los datos meteorológicos para medir la respuesta al gradiente de las variables meteorológicas. Dado que todas las fechas de colecta de semen tenían información meteorológica, la base de datos conjunta de datos seminales y variables meteorológicas incluía la misma información de producción y calidad seminal que la utilizada en el Capítulo 2, cuyos resultados son útiles como base de referencia para los obtenidos en este capítulo.

MÉTODOS

El estudio se ha realizado en tres etapas. En la primera se han definido los índices de THI combinando T y HR máximos, mínimos y medios, respectivamente además de definir los tres momentos en los que se ha considerado que el efecto de la carga térmica podría ser mayor. En la segunda, se ha definido un modelo para determinar los efectos medios de las cargas térmicas sobre las características seminales utilizando las covariables climáticas, a partir de este modelo se ha empleado un modelo de regresión aleatoria (MRA).

Se han utilizado tres variables para estudiar el impacto de la meteorología sobre la producción y calidad seminal, la T, la HR y el THI. Este último se ha obtenido mediante la fórmula del NRC (1971), definida de la siguiente manera:

$$THI = (1,8 * T^{\circ}C + 32) - [(0,55 - 0,0055 * HR\%) * (1,8 * T^{\circ}C - 26)]$$

Donde T°C= es la temperatura del bulbo seco, y HR%= es la humedad relativa.

Se han utilizado varias combinaciones atendiendo a la T y HR máximas, mínimas y medias diarias que caracterizaba el momento considerado. Así se han definido tres momentos para modelizar el efecto de las cargas térmicas sobre las características climáticas, el día de control (DC), el periodo demaduración espermática ME (10-15 antes del DC) el periodo de espermatogénesis SG (60-70 días antes del DC).

El análisis de respuesta media al gradiente de las variables meteorológicas se ha llevado a cabo usando el siguiente modelo:

$$y_{ijklmn} = AC_i + EC_j + NE_k + SV_l + \sum_{r=0}^s b_r \phi_r(x) + a_m + pe_n + e_{ijklmn} \quad [3.1]$$

, donde y_{ijklmn} , EC_j , NE_k , SV_l , a_n y pe_m son los mismos efectos que se muestran en la ecuación 2.1., es decir, edad a la colecta, número de colecta y sistema de valoración de la calidad seminal, respectivamente. En este estudio, el efecto fecha de colecta, que fue considerado en el estudio anterior para tener en cuenta cambios de manejo y otros efectos de ambiente que se modifican con el tiempo fue sustituido por el año de colecta (AC_i) para evitar la colinealidad que generaría ese efecto con el efecto de la variable meteorológica en esa fecha, que es, en este caso la variable de interés. Además, se ha añadido la regresión polinómica sobre la variable meteorológica, definida por los coeficientes de regresión b_r y las covariables de los polinomios de Legendre, $\phi_r(x)$, donde x es la variable meteorológica en el día de la colecta reescalada en el intervalo [-1,1].

En esta parte del estudio se exploró el uso del valor máximo, medio o mínimo diario de las tres variables meteorológicas, T, HR y THI, y de dos grados del polinomio (cuadrático y cúbico), dando lugar a un total de 18 análisis para cada carácter.

En una segunda fase del estudio, donde el objetivo era analizar el componente genético de la respuesta individual a la meteorología, se ha utilizado un modelo de regresión aleatoria (MRA) en el que se limitó el rango de variables meteorológicas a las que mostraron mejor ajuste,

según el criterio de Akaike (AIC), en los análisis bajo el modelo 3.1. La ecuación del modelo empleado ha sido:

$$y_{ijklmn} = FC_i + EC_j + NE_k + SV_1 + \sum_{r=0}^S b_r \phi_r(x) + \sum_{r=0}^S \alpha_{rn} \phi_r(x) + \sum_{r=0}^S \omega_{rn} \phi_r(x) + e_{ijklmn} \quad [3.2]$$

, que es la ecuación [3.1]. Esta respuesta individual se define a través de los polinomios de regresión aleatoria, $\sum_{r=0}^S \alpha_{rn} \phi_r(x)$ y $\sum_{r=0}^S \omega_{rn} \phi_r(x)$, donde α_{rn} y ω_{rn} representan el valor genético y de ambiente permanente asociado a los coeficientes de regresión del polinomio, respectivamente. Nótese que en el caso del MRA, donde el objetivo es la estima de los efectos aleatorios, se ha vuelto a usar el efecto FC para tener en cuenta cambios ambientales ligados al momento de la colecta. Dado que ahora el efecto medio de respuesta a la carga térmica no es nuestro objetivo, se ha preferido usar el efecto FC frente al efecto AC porque se considera que ese efecto corrige mejor el ruido ambiental.

La notación matricial del modelo empleado es:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}\mathbf{a} + \mathbf{W}\mathbf{pe} + \mathbf{e}$$

Donde \mathbf{y} = vector de observaciones del carácter seminal; $\boldsymbol{\beta}$ = vector de efectos fijos; \mathbf{a} = vector de los efectos genéticos aditivos para los coeficientes de regresión aleatoria para la HR o THI utilizando polinomios Legendre; \mathbf{pe} = vector de los efectos ambientales permanentes; \mathbf{e} = vector de los efectos residuales; y \mathbf{X} , \mathbf{Z} , y \mathbf{W} las matrices de incidencia asociadas, que en el caso de \mathbf{Z} y \mathbf{W} están compuestas por las covariables de los polinomios de Legendre evaluadas para los valores reescalados de la variable meteorológica en la ME y la SG.

La estructura de (co)varianza de los efectos aleatorios se ha definido como:

$$\text{var} \begin{bmatrix} \mathbf{a} \\ \mathbf{pe} \\ \mathbf{e} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{A} \otimes \mathbf{G}_o & \mathbf{0} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{Iep} \otimes \mathbf{P}_o & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{In} \otimes \mathbf{R} \end{bmatrix}$$

Donde \mathbf{G}_o = matriz de (co)varianza genética aditiva de coeficientes de los regresión aleatoria; \mathbf{A} = matriz de relaciones genéticas aditivas considerando el parentesco de la totalidad de animales en el pedigrí; \mathbf{P}_o = matriz de varianza ambiental permanente de los coeficientes de regresión aleatoria; \mathbf{Iep} = matriz identidad para los 828 toros con datos; \mathbf{R} =matriz de varianzas residuales; \mathbf{In} = matriz identidad para las n observaciones; y \otimes = producto de Kronecker.

La estimación de los parámetros del modelo se ha llevado a cabo mediante con el software remlf90 (Misztal et al. 2015), a través la metodología de máxima verosimilitud restringida (REML).

Una vez obtenidas las estimas de componentes de varianza y de los coeficientes de regresión individuales, la estima del valor del componente genético de la respuesta individual a lo largo del gradiente de las variables meteorológicas se calculó mediante la siguiente expresión:

$$\widehat{g}_{kx} = \mathbf{z}'(x)\widehat{\mathbf{a}}_k$$

Donde \widehat{g}_{kx} representa la estima del valor genético aditivo del carácter para el toro k en el valor x de la variable meteorológica, $\mathbf{z}'(x)$ es el vector de covariables del polinomio de Legendre para el valor x y $\widehat{\mathbf{a}}_k$ es el vector de estimas de los coeficientes de regresión aleatoria del toro k para el componente genético.

El cálculo de parámetros genéticos, heredabilidades y correlaciones genéticas a lo largo del gradiente de cada variable meteorológica, se llevó a cabo usando las estimas de la matriz \mathbf{G}_0 , que representa la matriz de (co)varianzas de los coeficientes de regresión mediante la siguiente expresión:

$$\widehat{G}_{xixj} = \mathbf{z}'(x)\widehat{\mathbf{G}}_0\mathbf{z}(x)$$

, donde \widehat{G}_{xixj} es la estima de la (co)varianza de los valores genéticos bajo los valores x y x' de la variable meteorológica.

El valor de la correlación genética entre dos cargas térmicas servirá para medir el grado de interacción genotipo-ambiente para cada uno de los dos caracteres.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 3.2 se presenta un resumen estadístico de las variables meteorológicas de T, HR, THI utilizadas en la primera fase del estudio.

Tabla 3.2. Estadísticos descriptivos del total de datos meteorológicos

	Media	Q1 ¹	Mediana	[Min-Max] ¹	Q3 ¹	D.T ¹
Tmin²	10,03	6,4	10,2	-6,6-25	14	5,03
Tmax²	19,6	15	19,6	-0,2-41,9	24,1	6,15
Tmed²	14,8	10,8	14,9	-2,2-32,1	18,9	5,42
HRmin²	55,1	45	54	5-100	66	15,2
HRmax²	89,5	87	92	27-100	96	9,7
HRmed²	73,2	66,7	74	23-100	81	11
THImin²	50,88	39	51	23-73	58	8,68
THImax²	64,88	54	71	39-91	66	7,88
THImed²	58,83	48	81	36-81	71	8,06

¹Q1: primer cuartil; [Min-Max]: valor mínimo y máximo; Q3: tercer cuartil; D.T: desviación típica. ²Tmin: temperatura mínima (°C); Tmax: temperatura máxima (°C); Tmed: temperatura media (°C); HRmin: humedad relativa mínima (%); HRmax: humedad relativa máxima (%); HRmed: humedad relativa media; THImin: THI mínimo; THImax: THI máximo.

A los fines del presente estudio se han eliminado los valores extremos de HRmed y THImed quedando como rangos definitivos 45-85% en el caso de la HR y 40-74 en el caso del THI.

En la Tabla 3.3 se presentan los valores de AIC para el modelo base y los modelos incluyendo la variables climáticas del DC, ME y SG y las T, HR y THI medios. Aunque los valores han sido muy similares, en general la inclusión de las variables climáticas en el modelo supuso una mejora de la bondad de ajuste de estos excepto para de la HR y DC utilizando el polinomio de orden 3.

En la Tabla 3.3 se presentan los valores de AIC para el modelo base y los modelos incluyendo la variables climáticas HR y THI medios del DC, ME y SG. Por simplicidad no se muestran los valores de AIC para los modelos con valores de carga térmica máxima y mínima porque resultaron en un peor ajuste de los datos que los valores medios diarios de la variable meteorológica en cuestión. Igualmente, no se muestran los valores para T porque el ajuste fue prácticamente idéntico o algo inferior al proporcionado por THI. En general, la inclusión de las variables climáticas en el modelo supuso una mejora de la bondad de ajuste de estos excepto para de la HR y DC utilizando el polinomio de orden 3 aunque los valores han sido similares.

Tabla 3.3. Valores de AIC para el modelo base y los modelos con polinomios Legendre de orden 2 y de orden 3 del THI y la HR medias.

Caracteres ³ Regresiones ¹ / modelos ²	Vol		Conc		MM		MI		MPC	
	Cuad	Cubic								
MB	227452		840724		113893		438108		383783	
THI_DC	227144	227124	840362	840367	113611	113563	437793	437760	382779	382532
HR_DC	227442	227456	840683	840687	113895	113903	438104	438115	383347	383288
THI_ME	227123	227070	840307	840277	113532	113507	437772	437751	382839	382650
HR_ME	227390	227400	840609	840616	113787	113794	438074	438079	383430	383304
THI_SG	227166	227165	840283	840263	113586	113546	437762	437720	382917	382818
HR_SG	227348	227330	840605	840582	113672	113640	437932	437904	383277	383186

¹Cuad: Cuadrática; Cubic: Cubica. ²MB: modelo base; THI o HR_DC: modelo que tiene en cuenta el THI o la HR medios el día de la colecta; THI o HR_ME: modelo que tiene en cuenta el THI o HR medios durante la maduración del epidídimo; THI o HR_SG: modelo que tiene en cuenta el THI o HR medios durante la espermatogénesis. ³Vol: Volumen seminal; Conc: concentración seminal; MM: motilidad masal; MI: motilidad individual; MPC: motilidad post-congelación

La evaluación del modelo para la especificación de la regresión se ha basado en los valores AIC de los modelos con Polinomios Legendre de orden 2 y de orden 3 en ejecuciones consecutivas. A partir de estudios en modelización similares al presente estudio (Al-Kanaan et al., 2015), a experiencias anteriores de simulación del THI (Yin et al., 2014), y basándonos en los valores del AIC (criterio de información de Akaike) más bajos, se han seleccionado los PL de orden 3 para el modelado final de las regresiones de la HR y el THI. En este estudio los modelos con PL de grado 3 han mostrado mejor bondad de ajuste en la mayoría de los casos.

Componente Genético de Respuesta Individual a las Variables Meteorológicas

Varianza genética y heredabilidades a lo largo del gradiente de las variables meteorológicas

A partir del enfoque MRA, en el que es posible estudiar el componente genético y del ambiente permanente, se ha evaluado la varianza genética (VG) de los caracteres seminales a lo largo de la escala de HR y THI así como los de la varianza permanente. Los resultados de la varianza ambiental permanente (VAP) se muestran en materiales adicionales. Como puede observarse en la Figura 3.3 las estimas de VG en todos los caracteres y en todos los períodos, en HR en un rango entre 60 y 70%, se han encontrado en torno al valor estimado por el MB (línea roja). También se puede apreciar que las estimas de VA en el DC, son en general las menos afectadas a lo largo del gradiente de HR. Por el contrario, las estimas de varianza relativas a los periodos ME y SG, sufren una mayor variación. Durante el DC los valores de VG tienden a aumentar en el VOL y la CONC conforme incrementa la HR, mientras que no varían en los parámetros de calidad per se (MM, MI y MPC). Durante la ME se ha observado lo contrario, disminuyendo de forma importante con el aumento de la HR. La MM y MI han registrado

aumentos de la VG en la ME conforme la HR aumentaba, y disminuciones de la varianza en la SG conforme la HR disminuía, mientras que para la MPC, ha ocurrido lo opuesto. Se ha observado que dicha curva ha variado conjuntamente con la de ME en los tres parámetros de motilidad (con diferencias en la MM a valores altos de HR). Respecto a la SG, las curvas de la MM y la MI han sido casi idénticas, con un marcado descenso a partir de un valor de 55% de HR, mientras que en la MPC la varianza genética ha mostrado pequeñas variaciones.

Respuesta media de la población a la HR y THI

Se ha analizado la variación de los parámetros seminales en función del nivel de THI y HR en cuenta los tres períodos críticos en estudio (DC, ME, y SG). En la Figura 3.1 se presentan la variación de las características seminales según la HR para los tres períodos críticos estudiados.

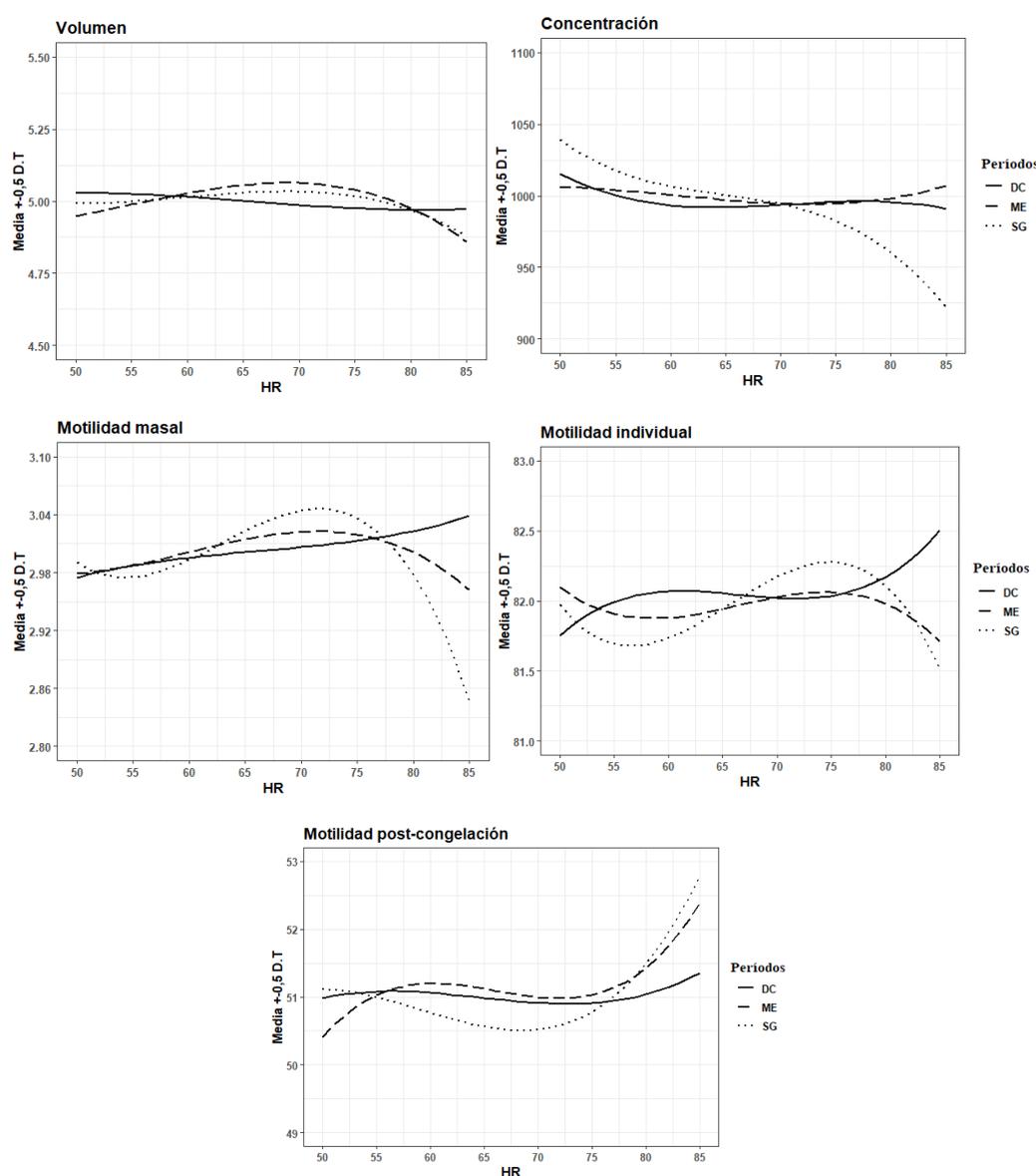


Figura 3.1. Variación del volumen, concentración, motilidad masal, motilidad individual y motilidad post-congelación en función de la HR media. Períodos: DC=día de colecta; ME: maduración en el epidídimo; SG= espermatogénesis.

En general no se han observado importantes variaciones de los caracteres seminales a lo largo del gradiente de HR. El parámetro seminal que ha mostrado cierta disminución con la HR ha sido la CONC medida durante la SG, bajando de 1100 a 900 millones de espermatozoides/ml, mientras que el parámetro que menos se ha visto afectado ha sido el VOL, disminuyendo apenas un 2%, cayendo de 84,7 a 83,3%. En la mayoría de los casos los registros seminales durante el DC y ME han variado de forma similar, quizás debido a la cercanía temporal entre ambos períodos (ME= 10-15 días antes del DC, versus 60-70 días antes en SG). Las medidas de los parámetros seminales al DC han mostrado apenas variaciones a lo largo de la escala de la HR en todos los caracteres seminales, mientras que la etapa que con mayores variaciones ha sido la SG, sobre todo en la MM y MI. Estos resultados coinciden con lo indicado por Vogler, et al. (1993), a partir de un trabajo de exposición al EC escrotal en condiciones experimentales. Dichos autores han señalado un marcado descenso de la motilidad y una mayor incidencia de anomalías espermáticas a partir del día 12 (en este caso correspondiente a la ME), hasta las últimas semanas de tratamiento (abarcando la SG), remarcando que el período más susceptible a los efectos de la carga térmica ha sido la SG.

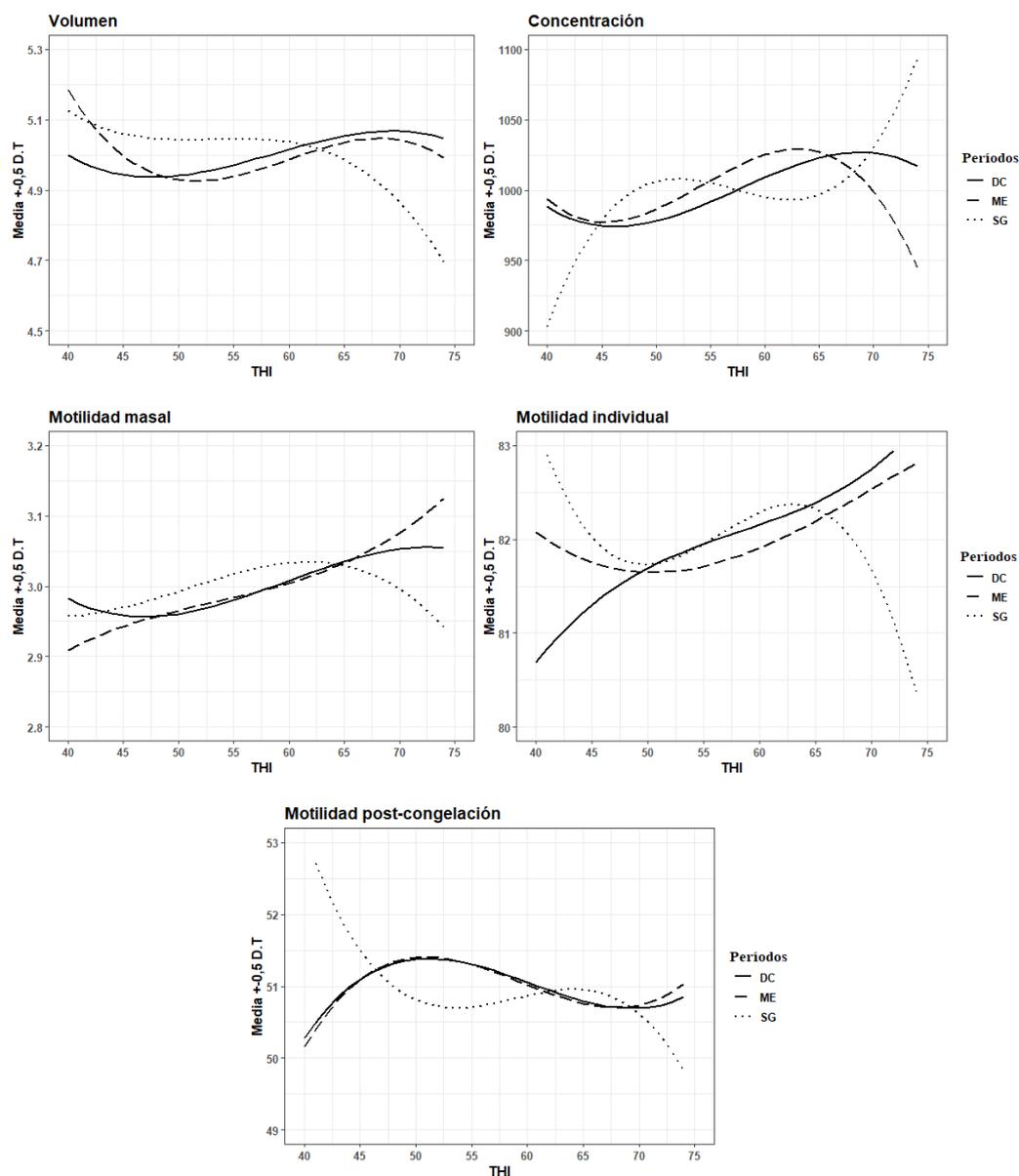


Figura 3.2. Variación del volumen, la concentración, motilidad masal, motilidad individual y motilidad post-congelación en función del THI medio. Períodos: DC=día de colecta; ME: maduración en el epidídimo; SG= espermatogénesis.

De manera similar a la HR, en la Figura 3.3 se presentan la variación de las características espermáticas en función de las variaciones del THI medios en los periodos estudiados. Los caracteres seminales se han comportado de forma distinta frente al THI, si se compara con lo observado en la HR. Exceptuando a la CONC, el resto de los parámetros seminales han disminuido a medida que el THI aumentaba durante la SG, lo que reafirmaría que los procesos espermatogénicos son más susceptibles a la carga térmica (Vogler, et al., 1993). La CONC ha sido el parámetro que ha mayores variaciones ha mostrado a lo largo de la escala de THI, aumentando de 900 a 1100 millones de espermatozoides/ml a partir de un THI>60. El VOL ha registrado pocas variaciones con el aumento de THI durante en el DC y la EM, mientras que ha descendido ligeramente a partir de un THI>60. En las tres motilidades se han observado variaciones similares en los 3 periodos, el marcado descenso de dichos parámetros ante el

aumento del THI durante la SG puede estar relacionado con la mayor incidencia de anomalías y muerte espermática, y la menor viabilidad (Sabés-Alsina et al. 2019). Si bien no se trata de la misma variable meteorológica, Fuerst-Waltl et al. (2006) en un trabajo realizado en ganado doble propósito, han observado efectos indeseados de las elevadas de las altas T durante la ME (1 a 11 días antes del DC), y durante la SG (12 a 65 días antes del DC).

Valores de THI medio elevados 1-11 y de 29-35 días antes del DC (correspondientes a la maduración del epidídimo y la espermatogénesis), han sido indicados por han sido indicados por Al-Kanaan et al. (2015) como perjudiciales, lo que supone que el EC la ME y SG afecta negativamente a la cantidad y calidad del semen. Los resultados encontrados en este estudio coinciden parcialmente con lo indicado por dichos autores, quienes han demostrado que no existían grandes variaciones de los parámetros seminales en un $THI < 60$, este valor ha sido indicado como umbral crítico para ganado lechero criado en el norte de Europa.

Componente Genético de Respuesta Individual a las Variables Meteorológicas

Varianza genética y heredabilidades a lo largo del gradiente de las variables meteorológicas

A partir del enfoque MRA, en el que es posible estudiar el componente genético y del ambiente permanente, se ha evaluado la varianza genética (VG) de los caracteres seminales a lo largo de la escala de HR y THI así como los de la varianza permanente. Los resultados de la varianza ambiental permanente (VAP) se muestran en materiales adicionales. Como puede observarse en la Figura 3.3 las estimas de VG en todos los caracteres y en todos los períodos, en HR en un rango entre 60 y 70%, se han encontrado en torno al valor estimado por el MB (línea roja). También se puede apreciar que las estimas de VA en el DC, son en general las menos afectadas a lo largo del gradiente de HR. Por el contrario, las estimas de varianza relativas a los períodos ME y SG, sufren una mayor variación. Durante el DC los valores de VG tienden a aumentar en el VOL y la CONC conforme incrementa la HR, mientras que no varían en los parámetros de calidad per se (MM, MI y MPC). Durante la ME se ha observado lo contrario, disminuyendo de forma importante con el aumento de la HR. La MM y MI han registrado aumentos de la VG en la ME conforme la HR aumentaba, y disminuciones de la varianza en la SG conforme la HR disminuía, mientras que para la MPC, ha ocurrido lo opuesto. Se ha observado que dicha curva ha variado conjuntamente con la de ME en los tres parámetros de motilidad (con diferencias en la MM a valores altos de HR). Respecto a la SG, las curvas de la MM y la MI han sido casi idénticas, con un marcado descenso a partir de un valor de 55% de HR, mientras que en la MPC la varianza genética ha mostrado pequeñas variaciones.

El comportamiento de la varianza genética frente al THI (Fig. 3.4) ha sido completamente diferente a lo observado en la HR. Los valores de VG en todos los caracteres y en todos los períodos han oscilado por encima y por debajo de la estima de VG del MB. En el VOL y la MPC durante la DC se han presentado grandes variaciones de la VG, mostrando los valores mayores en el extremo más alto de la escala de THI, en el resto de los caracteres se han observado ligeras variaciones, con tendencia a la baja a medida que ha aumentado el THI. ME y la SG, a excepción del VOL, en los restantes caracteres los valores de VG han registrado variaciones similares a lo largo de la escala de THI, con algunas diferencias en los valores extremos.

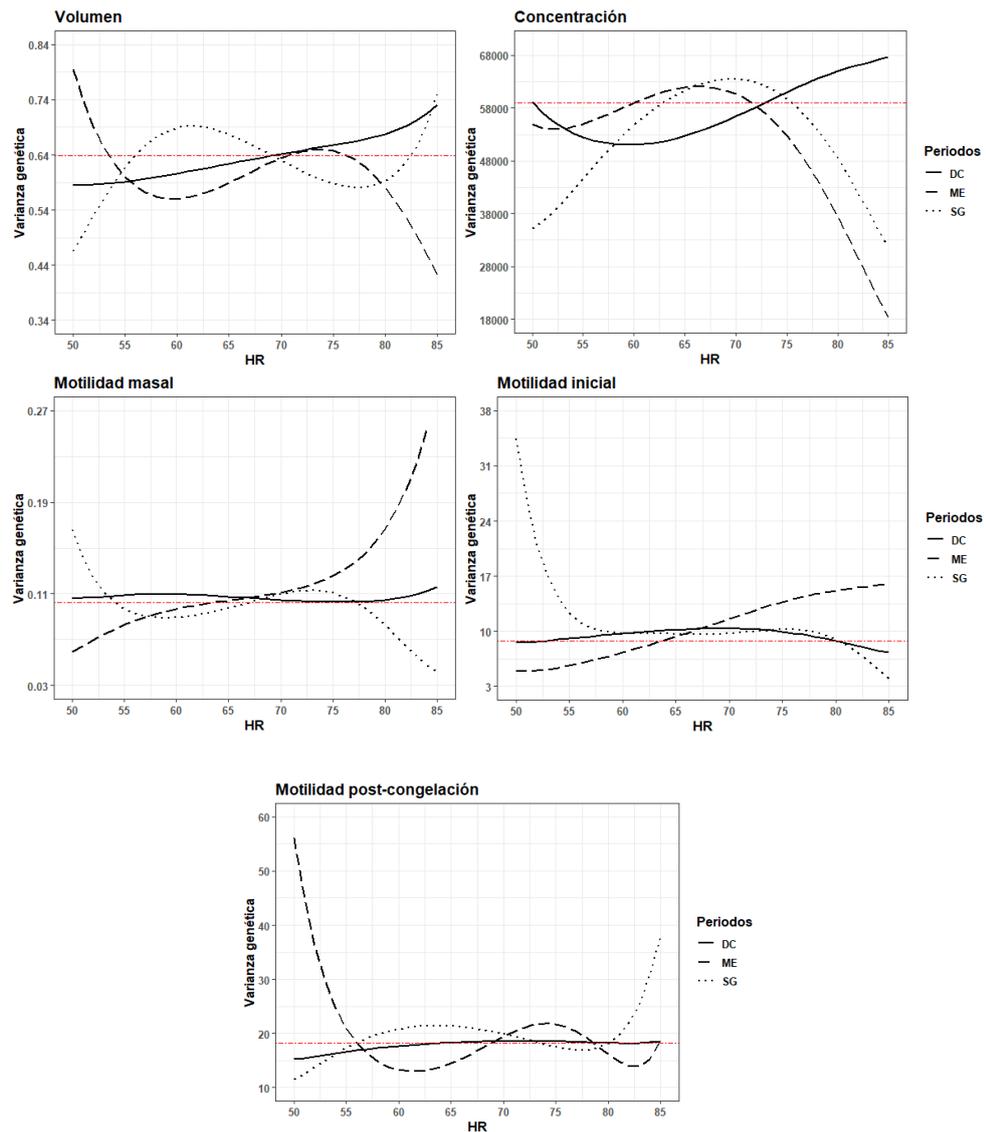


Figura 3.3. Varianza genética del volumen, concentración, motilidad masal, motilidad individual y motilidad post-congelación en función de la HR media para cada uno de los periodos estudiados: DC=día de colecta; ME: maduración en el epidídimo; SG=espermatogénesis. La línea roja horizontal indica la varianza genética estimada por modelo base.

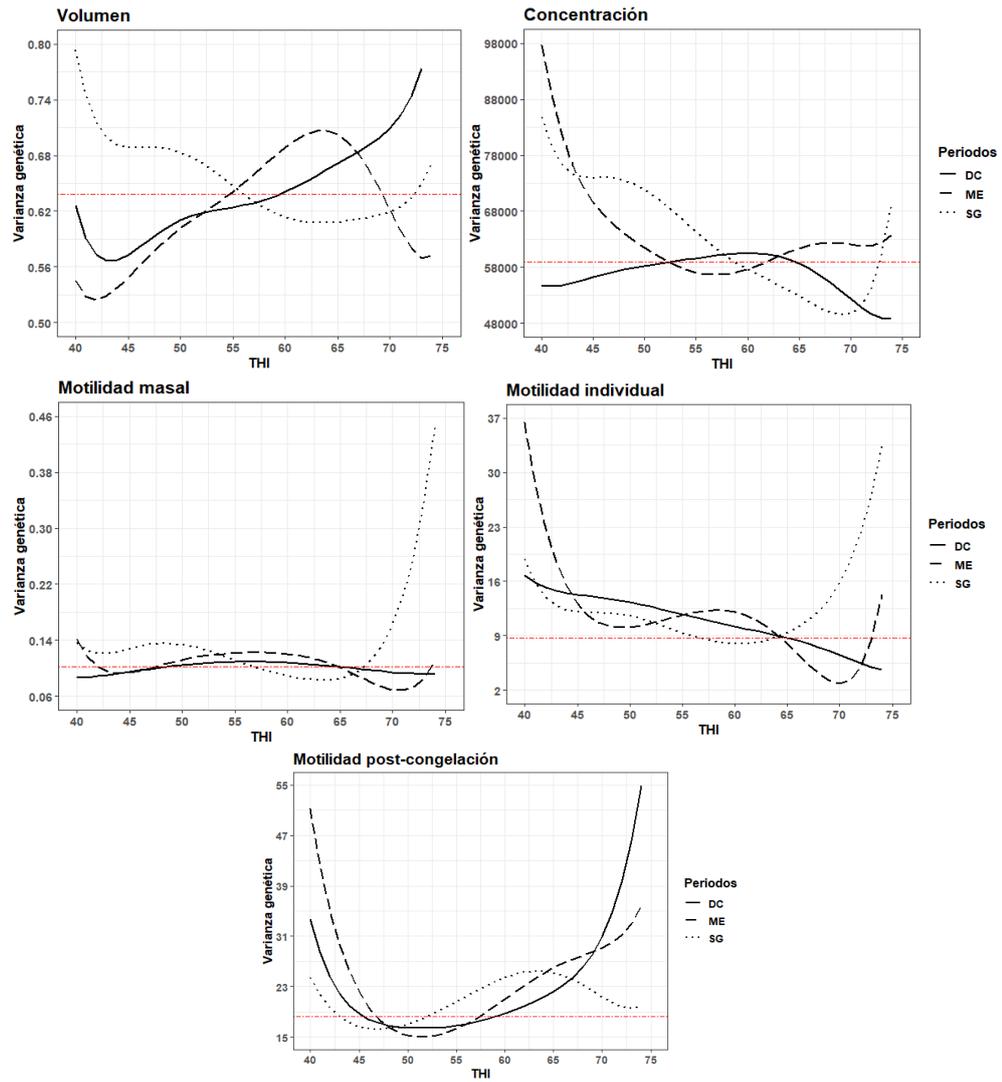


Figura 3.4. Varianza genética del volumen, concentración, motilidad masal, motilidad individual y motilidad post-congelación en función del THI medio para cada uno de los periodos estudiados: DC=día de colecta; ME: maduración en el epidídimo; SG=espermatogénesis.

La estima de la heredabilidad (h^2) de los caracteres seminales en función de la HR (Fig. 3.5) ha variado de manera similar que la varianza genética en la mayoría de los caracteres excepto la MPC. Para el VOL, MM y MI las estimas de h^2 en DC no han mostrado grandes variaciones respecto al valor obtenido por a partir del modelo base (MB). Las estimas de h^2 en la ME ha mostrado disminuciones en los extremos de la escala de HR para el VOL y la CONC, mientras que para la MI y MPC, han aumentado cuando lo hacía la HR. Por su parte la curva de h^2 en la SG se ha comportado de manera diferente en todos los caracteres y en todos los períodos en estudio, destacando las estimas mas elevadas en el extremo inferior de la escala de HR, alcanzando valores de 0,36 en el caso de la MM y 0,19 en la MI.

En la Fig. 3.6 se puede observar que la h^2 estimada ha mostrado variaciones acordes a la varianza genética . Las estimas obtenidas en el DC para el VOL, la MM y la MI, y en la ME para el VOL y la CONC han registrado una tendencia similar a lo reportado anteriormente en la HR. Las curvas correspondientes al DC y a la ME han variado conjuntamente en todos los caracteres, a lo largo de la escala de THI, con diferencias en los extremos para el VOL y la MPC. Respecto a la curva de la SG la h^2 no han mostrado grandes variaciones en el VOL y la MI, pero si lo han hecho en la MPC y MM. En este último parámetro, se ha registrado la estima de mayor valor (0,46) en el extremo superior de la escala de THI.

Las estimas de parámetros genéticos obtenidas en el presente estudio coinciden con lo reportado anteriormente por coincidiendo con los resultados obtenidos por Al-Kanaan et al. (2015) y Gredler et al. (2007). Estos valores elevados que coinciden con niveles altos de HR o THI, podrían atribuirse a los artefactos de la estructura de los polinomios elegidos para los coeficientes de regresión aleatoria en el modelo. Por esta razón Al-Kanaan et al. (2015); Carabaño et al. (2007) y (Yin et al. 2014), a partir de trabajando con datos reales y simulaciones, han señalado que las estimaciones de los parámetros genéticos del RRM al inicio y al final de la escala deben interpretarse con cautela.

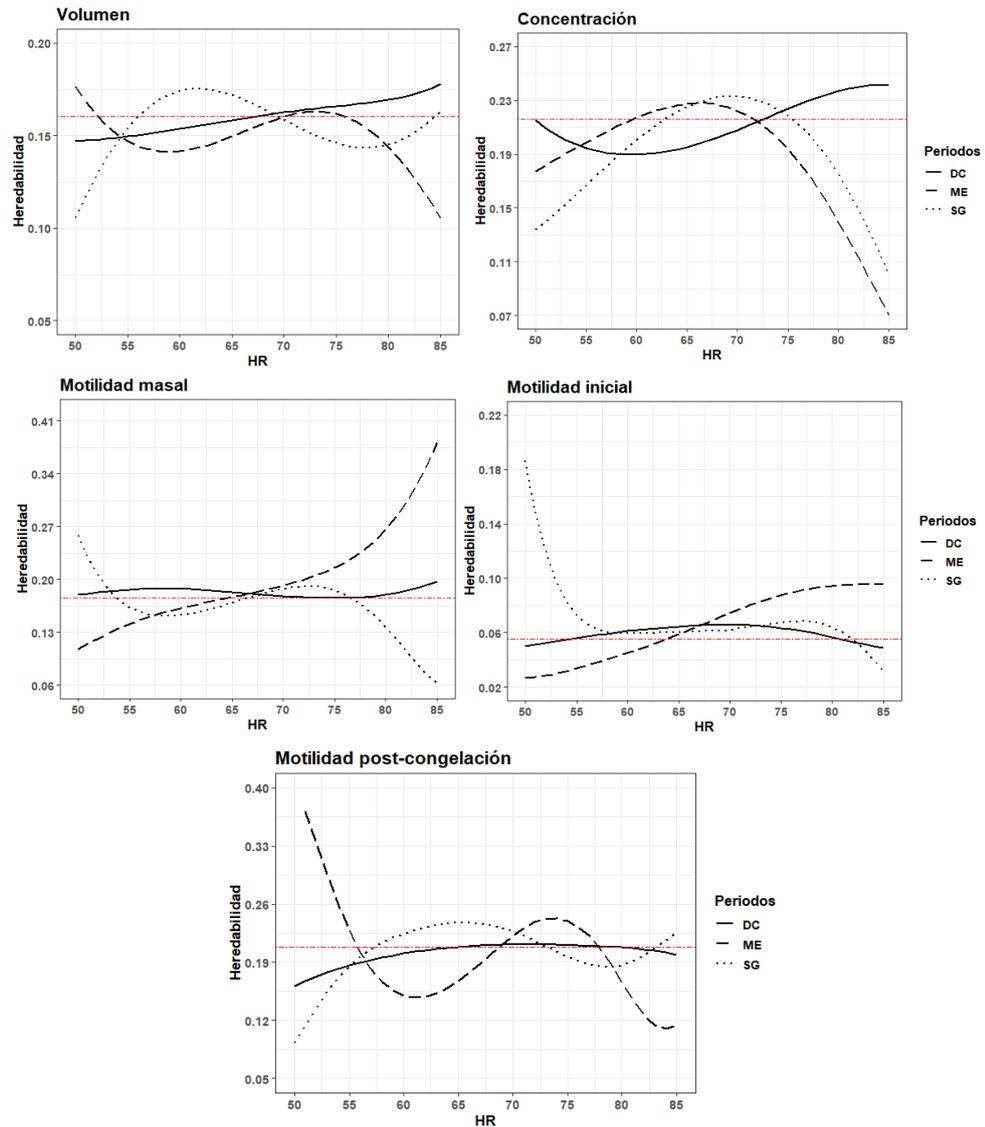


Figura 3.5. Heredabilidad del volumen, concentración, motilidad masal, motilidad individual y motilidad post-congelación en función del HR media para cada uno de los periodos estudiados: DC=día de colecta; ME: maduración en el epidídimo; SG=espermatogénesis. La línea horizontal de color rojo indica el valor estimado de la heredabilidad a partir del modelo base (MB).

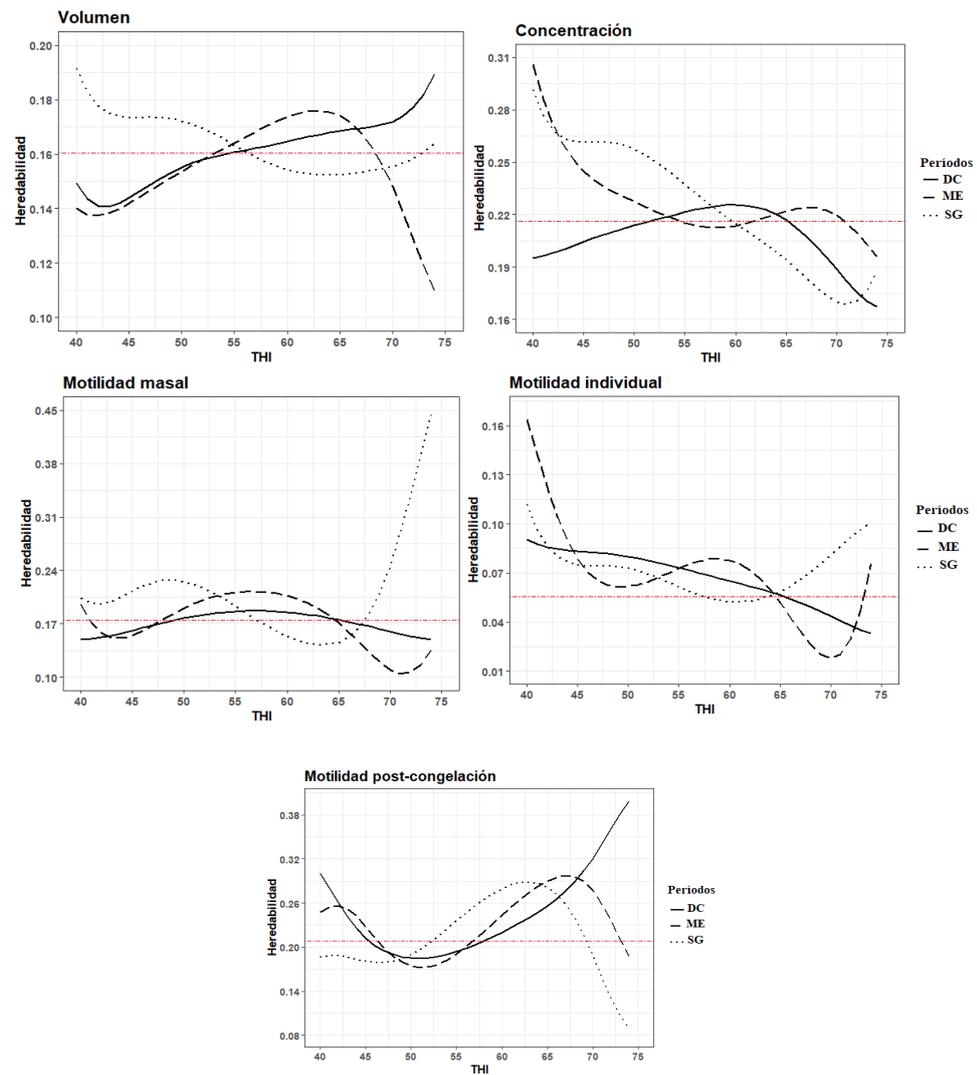


Figura 3.6. Heredabilidad del volumen, concentración, motilidad masal, motilidad individual y motilidad post-congelación en función del THI medio para cada uno de los periodos estudiados: DC=día de colecta; ME: maduración en el epidídimo; SG= espermatogénesis. La línea horizontal de color rojo indica el valor estimado de la heredabilidad a partir del modelo base (MB).

Correlaciones Genéticas entre medidas de los caracteres seminales a lo largo de la escala de carga térmica. Interacción genotipo-ambiente.

Se ha estudiado la correlación genética (r_g) entre medidas de los caracteres seminales en estudio en dos niveles de HR y THI, bajo (43% y 38) y alto (83% y 72) respectivamente. Según Robertson (1959) estimas de r_g en los mismos caracteres entre diferentes ambientes por debajo de 0,8 indica interacción genotipo-ambiente (G*A). En el caso del DC la r_g estimada en los dos niveles de HR (Figura 3.7) se han encontrado por encima de 0,8 para todos los caracteres seminales. Los períodos que mayores variaciones en las estimas de r_g han evidenciado han sido la ME y la SG para las tres motilidades. Durante la ME, a excepción de la MI y la MPC donde se han observado disminuciones de la correlación entre medidas a nivel bajo de HR a medida que la misma aumentaba, por el contrario, en la curva de nivel alto de HR la r_g ha aumentado con la HR. Por otra parte, en la SG las r_g entre medidas a nivel bajo de HR han alcanzado valores por debajo de 0,8 en todos los caracteres excepto la CONC. Estos resultados están en línea con lo estudiado respecto a las motilidades por Vogler et al (1993). Las estimas de las correlaciones genéticas entre medidas a los dos niveles de THI (Fig. 3.8) no han mostrado importantes diferencias respecto a lo observado en la HR. En el DC las estimas entre medidas de todos los parámetros seminales, en ningún momento han bajado por debajo de 0,8. Por otro lado las estimas de correlaciones han variado de forma similar en la ME y en la SG para las tres motilidades.

Variabilidad en las respuestas individuales a la carga térmica

En la Tabla 3.4 se presenta la distribución de las desviaciones individuales para cada uno de los caracteres estudiados en cada uno de los periodos a valores bajos (38 y 43%) y altos (72 y 83%) de THI y HR, respectivamente. Aunque como se ha visto, parece que los valores medios no reflejan una sensibilidad de los caracteres de producción y calidad seminales a las condiciones meteorológicas, así existe una variabilidad individual considerable para todos los caracteres, periodos y situación meteorológica. Estas diferencias parecen ser más marcadas para los periodos de SG y ME que para el día de control. Por otro lado, dependiendo del carácter y del período, la magnitud de las diferencias cambia en función de los niveles(bajo o alto) de THI y HR. Esto se observa particularmente para las motilidades en la SP y ME.

Tabla 3.4. Desviación individual de la distribución de la pendiente de los parámetros seminales en función al THI y HR medios en los tres períodos en estudio.

Períodos ³	DC		ME		SG		DC		ME		SG	
VARIABLES ¹ /CARACTERES ²	THI						HR					
VOL	Bajo	Alto	Bajo	Alto	Bajo	Alto	Bajo	Alto	Bajo	Alto	Bajo	Alto
1%	-0,5	-0,09	-0,56	-0,44	-0,25	-0,62	-0,13	-0,25	-0,25	-0,19	-0,46	-0,48
10%	-0,25	-0,03	-0,23	-0,19	-0,12	-0,29	-0,06	-0,09	-0,1	-0,08	-0,17	-0,23
90%	0,15	0,12	0,37	0,18	0,14	0,26	0,12	0,2	0,17	0,06	0,31	0,14
99%	0,42	0,22	0,8	0,39	0,31	0,58	0,23	0,4	0,39	0,14	0,65	0,36
CONC												
1%	-172,89	-104,12	-134	-172,41	-124,02	-139,41	-53,74	-87,42	-262,2	-329,34	-295,34	-215,43
10%	-72,32	-47,06	-60,91	-81,84	-61,89	-64,4	-23,53	-37,62	-108,61	-138,94	-122,93	-85,71
90%	70,08	43,38	50,14	85,64	55,94	46,06	18,19	38,84	140,09	97,04	153,88	77,34
99%	153,46	94,89	123,46	175,44	115,24	115,12	45,84	92,06	329,64	246,98	351,56	173,39
MM												
1%	-0,13	-0,17	-0,36	-0,47	-0,12	-0,16	-0,16	-0,07	-0,2	-0,28	-0,35	-0,29
10%	-0,05	-0,09	-0,14	-0,24	-0,06	-0,09	-0,08	-0,03	-0,1	-0,11	-0,16	-0,14
90%	0,09	0,06	0,19	0,18	0,06	0,08	0,06	0,04	0,08	0,17	0,16	0,13
99%	0,16	0,15	0,39	0,44	0,13	0,17	0,15	0,07	0,2	0,33	0,32	0,28
MI												
1%	-1,31	-1,87	-8,1	-5,66	-1,81	-3,38	-2,47	-1,09	-5,62	-1,34	-4,5	-3,45
10%	-0,6	-0,92	-3,02	-2,75	-0,92	-1,23	-0,91	-0,53	-1,78	-0,6	-1,79	-1,87
90%	0,45	0,98	2,84	3,04	1,16	1,03	0,8	0,57	2,02	0,46	1,83	1,8
99%	1,31	2,54	6,51	8,27	3,13	2,08	1,67	1,58	4,3	1,21	3,31	4,53
MPC												
1%	-2,22	-6,14	-2	-6,54	-4,56	-4,61	-1,89	-0,45	-1,4	-2,21	-4,43	-3,42
10%	-1,05	-1,88	-0,85	-2,19	-1,61	-2,29	-0,65	-0,19	-0,65	-0,85	-1,43	-1,67
90%	1,09	1,81	1,22	1,82	1,67	1,51	0,55	0,26	0,62	0,88	1,66	1,64
99%	3,47	3,69	3,65	3,83	3,45	4,43	1,15	0,69	1,43	1,79	3,23	5,01

¹THI: índice de temperatura y humedad (Bajo=38; Alto=72); HR: humedad relativa (Bajo=43%, Alto=83%); ²Vol: volumen seminal; Conc: concentración seminal; MM: motilidad masal; MI: motilidad individual; MPC: motilidad post-congelación. ³DC: día de colecta; ME: maduración del epidídimo; SG: espermatogénesis.

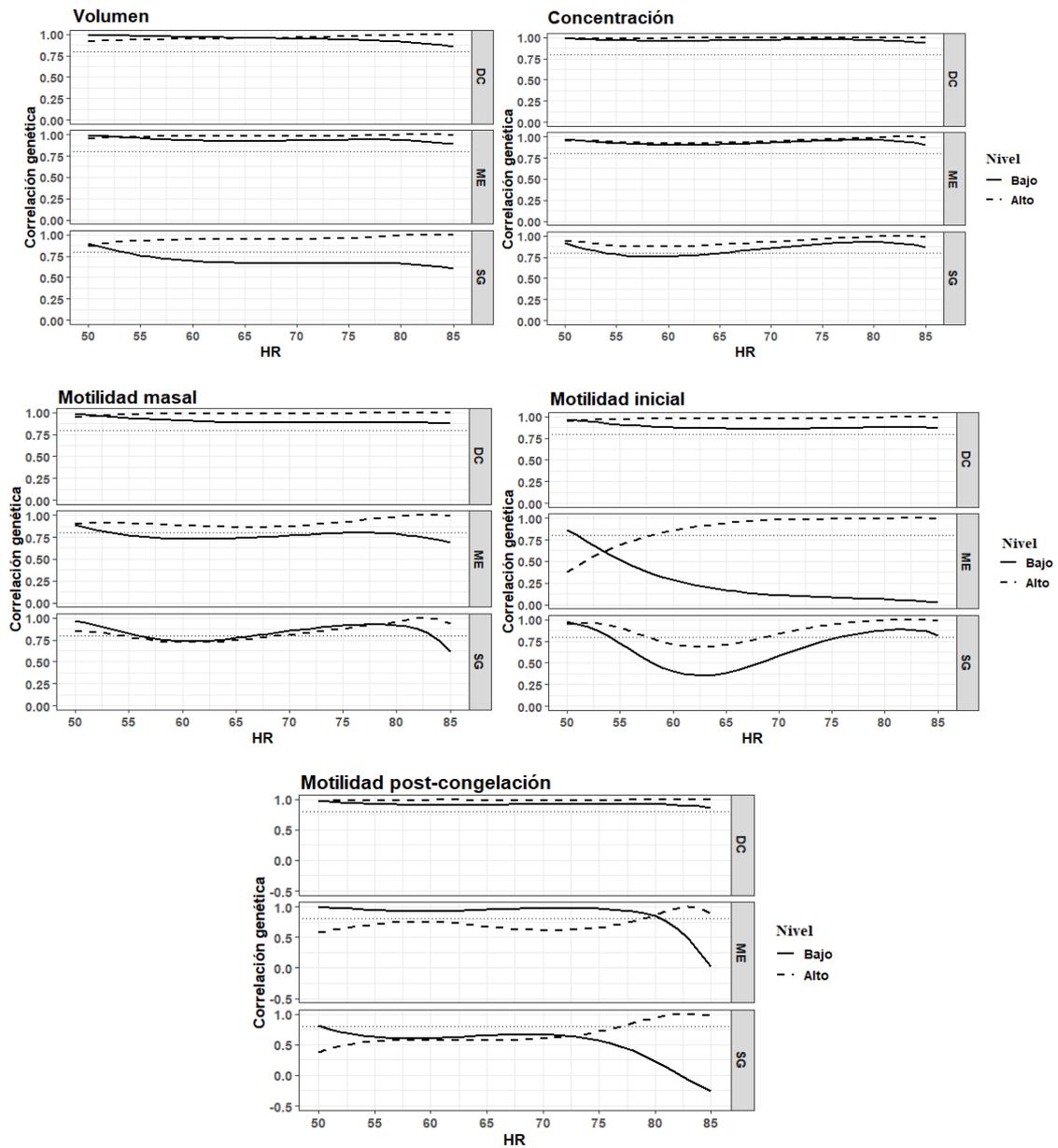


Figura 3.7. Correlación genética entre medidas del volumen, concentración, motilidad masal, motilidad individual y motilidad post-congelación a dos niveles de HR. Nivel: Bajo= 43%; Alto:=83%. La línea punteada de color gris indica correlación genética=0,8 (G*A).

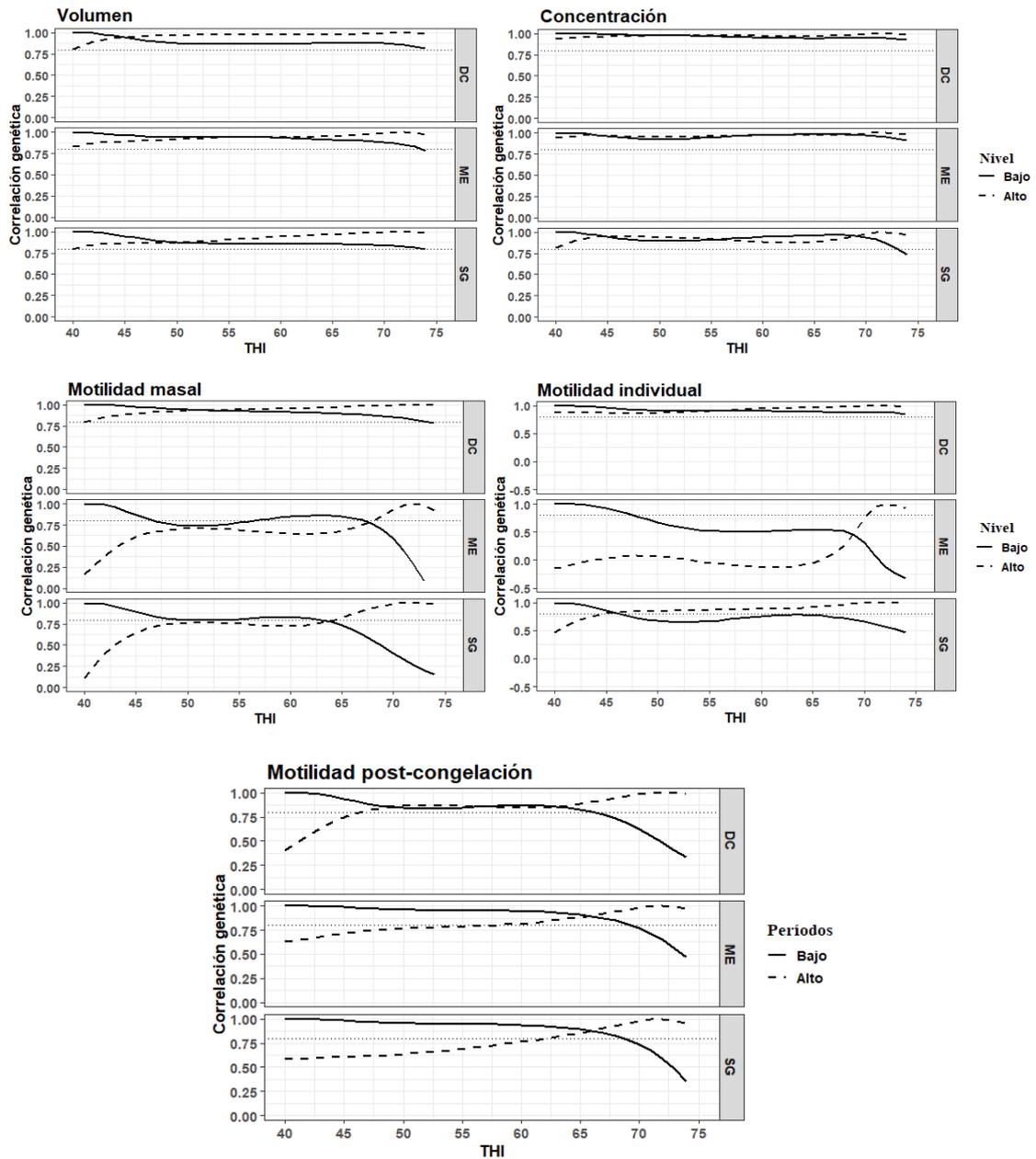


Figura 3.8. Correlación genética entre medidas del volumen, concentración, motilidad masal, motilidad individual y motilidad post-congelación a dos niveles de THI. Nivel: Bajo= 38%; Alto:=72%. La línea punteada de color gris indica correlación G^*A .

CONCLUSIONES

Las respuestas medias poblacionales para cada una de las características de producción y calidad seminal a los gradientes de HR y THI en cada uno de los periodos estudiados no parecen ser muy marcadas, siendo el periodo de SG el más sensible a los gradientes de HR y THI. No ocurre así cuando estudiamos las respuestas individuales cuya variabilidad es manifiesta tanto a valores bajos como altos de THI y HR como en cada uno de los periodos. Las estimas de varianza genética y heredabilidades para los periodos de SG y ME mostraron cambios relevantes para todos los caracteres a lo largo de los gradientes de HR y THI. Se han detectado interacción G*A en las características de motilidad tanto si el ambiente viene representado por la HR como por el THI y particularmente en los periodos de SG y ME.

Referencias bibliográficas

- Aguilar, I., Misztal, I., & Tsuruta, S. (2010). Short communication: Genetic trends of milk yield under heat stress for US Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 93(4), 1754–1758. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2756>
- Al-Kanaan, A., Brügemann, K., Yin, T., König, S. (2013). *Studies on heat stress in dairy cattle : Analysis of physiological traits of dairy*. September, 12–16.
- Al-Kanaan, A., König, S., & Brügemann, K. (2015). Effects of heat stress on semen characteristics of Holstein bulls estimated on a continuous phenotypic and genetic scale. *Livestock Science*, 177(September), 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.04.003>
- Barnabe, V. H., Nichi, M., Bols, P. E. J., & Zu, R. M. (2006). *Seasonal variation in semen quality in Bos indicus and Bos taurus bulls raised under tropical conditions*. 66, 822–828. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.056>
- Bernabucci, U., Biffani, S., Buggiotti, L., Vitali, A., Lacetera, N., & Nardone, A. (2014). The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 471–486. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6611>
- Berry, D. P., Eivers, B., Dunne, G., Eivers, B., & Dunne, G. (2018). Genetics of bull semen characteristics in a multi-breed cattle population. *Theriogenology*. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.10.006>
- Berry, D. P., Eivers, B., Dunne, G., & McParland, S. (2019). Genetics of bull semen characteristics in a multi-breed cattle population. *Theriogenology*, 123, 202–208. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.10.006>
- Bhakat, M., Mohanty, T. K., & Raina, V. S. (2011). *Effect of age and season on semen quality parameters in Sahiwal bulls*. 1161–1168. <https://doi.org/10.1007/s11250-011-9817-1>
- Bligh, J., & Johnson, K. G. (1973). Glossary of terms for thermal physiology. *Journal of Applied Physiology*, 35(6), 941–961. <https://doi.org/10.1152/jappl.1973.35.6.941>
- Boe-hansen, G. B., & Satake, N. (2019). An update on boar semen assessments by flow cytometry and CASA. *Theriogenology*, 137, 93–103. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.05.043>
- Bohmanova, J., Misztal, I., & Cole, J. B. (2007). Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *Journal of Dairy Science*, 90(4), 1947–1956. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-513>
- Brito, L. F. C., Silva, A. E. D. F., Rodrigues, L. H., Vieira, F. V., Deragon, L. A. G., & Kastelic, J. P. (2002a). Effect of age and genetic group on characteristics of the scrotum, testes and testicular vascular cones, and on sperm production and semen quality in AI bulls in Brazil. *Theriogenology*, 58(6), 1175–1186. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00921-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00921-4)
- Brito, L. F. C., Silva, A. E. D. F., Rodrigues, L. H., Vieira, F. V., Deragon, L. A. G., & Kastelic, J. P. (2002b). *Effects of environmental factors , age and genotype on sperm production and semen quality in Bos indicus and Bos taurus AI bulls in Brazil*. 70, 181–190.
- Brügemann, K., Gernand, E., Borstel, U. K. Von, & König, S. (2012). *Defining and evaluating heat stress thresholds in different dairy cow production systems* *Defining and evaluating heat stress thresholds in different dairy cow production systems*. October. <https://doi.org/10.5194/aab-55-13-2012>
- Burren, A., Joerg, H., Erbe, M., Gilmour, A. R., Witschi, U., & Schmitz, F. (2019). *Genetic*

- parameters for semen production traits in Swiss dairy bulls. June*, 1177–1181.
<https://doi.org/10.1111/rda.13492>
- Butler, M. L., Bormann, J. M., Weaber, R. L., Grieger, D. M., & Rolf, M. M. (2019). *Selection for bull fertility : a review*. 423–441. <https://doi.org/10.1093/tas/txz174>
- C.J. Vogler, J.H. Bame, J.M. DeJamette, M. L. M. and R. G. S. (1993). *EFFECTS OF ELEVATED TESTICULAR TEMPERATURE ON MORPHOLOGY*.
- Carabaño, M. J. (2007). *Exploring the Use of Random Regression Models with Legendre Polynomials to Analyze Measures of Volume of Ejaculate in Holstein Bulls*. 1044–1057.
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71591-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71591-6)
- Carabaño, M. J., Bachagha, K., Ramón, M., & Díaz, C. (2014). Modeling heat stress effect on Holstein cows under hot and dry conditions: Selection tools. *Journal of Dairy Science*, 97(12), 7889–7904. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8023>
- Carabaño, M. J., Ramón, M., Díaz, C., Molina, A., Pérez-Guzmán, M. D., & Serradilla, J. M. (2017). Breeding for resilience to heat stress effects in dairy ruminants. A comprehensive review. *Journal of Animal Science*, 95(4), 1813. <https://doi.org/10.2527/jas2016.1114>
- Christensen, P., Labouriau, R., Birck, A., Pedersen, J., & Borchersen, S. (2011). Relationship among seminal quality measures and field fertility of young dairy bulls using low-dose inseminations. *Journal of Dairy Science*, 94(4), 1744–1754. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3087>
- Collier, R. J., Renquist, B. J., & Xiao, Y. (2017). A 100-Year Review : Stress physiology including heat stress. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 10367–10380. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13676>
- Davis, T. C., & White, R. R. (2020). Breeding animals to feed people: the many roles of animal reproduction in ensuring global food security. *Theriogenology*.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.041>
- Dejarnette, J. M., Marshall, C. E., Lenz, R. W., Monke, D. R., Ayars, W. H., & Sattler, C. G. (2004). Sustaining the Fertility of Artificially Inseminated Dairy Cattle : The Role of the Artificial Insemination Industry *. *Journal of Dairy Science*, 87(June 2003), E93–E104.
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)70065-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70065-X)
- Druet, T., Fritz, S., Sellem, E., Basso, B., Gérard, O., Salas-Cortes, L., Humblot, P., Druart, X., & Eggen, A. (2009). Estimation of genetic parameters and genome scan for 15 semen characteristics traits of Holstein bulls. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 126(4), 269–277. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2008.00788.x>
- Everett, R. W., & Bean, B. (1982). Environmental Influences on Semen Output. *Journal of Dairy Science*, 65(7), 1303–1310. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(82\)82344-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(82)82344-8)
- Felton-taylor, J., Prosser, K. A., Hernandez-medrano, J. H., Gentili, S., Copping, K. J., Macrossan, P. E., & Perry, V. E. A. (2020). Theriogenology Effect of breed , age , season and region on sperm morphology in 11 , 387 bulls submitted to breeding soundness evaluation in Australia. *Theriogenology*, 142, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.09.001>
- Fuerst-waltl, B., Schwarzenbacher, H., Perner, C., & Johann, S. (2006). *Effects of age and environmental factors on semen production and semen quality of Austrian Simmental bulls*. 95, 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.09.002>
- Fuerst-Waltl, B., Schwarzenbacher, H., Perner, C., & Johann, S. (2006). *Effects of age and environmental factors on semen production and semen quality of Austrian Simmental bulls*. 95, 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.09.002>
- Garmyn, A. J., Moser, D. W., Christmas, R. A., & Minick Bormann, J. (2011). Estimation of genetic

- parameters and effects of cytoplasmic line on scrotal circumference and semen quality traits in Angus bulls. *Journal of Animal Science*, 89(3), 693–698. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3534>
- Gillan, L., Kroetsch, T., Maxwell, W. M. C., & Evans, G. (2008). *Assessment of in vitro sperm characteristics in relation to fertility in dairy bulls*. 103, 201–214. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.12.010>
- Gredler, B., Fuerst, C., Schwarzenbacher, H., & So, J. (2007). *Short Communication Genetic Parameters for Semen Production Traits in Austrian Dual-Purpose Simmental Bulls*. 328, 326–328. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00778.x>
- Gwazdauskas, F. C. (1985). Effects of Climate on Reproduction in Cattle. *Journal of Dairy Science*, 68(6), 1568–1578. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)80995-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)80995-4)
- Henderson, C. R. (1982). Analysis of Covariance in the Mixed Model: Higher-Level, Nonhomogeneous, and Random Regressions. *Biometrics*, 38(3), 623. <https://doi.org/10.2307/2530044>
- Hoflack, G., Opsomer, G., Soom, A. Van, & Maes, D. (2006). *Comparison of sperm quality of Belgian Blue and Holstein Friesian bulls*. 66, 1834–1846. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.05.007>
- Howard, J. T., Kachman, S. D., Nielsen, M. K., Mader, T. L., & Spangler, M. L. (2013). The effect of myostatin genotype on body temperature during extreme temperature events. *Journal of Animal Science*, 91(7), 3051–3058. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-6180>
- Jane M Morrell, Thanapol Nongbua, S. V., Isabel Lima Verde, Katrin Lundstedt-Enkel, A. E., & Johannisson, A. (2017). Sperm quality variables as indicators of bull fertility may be breed dependent. *Animal Reproduction Science*. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.08.001>
- Kadzere, C. T., Murphy, M. R., Silanikove, N., & Maltz, E. (2002). Heat stress in lactating dairy cows: A review. *Livestock Production Science*, 77(1), 59–91. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00330-X](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00330-X)
- Karoui, S., Díaz, C., Amenabar, M. E., Serrano, M., Roy, R., Carabaño, M. J., & Ugarte, E. (2012). Is sperm DNA fragmentation a good marker for field AI bull fertility? *Journal of Animal Science*, 90, 2437–2449. <https://doi.org/10.2527/jas2011-4492>
- Karoui, Sofiene, Díaz, C., Serrano, M., Cue, R., Celorrio, I., & Carabaño, M. J. (2011). Time trends, environmental factors and genetic basis of semen traits collected in Holstein bulls under commercial conditions. *Animal Reproduction Science*, 124(1–2), 28–38. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.008>
- Kastelic, J. P. (2013). Male involvement in fertility and factors affecting semen quality in bulls. *Animal Frontiers*, 3(4), 20–25. <https://doi.org/10.2527/af.2013-0029>
- Kealey, C. G., MacNeil, M. D., Tess, M. W., Geary, T. W., & Bellows, R. A. (2006). Genetic parameter estimates for scrotal circumference and semen characteristics of Line 1 Hereford bulls. *Journal of Animal Science*, 84(2), 283–290. <https://doi.org/10.2527/2006.842283x>
- Khalil, W. A., El-Hairy, M. A., Zeidan, A. E. B., Hassan, M. A. E., & Mohey-Elsaeed, O. (2018). Evaluation of bull spermatozoa during and after cryopreservation: Structural and ultrastructural insights. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 6(sup1), S49–S56. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2017.11.001>
- Kirkpatrick, M., & Heckman, N. (1989). A quantitative genetic model for growth, shape, reaction norms, and other infinite-dimensional characters. *Journal of Mathematical Biology*, 27(4), 429–450. <https://doi.org/10.1007/BF00290638>
- Kumaresan, A., Johannisson, A., Al-Essawe, E. M., & Morrell, J. M. (2017). Sperm viability, reactive

- oxygen species, and DNA fragmentation index combined can discriminate between above- and below-average fertility bulls. *Journal of Dairy Science*, *100*(7), 5824–5836. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12484>
- Llamas Luceño, N., de Souza Ramos Angrimani, D., de Cássia Bicudo, L., Szymańska, K. J., Van Poucke, M., Demeyere, K., Meyer, E., Peelman, L., Mullaart, E., Broekhuijse, M. L. W. J., & Van Soom, A. (2020). Exposing dairy bulls to high temperature-humidity index during spermatogenesis compromises subsequent embryo development in vitro. *Theriogenology*, *141*, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.08.034>
- Mathevon, M., Buhr, M. M., & Dekkers, J. C. M. (1998). Environmental , Management , and Genetic Factors Affecting Semen Production in Holstein Bulls. *Journal of Dairy Science*, *81*(12), 3321–3330. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75898-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75898-9)
- Mathevon, M., Dekkers, J. C. M., & Buhr, M. M. (1998). Environmental, management and genetic factors affecting semen production in French Montbéliard bulls. *Livestock Production Science*, *55*(1), 65–77. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(98\)00116-X](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(98)00116-X)
- Memili, E., Moura, A. A., Kaya, A., Borowska, A., Szwaczkowski, T., Kamiński, S., Hering, D. M., Kordan, W., Lecewicz, M., Valeanu, S., Johannisson, A., Lundeheim, N., & Morrell, J. M. (2020). Metabolomes of sperm and seminal plasma associated with bull fertility. *Animal Reproduction Science, January*, 106355. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.03.012>
- Meyerhoeffler, D. C., R. P. Wettemann, S. W. Coleman, and M. E. W. (1985). *Reproductive criteria of beef bulls during and after exposure to increased ambient temperature*. 60(2).
- Milinkovic, S. (2012). *Effect of age and environmental factors on semen quality , glutathione peroxidase activity and oxidative parameters in simmental bulls*. 78, 423–431. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.02.022>
- Misztal, I. (2016). *BREEDING AND GENETICS SYMPOSIUM : Resilience and lessons from studies in genetics of heat stress 1 , 2*. 1780–1787. <https://doi.org/10.2527/jas2016.0953>
- Misztal, Ignacy, Tsuruta, S., Lourenco, D., Aguilar, I., Legarra, A., & Vitezica, Z. (2015). *BLUPF90 family of programs*. 125.
- Morrell, Jane M. (2020). Heat stress and bull fertility. *Theriogenology*, *153*, 62–67. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.05.014>
- Morrell, Jane Margaret, Valeanu, A. S., Lundeheim, N., & Johannisson, A. (2018). Sperm quality in frozen beef and dairy bull semen. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13028-018-0396-2>
- Mortimer, S. T., Biomedical, O., & Vancouver, W. (2018). CASA d Computer-Aided Sperm Analysis. In *Encyclopedia of Reproduction* (Second Edi, Vol. 5). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64935-8>
- Muiño, R., Peña, A. I., Rodríguez, A., Tamargo, C., & Hidalgo, C. O. (2009). Effects of cryopreservation on the motile sperm subpopulations in semen from Asturiana de los Valles bulls. *Theriogenology*, *72*(6), 860–868. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.06.009>
- Murphy, E. M., Kelly, A. K., Meara, C. O., Eivers, B., Lonergan, P., & Fair, S. (2018). *Influence of bull age , ejaculate number , and season of collection on semen production and sperm motility parameters in Holstein Friesian bulls in a -*. February, 2408–2418. <https://doi.org/10.1093/jas/sky130>
- Nardone, A., Ronchi, B., Lacetera, N., Ranieri, M. S., & Bernabucci, U. (2010). Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. *Livestock Science*, *130*(1–3), 57–69. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.02.011>

- Negrón-Pérez, V. M., Fausnacht, D. W., & Rhoads, M. L. (2019). Invited review: Management strategies capable of improving the reproductive performance of heat-stressed dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *102*(12), 10695–10710. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16718>
- Oliveira, H. R., Brito, L. F., Lourenco, D. A. L., Silva, F. F., Jamrozik, J., Schaeffer, L. R., & Schenkel, F. S. (2019). Invited review : Advances and applications of random regression models : From quantitative genetics to genomics. *Journal of Dairy Science*. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16265>
- Olsen, H. B., Heringstad, B., & Klemetsdal, G. (2020a). Genetic analysis of semen characteristic traits in young Norwegian Red bulls. *Journal of Dairy Science*, *103*(1), 545–555. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17291>
- Olsen, H. B., Heringstad, B., & Klemetsdal, G. (2020b). Genetic analysis of semen characteristic traits in young Norwegian Red bulls. *The Lancet*, 2019. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17291>
- Olsen, H. B., Heringstad, B., & Klemetsdal, G. (2020c). Genetic correlations between body weight, daily weight gain, and semen characteristic traits in young Norwegian Red bulls. *Journal of Dairy Science*, *103*(7), 6311–6317. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-18116>
- Pelayo, R., Ramón, M., Granado-tajada, I., Ugarte, E., Serrano, M., Gutiérrez-gil, B., & Arranz, J. J. (2019). Estimation of the genetic parameters for semen traits in Spanish dairy sheep. *Animals*, *9*(12), 1–11. <https://doi.org/10.3390/ani9121147>
- Petrunkina, A. M., Waberski, D., Gu, A. R., & To, E. (2006). Determinants of sperm quality and fertility in domestic species. *Society for Reproduction and Fertility*. <https://doi.org/10.1530/REP-07-0046>
- Picard-hagen, N., Sourbe, O., Lyazrhi, F., & Coupet, H. (2002). *Effect of precocious collection on semen output and quality in young Holstein bulls*. *57*, 1511–1522.
- Ravagnolo, O., & Misztal, I. (2002). Studies on genetics of heat tolerance in dairy cattle with reduced weather information via cluster analysis. *Journal of Dairy Science*, *85*(6), 1586–1589. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74228-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74228-8)
- Ravagnolo, O., Misztal, I., & Hoogenboom, G. (2000). Genetic component of heat stress in dairy cattle, development of heat index function. *Journal of Dairy Science*, *83*(9), 2120–2125. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75094-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75094-6)
- Rojas-Downing, M. M., Nejadhashemi, A. P., Harrigan, T., & Woznicki, S. A. (2017). Climate change and livestock: Impacts, adaptation, and mitigation. *Climate Risk Management*, *16*, 145–163. <https://doi.org/10.1016/j.crm.2017.02.001>
- S. K. Curtis and r. P. Amann. (1981). *Testicular development and establishment of spermatogenesis in Holstein bulls*. *53*(6).
- Sabés-Alsina, M., Lundeheim, N., Johannisson, A., López-Béjar, M., & Morrell, J. M. (2019). Relationships between climate and sperm quality in dairy bull semen: A retrospective analysis. *Journal of Dairy Science*, *102*(6), 5623–5633. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15837>
- Schaeffer, L. R. (2004). *Application of random regression models in animal breeding*. *86*, 35–45. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(03\)00151-9](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(03)00151-9)
- Seidel, G. E. (2012). Several insights on evaluation of semen. *Anim Reprod*, *9*, 329–332.
- Simonik, O., Sichtar, J., Krejcarkova, A., Rajmon, R., Stadnik, L., Beran, J., Dolezalova, M., & Biniova, Z. (2015). Computer assisted sperm analysis - The relationship to bull field fertility, possible errors and their impact on outputs: A review. *Indian Journal of Animal Sciences*, *85*(1), 3–11.
- Snoj, T., Kobal, S., & Majdic, G. (2013a). Effects of season, Age, And breed on semen characteristics

- in different *Bos taurus* breeds in a 31-year retrospective study. *Theriogenology*, 79(5), 847–852. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.12.014>
- Snoj, T., Kobal, S., & Majdic, G. (2013b). Effects of season, age, and breed on semen characteristics in different *Bos taurus* breeds in a 31-year retrospective study. *Theriogenology*, 79(5), 847–852. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.12.014>
- Staub, C., & Johnson, L. (2018). Review : *Spermatogenesis in the bull*. 1–9. <https://doi.org/10.1017/S1751731118000435>
- Valeanu, S., Johannisson, A., Lundeheim, N., & Morrell, J. M. (2015). Seasonal variation in sperm quality parameters in Swedish red dairy bulls used for artificial insemination. *Livestock Science*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.12.005>
- Yin, H., Fang, L., Qin, C., & Zhang, S. (2019). Estimation of the genetic parameters for semen traits in Chinese Holstein bulls. *BMC Genetics*, 20(1), 1–5. <https://doi.org/10.1186/s12863-019-0752-x>
- Yin, T., Pimentel, E. C. G., König, U., & König, S. (2014). Strategy for the simulation and analysis of longitudinal phenotypic and genomic data in the context of a temperature × humidity-dependent covariate. *Journal of Dairy Science*, 97(4), 2444–2454. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7143>

Material suplementario

Varianza genética

a)

Caract. ²	Vol				Conc				MM				MI				MPC			
	a ₀ [†]	a ₁	a ₂	a ₃	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃
DC ¹	0,614	0,035	0,012	0,069	5,7*	699	1140	1249	0,101	0,009	0,003	0,001	8,99	0,472	0,621	0,423	17,12	0,463	0,471	0,652
ME	0,633	0,030	0,032	0,031	1,5*	1577	5525	2107	0,100	0,019	0,016	0,013	7,510	6,040	1,353	0,873	23,81	10,01	5,081	15,44
SG	0,557	0,064	0,068	0,054	4,7*	1268	9059	4009	0,104	0,014	0,032	0,034	12,632	5,441	15,61	6,850	15,02	5,872	4,053	4,722

b)

Caract. ²	Vol				Conc				MM				MI				MPC			
	a ₀ [†]	a ₁	a ₂	a ₃	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃
DC ¹	0,616	0,039	0,028	0,052	5,5*	1932	1710	2294	0,009	0,007	0,004	0,002	10,01	1,739	0,793	1,046	20,27	4,947	0,874	3,966
ME	0,591	0,054	0,027	0,065	6,1*	1925	2524	6529	0,009	0,002	0,001	0,003	7,305	5,357	7,417	4,079	21,41	4,605	1,941	3,185
SG	0,610	0,073	0,050	0,049	5,9*	2361	4350	842	0,110	0,004	0,001	0,004	10,61	2,316	1,909	3,762	18,77	4,288	2,162	1,787

Tablas Xa y Xb. Estimaciones de la varianza genética de los coeficientes de regresión aleatoria (polinomios de Legendre de grado 3) en los modelos THI (a) y HR (b), para los caracteres seminales durante los tres períodos en estudio. ¹ME: día de colecta, ME: maduración en el epidídimo, SG: espermatogénesis.

²Caracteres, VOL: Volumen seminal, CONC: concentración seminal, MM: motilidad masal, MI: motilidad individual, MPC: motilidad post-congelación.

[†]Coefficientes de regresión aleatoria: a₀[†]: intercepto, a₁: lineal, a₂: cuadrático, a₃: cúbico.

Varianza del ambiente permanente

a)

Caract. ²	Vol			Conc			MM			MI			MPC							
	a ₀ [†]	a ₁	a ₂	a ₃	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃
DC ¹	0,434	0,007	0,005	0,002	2,4*	2287	2246	2315	0,064	0,005	0,001	0,005	40,01	2,062	2,228	1,108	8,532	4,952	8,067	4,547
ME	0,479	0,235	0,190	0,049	3,1*	2,02*	1,9*	7644	0,060	0,015	0,022	0,005	42,71	9,206	19,28	7,775	6,814	19,54	27,79	27,13
SG	0,552	0,005	0,476	0,347	3,01*	1156	1,5*	1,9*	0,070	0,011	0,043	0,039	31,58	7,296	3,756	8,415	12,36	20,88	31,97	33,33

b)

Caract. ²	Vol			Conc			MM			MI			MPC							
	a ₀ [†]	a ₁	a ₂	a ₃	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃
DC	0,435	0,113	0,041	0,018	2,5*	1,3*	4501	769	0,067	0,018	0,014	0,006	37,82	7,262	2,405	4,136	4,941	6,003	6,558	9,054
ME	0,436	0,127	0,136	0,204	2,07*	2,02*	9250	8270	0,080	0,031	0,035	0,016	40,10	5,321	10,19	8,571	4,951	20,68	11,99	25,77
SG	0,405	0,090	0,146	0,039	2,4*	1,7*	1,4*	4861	0,062	0,022	0,034	0,023	39,84	14,62	15,41	16,06	8,442	13,58	17,64	19,72

Tablas Xa y Xb. Estimaciones de la varianza del ambiente permanente de los coeficientes de regresión aleatoria (polinomios de Legendre de grado 3) en los modelos THI (a) y HR (b), para los caracteres seminales durante los tres períodos en estudio. ¹ME: día de colecta, ME: maduración en el epidídimo, SG: espermatogénesis. ²Caracteres, VOL: Volumen seminal, CONC: concentración seminal, MM: motilidad masal, MI: motilidad individual, MPC: motilidad post-congelación. [†]Coefficientes de regresión aleatoria: a₀[†]: intercepto, a₁: lineal, a₂: cuadrático, a₃: cúbico.