

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON MINERALES Y VITAMINAS SOBRE
ALGUNOS PARÁMETROS DEL SEMEN EN CARNEROS**

Por

J.
Jacquelin ELGARTE DE PAULA
Diana GUGGERI GUIONET



TESIS DE GRADO presentado como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias (Orientación Producción Animal e Higiene, Inspección, Control y Tecnología de los Alimentos de origen animal)

MODALIDAD: Trabajo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2007**

066 TG
Efecto de la su
Elgarte, J



FV/27371

TESIS DE GRADO aprobada por:

Presidente de Mesa:



Dr. Daniel Cavestany

Segundo Miembro (Tutor):



Dr. Daniel Elhordoy

Tercer Miembro:

Dr. Fernando Perdigón

Co-Tutor:

Dr. Gonzalo Rosés

Fecha:

14 de septiembre, de 2007

Autores:



Jacquelin Elgarte de Paula



Diana Guggeri Guionet

AGRADECIMIENTOS

- A nuestras familias, por todo el apoyo brindado a lo largo de nuestras carreras, ya que sin ellas nos habría sido imposible llevarlas adelante.
- A los Drs. Daniel Elhordoy, Daniel Cavestany, Danilo Fila, Gonzalo Rosés y Fernando Perdigón, por el apoyo y material brindados.
- A todos nuestros amigos, en especial a los Brs. Ana Gómez, Bernardo Lockhart, Karina Lombardo, Edgardo Navarro y Hugo Valentín.
- A la barraca Deambrosi y al Ing. Agr. Juan Luis Algorta, por su tiempo, apoyo y confianza, esenciales para la realización de este experimento.
- Al Téc. Agrop. Alejandro Gómez y al Ing. Agr. Alejandro Mendoza por su desinteresada colaboración.
- Al Ing. Agr. Alejandro La Manna
- Al Laboratorio de Semen de la cátedra de Teriogenología de la Facultad de Veterinaria, por el material y apoyo puesto a disposición.
- Al Laboratorio de Técnicas Nucleares de la Facultad de Veterinaria por facilitarnos material para la realización de este trabajo.
- Al Dr. José Piaggio y Fernando Vila, por su colaboración en el análisis estadístico.
- A todo el personal del establecimiento “El Palmar”, Paysandú.
- Al personal de Biblioteca de la Facultad de Veterinaria, por su dedicación, especialmente a la Lic. Rosina Vilaró.
- A todos nuestros amigos del orientado de Producción 2005 y del orientado Tecnología de los Alimentos 2005.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	IV
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
4.1 SECTOR OVINO EN URUGUAY.....	4
4.1.1 Importancia del sector ovino en Uruguay.....	4
4.1.2 Cría ovina en Uruguay.....	4
4.1.3 Los carneros en Uruguay.....	4
4.2 ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DEL CARNERO.....	5
4.2.1 Escroto.....	5
4.2.2 Testículos.....	6
4.2.3 Epidídimo.....	6
4.2.4 Conductos deferentes.....	6
4.2.5 Cordón espermático.....	7
4.2.6 Vesículas seminales.....	7
4.2.7 Próstata.....	7
4.2.8 Glándulas bulbouretrales.....	7
4.2.9 Uretra.....	7
4.2.10 Pene.....	7
4.2.11 Prepucio.....	7
4.3 FISIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL CARNERO.....	8
4.3.1 Histología testicular.....	8
4.3.2 Espermatogénesis.....	8
4.3.3 Maduración y almacenamiento de los espermatozoides.....	9
4.3.4 Control endocrino de la espermatogénesis.....	9
4.3.4.1 Eje hipotálamo-Hipófisis-Gonadal.....	9
4.3.4.2 Producción de hormonas en el testículo.....	10
4.4 MORFOLOGÍA NORMAL DEL ESPERMATOZOIDE.....	10
4.4.1 Cabeza.....	10
4.4.2 Flagelo.....	10
4.5 MORFOLOGÍA ANORMAL DEL ESPERMATOZOIDE.....	11
4.5.1 Anormalidades del acrosoma espermático.....	12
4.5.2 Anormalidades de la cabeza espermática.....	13
4.5.3 Anormalidades de la pieza media espermática.....	13
4.5.4 Anormalidades espermáticas a nivel de cola.....	14
4.5.5 Gotas espermáticas.....	14
4.6 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL SEMEN.....	13
4.6.1 Componentes inorgánicos del semen.....	14
4.6.2 Componentes orgánicos del semen.....	14

4.7 FACTORES QUE AFECTAN LA ESPERMATOGÉNESIS Y LA CALIDAD SEMINAL.....	15
4.8 MINERALES Y SU EFECTO SOBRE LA REPRODUCCIÓN.....	15
4.8.1 Macrominerales y reproducción.....	16
4.8.1.1 Sodio y cloro.....	16
4.8.1.2 Calcio.....	17
4.8.1.3 Fósforo.....	17
4.8.1.4 Magnesio.....	17
4.8.2 Microminerales y reproducción.....	18
4.8.2.1 Yodo.....	18
4.8.2.2 Hierro.....	18
4.8.2.3 Cobre.....	18
4.8.2.4 Cobalto.....	19
4.8.2.5 Manganeso.....	19
4.8.2.6 Zinc.....	20
4.8.2.7 Selenio.....	20
4.9 VITAMINAS Y SU EFECTO SOBRE LA REPRODUCCIÓN	21
4.9.1 Vitaminas liposolubles: efectos sobre la reproducción	21
4.9.1.1 Vitamina A.....	21
4.9.1.2 Vitamina E.....	22
4.9.2 Vitaminas hidrosolubles y su efecto sobre la reproducción.....	23
4.9.2.1 Tiamina o vitamina B1.....	23
4.9.2.2 Riboflavina o vitamina B2.....	23
4.10 EL CAMPO NATURAL: CONTENIDO DE MINERALES Y VITAMINAS.....	23
4.10.1 Zonas de aptitud pastoril en Uruguay.....	24
4.10.2 Contenido de minerales y vitaminas en pasturas naturales.....	24
5. OBJETIVOS.....	25
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
6.1 Animales y tratamientos.....	26
6.2 Determinaciones de campo y análisis seminal.....	27
6.2.1. En los animales.....	27
6.2.1.1. Examen Clínico reproductivo.....	28
6.2.1.2. Condición Corporal.....	28
6.2.1.3. Peso corporal.....	28
6.2.1.4. Circunferencia escrotal.....	28
6.2.1.5. Tono testicular.....	28
6.2.2. En el semen.....	28
6.2.2.1. Motilidad de masa y motilidad individual.....	29
6.2.2.2. Concentración espermática.....	29
6.2.2.3. Porcentaje de espermatozoides vivos y muertos.....	29
6.2.2.4. Porcentaje de espermatozoides anormales.....	29
6.3. Análisis estadístico.....	30
7. RESULTADOS.....	31
7.1. Variables medidas en el animal al día – 1.....	31
7.2. Variables medidas en el semen al día – 1.....	31
7.3. Consumo del suplemento mineral y vitamínico.....	32
7.4. Variables medidas en el animal durante el experimento.....	32

7.5. Variables medidas en el semen durante el experimento.....	34
- 7.6. Variables discretas medidas durante el experimento.....	37
7.7. Correlaciones de Pearson entre variables.....	38
8. DISCUSIÓN.....	40
9. CONCLUSIONES.....	42
10. BIBLIOGRAFÍA.....	44

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Cuadro I. Revestimientos del testículo	6
Cuadro II. Requerimientos de minerales en la dieta de ovinos	16
Cuadro III. Composición del suplemento comercial utilizado	27
Cuadro IV. Condición corporal (CC), peso corporal, circunferencia escrotal (CE), tono testicular (TT) en el período pre experimental (día -1) en carneros Merino Australiano	31
Cuadro V. Medidas de mínimos cuadrados y error estándar de la media (EEM) para las variables seminales en el período pre experimental (día -1) en carneros Merino Australiano.	31
Cuadro VI. Medidas de mínimos cuadrados y prueba de F para las variables: condición corporal (CC), peso corporal, y circunferencia escrotal (CE) medidas en carneros Merino Australiano.	32
Cuadro VII. Medias de mínimos cuadrados y prueba de F para las variables seminales en carneros Merino Australiano durante el experimento	34
Cuadro VIII. Test exacto de Fisher para las variables discretas: tono testicular, motilidad de masa y motilidad individual según tratamiento y fecha de medición	37
Cuadro IX. Correlaciones de Pearson entre variables de semen y variables medidas en los carneros a través de los tratamientos durante el experimento	38
Figura 1. Aparato reproductor del carnero	5
Figura 2. Célula espermática y sus regiones	11
Figura 3. Evolución de la circunferencia escrotal (cm) desde el día -1 (período pre experimental) al día + 51 (período experimental) de los carneros Merino pertenecientes a los tratamientos control y suplementado.	33
Figura 4. Evolución del peso corporal (kg) desde el día -1 (período pre experimental) al día + 51 (período experimental) de los carneros Merino pertenecientes a los tratamientos control y suplementado.	33
Figura 5. Concentración espermática en carneros de los tratamientos control y suplementados al día -1 y durante el experimento (días +17, +34 y +51)	35
Figura 6. Porcentaje de anomalías espermáticas totales (panel superior), % de anomalías del acrosoma espermático (panel medio) y % de anomalías de la pieza media espermática (panel inferior) durante el período pre experimental (día -1) y durante el período experimental (días + 17, +34 y +51) para los tratamientos Control y Suplementado.	36
Figura 7. Proporción de carneros con una motilidad de masa de 5 (escala 1 a 5) según tratamiento	38

1. RESUMEN

Se realizó un experimento para evaluar el efecto de la suplementación con minerales y vitaminas sobre la calidad seminal de carneros pastoreando campo natural sobre suelos de areniscas entre mayo y julio. Se seleccionaron 35 carneros Merino Australiano clínicamente sanos de entre 2 y 6 dientes, que fueron asignados al azar a uno de los siguientes tratamientos: Control y Suplementado. El tratamiento Suplementado recibió durante 51 días un suplemento oral en base a minerales y vitaminas, mientras que el control no recibió suplemento. Los carneros de ambos tratamientos permanecieron durante todo el experimento sobre pasturas naturales. Se realizaron extracciones de semen cada 17 días, una previo al inicio del experimento, y 3 durante el mismo. En estos mismos días se realizó un examen clínico-reproductivo de los carneros, se determinó peso, condición corporal, circunferencia escrotal y tono testicular. En el semen se determinó motilidad de masa e individual, concentración espermática, porcentaje de espermatozoides muertos y con anomalías. La suplementación no modificó el peso, condición corporal, circunferencia escrotal ni tono testicular, pero incrementó la motilidad de masa e individual ($p < 0,05$) y la concentración espermática ($p < 0,001$), redujo el porcentaje de espermatozoides muertos ($p = 0,057$) y las anomalías espermáticas totales ($p < 0,05$), principalmente las localizadas a nivel de acrosoma y pieza media ($p < 0,001$). Se concluye que la suplementación de carneros Merino Australiano en campo natural en Uruguay con un producto en base a minerales y vitaminas tuvo un efecto positivo sobre la calidad del semen, aunque sería preciso realizar más experimentos para determinar los minerales y/o vitaminas responsables de las respuestas observadas.

Palabras claves: carneros, Merino Australiano, campo natural, calidad de semen, minerales, vitaminas

2. SUMMARY

An experiment was carried out to evaluate the effect of supplementation with minerals and vitamins on semen quality of rams grazing on native pastures of Areniscas from May to July. Thirty-five clinically apt Australian Merino rams, between 2 and 6 teeth, were randomly assigned to one of the following treatments: grazing of native pastures (Control) or grazing of native pastures and supplementation with a mineral product (Ovino total®, enriched with vitamins) (Supplemented). The experiment lasted for 51 days. Four semen extractions were performed, the first before the beginning of the experiment and the others during the experiment, every 17 days. In these days, a clinical-reproductive examination of each ram was performed, and body weight, body condition score, scrotal circumference and testicular tone were measured. In the semen were determined mass and individual motility, spermatid concentration, and percentage of dead and abnormal spermatozoa. Supplementation had no effect on body weight, body condition score, scrotal circumference or testicular tone ($p>0,10$), but increased mass and individual motility ($p<0,05$) and spermatid concentration ($p<0,001$), and reduced the percentage of dead ($p=0,057$) and abnormal spermatozoa ($p<0,05$), especially in the acrosome and mid-piece ($p<0,001$), in comparison with the control treatment. It is concluded that mineral and vitamin supplementation of Australian Merino rams grazing native pastures from May to July in Uruguay had a positive effect on semen quality, but more research should be done in order to establish the precise minerals and/or vitamins responsible for the results obtained in this experiment.

Key words: ram, Merino Australiano, native pastures, seminal quality, minerals, vitamins.



3. INTRODUCCIÓN

En Uruguay, el campo natural constituye la principal fuente de alimentos en establecimientos ganaderos, y la única en la gran mayoría de ellos. La producción y calidad del mismo presentan fuertes variaciones estacionales y entre años, debido a la influencia conjunta del tipo de suelo, clima, dotación animal y sistemas del pastoreo, entre otros factores (Rovira, 1996). Estos factores también causan variaciones en el contenido de minerales y vitaminas en las pasturas naturales (Rovira, 1996; Sapsford, 1951).

En Uruguay se ha determinado que el contenido de fósforo y zinc en pasturas naturales en suelos sobre Basalto, Cristalino, Areniscas, y Cretácico son inferiores a los requerimientos de bovinos y ovinos en pastoreo, sobre todo durante el otoño y el invierno (Cuenca, *et al.*, 1981; Sosa y Guerrero, 1983; Fernández, *et al.*, 1983; Pigurina, *et al.*, 1998; Piaggio y Uriarte, 2005). Asimismo se ha reportado que la concentración de cobre, magnesio, manganeso y cobalto en algunas pasturas son apenas suficientes para satisfacer los requerimientos de bovinos y ovinos (Sosa y Guerrero, 1983; Fernández *et al.*, 1983). Por otra parte, en pasturas con alta proporción de restos secos o elevado contenido de pared celular, es posible que exista una deficiencia de vitamina A y E (Huber, 1993).

En nuestro país, la cría ovina se realiza sobre estas pasturas naturales, y se caracteriza, entre otros aspectos, por largas encamerasadas con una duración de hasta 3 meses, y el uso de carneros en una proporción de entre 3 y 4% (DIEA, 2001). Un estudio realizado en Uruguay determinó que casi un 25% de los carneros utilizados no eran clínicamente aptos para la reproducción (Castrillejo *et al.*, 1990). Considerando que el carnero es un elemento clave para lograr una buena eficiencia reproductiva de la majada, y para contribuir al mejoramiento genético de la misma, se puede considerar que carneros con problemas de fertilidad conspiran contra la obtención de buenos resultados reproductivos en la majada nacional (Robles, 2004).

En general se reconoce que el rumiante en pastoreo frecuentemente no consume cantidades adecuadas de minerales para lograr un óptimo desempeño productivo y reproductivo, aunque depende del estado fisiológico del animal, que es quien determina sus requerimientos (Orcasberro, 1997). Por ejemplo, durante el período de servicios, los requerimientos de minerales y vitaminas para la producción de semen en el carnero se incrementan (Prior, 1980), por lo que un aporte deficiente de los mismos en este momento podría resultar en una disminución de la calidad del semen y por lo tanto de la eficiencia reproductiva (Foster *et al.*, 1996; Marai *et al.* 2003).

La espermatogénesis en el carnero puede ser afectada por diversos factores, entre ellos el fotoperíodo, la edad, la raza, el peso, y la nutrición energética, proteica, mineral y vitamínica (Fernández Abella, 1995). Con respecto a estos últimos nutrientes, los oligoelementos como el selenio, el zinc y el cobre y vitaminas A, D, E y complejo B se encuentran en el semen eyaculado, ya sea integrando los espermatozoides o el plasma seminal (Salisbury, 1978; Abdel-Rahman, *et al.*, 2002). Reconociendo la importancia de estos nutrientes para una normal función reproductiva del carnero, así como la posible carencia de alguno de ellos en nuestras pasturas naturales, y al no existir antecedentes de estudios sobre el efecto de la suplementación mineral y vitamínica en carneros en Uruguay, se planteó la necesidad de evaluar el efecto de la suplementación en base a minerales (P, Ca, Mg, Cu, Mn, Zn, Se, I, Co, Na, Cl) y vitaminas (A, B₁, B₂, D, y E) sobre la circunferencia escrotal, el tono testicular y las principales variables espermáticas de carneros Merino Australiano manejados sobre campo natural. La hipótesis principal de

este trabajo es que la suplementación con dicho producto tendrá efectos favorables sobre distintos aspectos de la calidad seminal de los carneros.

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1. SECTOR OVINO EN URUGUAY

4.1.1. Importancia del sector ovino en Uruguay

El sector ovino en Uruguay es una actividad ganadera de gran importancia, tanto si se mide por el número de animales como por la superficie comprendida, sobre todo en lo que a cría se refiere (DIEA, 2003). La importancia de la cría ovina puede verse reflejada en la relación oveja de cría/capón de 4,8 (DICOSE, 2006). Por otro lado debe considerarse la importancia económica del rubro ovino; por ejemplo, durante los primeros diez meses de la zafra 2005/06, las exportaciones cumplidas (productos de la lana, lana, carne ovina, pieles y animales en pie) totalizaron alrededor de 228 millones de dólares, registrando un aumento del 10% en relación con igual período de la zafra anterior (SUL, 2006). La evolución del rubro ovino, en cuanto a cantidad y aplicación de tecnologías, acompaña las fluctuaciones de precio en el mercado de carnes y lana.

Actualmente la población ovina en el Uruguay alcanza la cifra de 11.089.304 cabezas (DICOSE, 2006). Del total de ovinos, un 48.7% está constituido por ovejas de cría y un 2% por carneros, habiéndose registrado el mayor incremento en estas categorías cuando se compara con los datos de DICOSE de los últimos años.

4.1.2 Cría ovina

En Uruguay la cría ovina se concentra en los predios de entre 200 y 5000 hectáreas, con aproximadamente un 76% de las ovejas de cría y un 80% de los carneros existentes en el país (DICOSE, 2006). En su mayor parte se realiza sobre campo natural, lo cual lleva a una dependencia del clima, tipo de suelo, la dotación animal y el sistema de pastoreo utilizado.

Se caracteriza, entre otras cosas, por largas encarneradas con una duración de hasta 3 meses, utilizándose entre 3 y 4% de carneros. Según determinaron Castrillejo, *et al.*, (1990) en un estudio realizado en varios departamentos de nuestro país, se determinó que un 24,4% de los carneros utilizados fueron considerados clínicamente no aptos para la reproducción por diversas causas (pietín, epididimitis, testículos pequeños, espermiostásis, atrofia testicular). Hay que señalar que el alto porcentaje de carneros utilizado durante la encarnerada podría enmascarar las fallas reproductivas. Durante el año 2005 se registró un 76 % de señalada (comunicación personal, Ing Agr Salgado, 2005, SUL).

4.1.3 Los carneros en Uruguay

El carnero es un elemento clave tanto para lograr una buena eficiencia reproductiva de la majada como para el mejoramiento genético de la misma. Según Schoenian (2006), el mayor problema de los carneros no es la esterilidad sino la reducida fertilidad, reportando que entre 10 y 15% tienen una fertilidad cuestionable. El efecto de

incorporar carneros sanos y con muy buena fertilidad se puede evidenciar a través de una mayor cantidad y mejor calidad de lana, en una mayor cantidad de corderos logrados a la señalada y en una mayor ganancia de peso corporal de los corderos al destete (Robles, 2004).

La forma más frecuente de reemplazo de carneros, en Uruguay, es mediante la compra fuera del predio (71% de las explotaciones), mediante plantel propio (16%), o una combinación de plantel propio y compra (9%). Un 4% de las explotaciones informan no reponer los carneros o lo hace bajo la forma de préstamo de vecinos. El proceso de compra se reduce al aumentar el número de ovejas (de 79% a 31%). A la inversa, el origen de plantel propio aumenta desde el 10% al 49% de las explotaciones, al igual que la combinación de plantel propio y compra (de 7% a 20%) (DIEA, 2003). Por otra parte, la revisión de los carneros previo a la encarnera tiende a aumentar con el tamaño de la majada de 47 a 79% (DIEA, 2003).

4.2 ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DEL CARNERO

Un esquema del aparato reproductor del carnero se puede observar en la siguiente figura (figura 1):

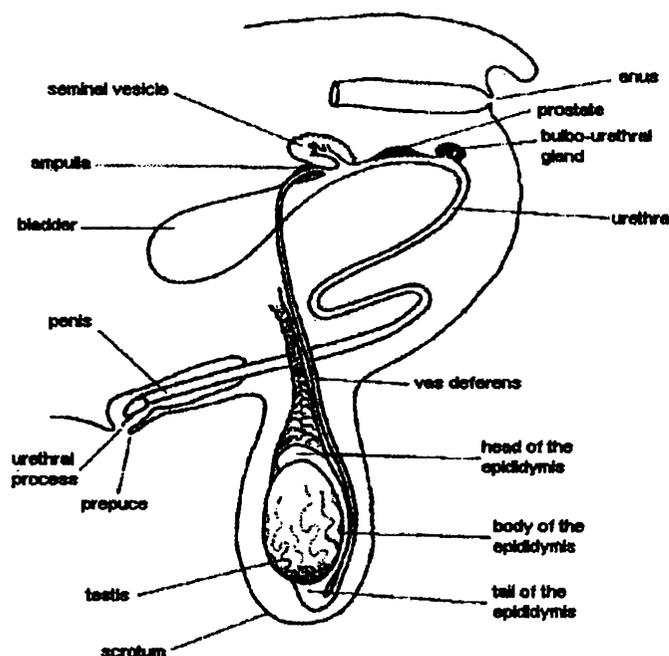


Figura 1. Aparato reproductor del carnero (Schoenian, 2006)

4.2.1 Escroto (figura 1)

Es una bolsa ovoide de piel relativamente fina, ubicado en la parte caudal del abdomen, entre la ingle y el periné. Cada testículo y su epidídimo van suspendidos separadamente dentro del escroto por un cordón espermático y estructuras como el conducto deferente y los vasos y nervios correspondientes encerrados en una doble

cubierta de peritoneo (Dyce *et al.* 1999). Se encuentra en posición vertical con respecto al abdomen. El escroto, junto con los músculos cremásteres y el plexo pampiniforme juegan un rol importante en la termorregulación (Hafez, 1996; Dyce *et al.* 1999; Robles, 2004; Schoenian, 2006).

4.2.2 Testículos (figura 1)

Son unos órganos sólidos elipsoidales contenidos en la bolsa escrotal con su eje dispuesto verticalmente en los carneros (Dyce *et al.* 1999). En el carnero adulto pesa entre 200 y 400 gr. Los testículos tienen básicamente una función gametogénica y endócrina. (Hafez, 1996; Dyce *et al.* 1999, Robles, 2004). El testículo está cubierto por varias capas (Ver Cuadro I).

Cuadro I. Revestimientos del testículo (de afuera hacia adentro) (adaptado de Dyce *et al.*, 1999)

REVESTIMIENTO	
Escroto	
Túnica dartos	
Fascia espermática externa	
Túnica vaginal ¹	Capa parietal
	Capa visceral

¹ se subdivide en dos capas

4.2.3 Epidídimo (figura 1)

Es un órgano firme, formado por las circunvoluciones del conducto epididimario dentro de una matriz de tejido conectivo. Se lo divide en tres zonas: cabeza, cuerpo y cola, aunque estas no se corresponden con las diferencias funcionales (Dyce *et al.* 1999). En el carnero se encuentra muy desarrollado, firmemente adherido por tejido fibroso al testículo; la cabeza de éste es aplanada y ligeramente curva, se ubica en el polo superior del testículo y colocándose lateralmente se continua con el cuerpo, el cual posee una forma de cilindro aplanado recorre lateralmente el borde posterior del testículo y en el extremo inferior de éste, se continúa con la cola (Dyce *et al.* 1999). La cola está muy desarrollada, de forma ovoide con la base aplicada a la extremidad inferior del testículo. Da nacimiento al conducto deferente. Las funciones del epidídimo son: transporte, maduración y almacenamiento de los espermatozoides. (Hafez, 1996; Robles, 2004; Schoenian, 2006).

4.2.4 Conductos deferentes (figura 1)

Se originan en la cola del epidídimo y comienzan con un trayecto tortuoso, que luego se hace recto en su camino hacia el abdomen, recorre el borde posterior del cordón espermático y luego pasa a través del canal inguinal para llegar a colocarse lateralmente a la vejiga. Su porción terminal presenta un agrandamiento fusiforme: la ampolla. Llevan el esperma desde el epidídimo a la uretra durante la eyaculación (Dyce *et al.* 1999).

4.2.5 Cordón espermático (figura 1)

Comienza en el anillo inguinal profundo y termina en el testículo y está formado por: conducto deferente, plexo pampiniforme, vasos linfáticos, nervios testiculares, capas visceral y parietal de la túnica vaginal, músculo cremáster y fascia espermática externa. Su rol está en la termorregulación (Hafez, 1996; Dyce *et al.*, 1999).

4.2.6 Vesículas seminales (figura 1)

Están representadas por órganos compactos y de gruesas paredes, de forma lobulada y algo aplanada. La base está dirigida hacia adelante y su cuerpo casi transversal formando un ángulo casi recto con la base, cada una a lateral del correspondiente conducto deferente. Al cuerpo de la vesícula sigue el conducto excretor, que se abre debajo de la ampolla de los deferentes. Adiciona fluido y nutrientes al semen (Hafez, 1996; Dyce *et al.* 1999).

4.2.7 Próstata (figura 1)

En el carnero, esta glándula es difusa, extendiéndose sobre la uretra pelviana y por debajo del músculo uretral. Produce una secreción alcalina para aumentar el pH del eyaculado, tiene actividad buffer (Hafez, 1996; Dyce *et al.*, 1999).

4.2.8 Glándulas bulbo uretrales (figura 1)

También llamadas de Cowper, se ubican a cada lado de la uretra, cerca de la salida pélvica, son de forma oval y con un solo conducto excretor, que se abre en la uretra, secretan una sustancia acuosa que “barre” los vestigios de orina que pudiesen llegar a encontrarse en la uretra (Hafez, 1996; Dyce *et al.*, 1999).

4.2.9 Uretra (figura 1)

Se extiende desde un orificio interno en el cuello vesical hasta un orificio externo en el extremo libre del pene, dividiéndose en una parte interna o pélvica y otra externa o peneana. Es un órgano tubular cuya función es excretar orina y semen (Dyce *et al.*, 1999).

4.2.10. Pene (figura 1)

Se extiende desde el arco isquiático hasta la zona umbilical. Es de naturaleza fibroelástica en el carnero. La parte terminal del pene, el glande, se encuentra libre dentro del prepucio y posee un proceso uretral o apéndice vermiforme de unos 4 a 5 cm de largo, en forma de latiguillo. En caudal y dorsal del escroto el pene del carnero toma una forma curvada en forma de 'S' denominada flexura sigmoidea. Su función es depositar semen en el tracto reproductivo de la hembra (Dyce *et al.*, 1999).

4.2.11. Prepucio (figura 1)

Es una invaginación de la piel abdominal que se abre a través del orificio prepucial a caudal del ombligo y contiene la parte libre del pene (Dyce *et al.*, 1999).

4.3 FISIOLÓGÍA REPRODUCTIVA EN EL CARNERO

4.3.1 Histología testicular

El testículo se encuentra alojado en el escroto y está envuelto por una gruesa cápsula de tejido conjuntivo denso, la túnica albugínea. Una extensión de este conforma el mediastino testicular, contiene vasos de cierto calibre, la rete testis, y los conductos eferentes que abandonan el testículo, constituyendo una porción menor del parénquima testicular. El resto del parénquima testicular está ocupado por túbulos seminíferos y un intersticio de tejido conjuntivo laxo muy vascularizado, con gran cantidad de capilares sanguíneos y linfáticos, células perivasculares mesenquimatosas, fibroblastos, macrófagos, y otros leucocitos. En este tejido conjuntivo se encuentran acúmulos de células de Leydig, entre los túbulos seminíferos (Hafez, 1996).

El túbulo seminífero es una estructura tubular contorneada, que está rodeada por una lámina basal, en la cual están incluidas dos tipos de células: las mioideas y las similares a los fibroblastos. En los carneros, se encuentra más de una capa de células en la lámina basal. Es característico de este tipo de testículo, que a medida que envejece, ocurre un proceso de fibrosis que aumenta el espesor de esta lámina basal (Hafez, 1996).

El epitelio seminífero constituye el resto de la pared del túbulo seminífero. Es un epitelio estratificado complejo, que contiene células de dos tipos, las de Sertoli y las células de la línea germinal o espermatogénicas (Hafez, 1996). Las células de Sertoli son particularmente resistentes a las toxas que actúan sobre el testículo (Pineda, 1989; Gil, 2002). Las células de la línea germinal, representan etapas sucesivas en un proceso continuo de multiplicación y diferenciación tisular (Hafez, 1996).

4.3.2 Espermatogénesis

La espermatogénesis en el carnero tiene una duración de entre 40 y 50 días (Hafez, 1996; Schoenian, 2006) y se define como el proceso por el cual las espermatogonias se desarrollan hasta espermatozoides, luego de sucesivas divisiones mitóticas (proliferación) y meióticas, la espermacitogénesis, y de cambios morfológicos, la espermiogénesis (University of Wyoming, 2004).

La espermacitogénesis es la fase por la cual las espermatogonias proliferan por mitosis y se transforman en espermatogonias en diferenciación, conocidas como: A₁, A₂, A₃, A₄ (dependiendo de la especie), intermedias y B; estas últimas dan lugar a dos espermatoцитos primarios comenzando la etapa de meiosis y estos a los secundarios finalizando esta etapa cuando estos últimos se dividen dando lugar a las espermátides (haploides) (Hafez, 1996; University of Wyoming, 2004).

La espermiogénesis es el proceso por el cual las espermátides, se convierten en espermatozoides. En esta fase la célula desarrolla un flagelo a través del centríolo, forma el acrosoma a partir del complejo de Golgi, condensa la cromatina nuclear, disminuye su volumen y pierde citoplasma (Hafez, 1996). Una pequeña cantidad de material citoplasmático, la gota citoplasmática, se retiene en la región del cuello o alrededor de la pieza media. (University of Wyoming, 2004). Los pasos de la espermatogénesis, se emplean para clasificar las diversas etapas del ciclo del epitelio seminífero, el cual se define como una serie de cambios en una superficie dada del epitelio seminífero entre dos etapas del desarrollo. Este ciclo se mide en tiempo y en el carnero tiene una duración de

10 días. (Hafez, 1996). Cada estadio del ciclo ocurre en una secuencia ordenada a lo largo del túbulo y la distancia entre dos estadios idénticos se llama onda. (Hafez, 1996; University of Wyoming, 2004;). El proceso por el cual se liberan hacia el túbulo seminífero las células germinales se denomina espermiación (Hafez, 1996).

4.3.3 Maduración y almacenamiento de los espermatozoides

Luego de la espermiación, la célula espermática aún no es capaz de fecundar un gameto femenino. La potencialidad fecundante la irá adquiriendo a través de varios procesos que tendrán lugar su tránsito y almacenamiento, tanto en el tracto reproductivo masculino (maduración) como en el femenino (capacitación) (Hafez y Hafez, 2005). Estos procesos son una sucesión de eventos que ocurren a medida que progresan los gametos en el epidídimo y conducto deferente (Brooks, 1983).

Luego de la espermiación, los gametos pasan a la rete-testis y posteriormente al epidídimo a través de los vasos eferentes. La presencia de los espermatozoides en el epidídimo es de aproximadamente 16 días en el carnero, y este período tiene significancia clínica ya que cualquier evento que afecte la espermatogénesis normal, se podrá observar en los gametos eyaculados luego de dos semanas, como mínimo, determinando que el espermiograma tenga el carácter de estudio retrospectivo con respecto a la espermatogénesis (Barth y Oko, 1985). Este proceso de maduración de los espermatozoides en el epidídimo es mantenido por los andrógenos testiculares (Hafez y Hafez, 2005).

Los mayores cambios en las células espermáticas ocurren en los conductos eferentes, la cabeza y cuerpo del epidídimo, que se consideran áreas de maduración espermática; a la cola se le asigna la función de almacenamiento previo a la eyaculación (Hafez, 1996). Los cambios que se suceden progresivamente durante el tránsito y almacenamiento en el epidídimo involucran cambios en varios organelos: potencialidad de desarrollar motilidad progresiva, condensación de la cromatina del núcleo, modificación del acrosoma y migración de la gota citoplasmática de proximal a distal (Hafez, 1996).

La adquisición de la motilidad involucra varios aspectos, entre ellos el incremento del AMPc y modificaciones en el flujo iónico, especialmente del ión calcio. Para su expresión es necesaria la integridad funcional y estructural de más de un aspecto de la célula además de revertir procesos que se instauran en el epidídimo para prolongar su viabilidad durante el almacenamiento, como la disminución del calcio (Hafez, 1996).

4.3.4 Control endócrino de la espermatogénesis

4.3.4.1 Eje hipotálamo – Hipófisis – Gonadal

La GnRH secretada en forma pulsátil por el hipotálamo, llega a altas concentraciones a la adenohipófisis donde determina que las células gonadotropas liberen LH y también FSH, las cuales regulan la producción de gametos y hormonas testiculares (Hafez, 1996).

4.3.4.2 Producción de hormonas en el testículo

Existen dos tipos principales de células responsables de la producción de hormonas en el testículo: la célula de Leydig y la de Sertoli. La primera, tiene como principal función producir testosterona y es controlada por la LH. Existe un sistema de retroalimentación negativa muy sensible entre la LH y la secreción de testosterona (Hafez y Hafez, 2005).

La testosterona llega al túbulo seminífero por difusión simple o facilitada y es necesaria para una adecuada espermatogénesis. Esta hormona se concentra mayormente en el tejido testicular pero también alcanza el torrente sanguíneo, donde juega un rol importante en la libido como en la actividad secretoria de las glándulas accesorias, así mismo interviene en el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios (Hafez, 1996).

La célula de Sertoli es la célula blanco para la FSH y la testosterona. La FSH induce a esta célula a producir la proteína ligadora de andrógeno (ABP), cuya función es mantener altas concentraciones de andrógenos en los túbulos seminíferos. Esta célula también produce inhibina que tiene efecto supresor sobre la secreción de FSH (Pineda, 1989).

Otra hormona secretada por el testículo es la prolactina, que en los carneros tendría un papel en el período de recuperación de las células de Leydig previo al inicio de la temporada reproductiva, estimulando la respuesta de éstas a la LH (Hafez, 1996). A diferencia de la oveja, el carnero no presenta una estacionalidad reproductiva muy marcada, sin embargo la longitud del día lo afecta aumentando su actividad sexual así como el tamaño testicular y la producción espermática al aumentar la pulsabilidad de testosterona por efecto de la melatonina (que aumenta su liberación con la oscuridad) sobre el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (McDonald, 1989).

4.4 MORFOLOGÍA NORMAL DEL ESPERMATOZOIDE

Los espermatozoides maduros, son células alargadas que consisten de dos partes: la cabeza y la cola, cubierto en su totalidad por una membrana plasmática o plasmalema.

4.4.1 Cabeza

En ella se encuentra el núcleo formado por cromatina compactada, haploide. (Hafez, 1996). Le sigue el acrosoma, el cual se define como un lisosoma o vesícula de doble pared que se sitúa a modo de capucha en el extremo anterior de la cabeza, y que contiene más de 20 enzimas hidrolíticas como por ejemplo: fosfolipasas, fosfatasa ácida, peptidasas (Yanagimachi, 1994), siendo las más abundantes la hialuronidasa y la proacrosina (Hafez, 1996).

4.4.2 Flagelo

El flagelo puede ser dividido en cuatro regiones: cuello, media, principal y terminal. En toda la extensión del flagelo está el axonema formado por nueve pares de microtúbulos radialmente organizados alrededor de dos filamentos centrales. El desplazamiento entre los microtúbulos se origina por los puentes de dineína, que originan las ondas de motilidad del flagelo (Hafez, 1996).

En la pieza media, relacionadas periféricamente a cada par de microtúbulos, se hallan nueve fibras densas, todo recubierto por mitocondrias dispuestas helicoidalmente. Este segmento termina en el anillo citoplasmático o de Hansen (ver figura 2), luego del cual se extiende el segmento principal hasta casi la punta de la cola, el cual no tiene la vaina de mitocondrias (Hafez, 1996). La pieza terminal es muy corta, y con ella finalizan los microtúbulos del axonema (Eddy y O'Brien, 1994).

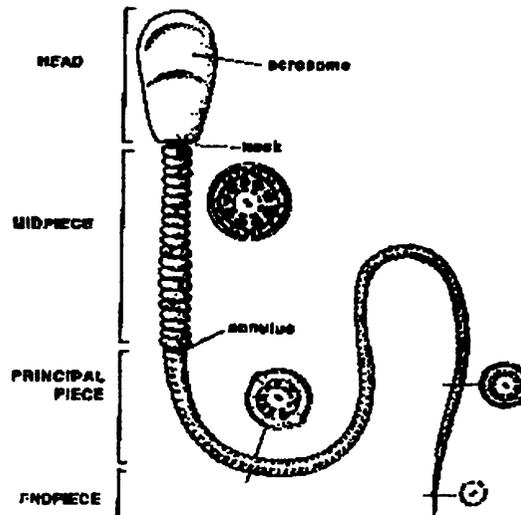


Figura 2. Célula espermática y sus regiones (Rouge, 2006)

4.5 MORFOLOGÍA ANORMAL DEL ESPERMATOZOIDE

El semen de los animales domésticos, en general, sufre variaciones en su calidad a lo largo de la vida, siendo algunos cambios de origen fisiológicos y otros patológicos, así, en el carnero, el porcentaje de espermatozoides anormales aumenta durante la primavera y disminuye cuando se acerca la estación reproductiva (Hafez y Hafez, 2005) aunque esto puede variar con la raza.

Los espermatozoides maduros son el producto final de complejos procesos de desarrollo y no pueden experimentar posteriores divisiones o diferenciaciones (Hafez y Hafez, 2005) aunque pueden ocurrir alteraciones a nivel de estas células como consecuencia de la existencia de disfunciones testiculares. Por otra parte, otros parámetros del semen como concentración y motilidad espermática también pueden ser afectados por este motivo (McGowan, *et al.* 1995). Los disturbios en el epidídimo también pueden llevar a un cambio en los parámetros seminales, como ejemplo, las alteraciones en este órgano pueden manifestarse con una baja motilidad y un aumento en el porcentaje de espermatozoides con diferentes anormalidades de la pieza media o de la cola (McGowan, *et al.* 1995).

El semen de todas las especies domésticas contiene, normalmente, cierto porcentaje de células espermáticas anormales. Un alto porcentaje de anormalidades morfológicas en los espermatozoides está correlacionado negativamente con la fertilidad de los animales, así, en el carnero, está correlacionado negativamente con la motilidad espermática (Hafez y Hafez, 2005). Por otro lado, las diferentes anormalidades

espermáticas y el grado de degeneración pueden ser un buen indicador de la severidad de la disfunción reproductiva (Rhodes, 1980).

Según Barth y Oko (1989) existen muchas nomenclaturas y clasificaciones para las anomalías espermáticas así como opiniones diferentes de la significación de las mismas sobre la fertilidad. Estos autores las clasifican a las anomalías espermáticas de bovinos en:

- defectos de cabeza (ejemplos: defectos de acrosoma, cabezas piriformes, vacuolas nucleares, cabezas sueltas).
- defectos de cola (ejemplos: dobladas, DAG, sacacorchos).
- defectos de la pieza principal (ejemplos: en espiral, con agujeros)
- defectos asociados con la cola (ejemplos: doble cola, gotas citoplasmáticas, teratoides).

Por otra parte Hafez y Hafez (2005) clasifican a las anomalías espermáticas de los carneros en:

- sin cola
- cabezas anormales (ejemplos: ovaladas, ahusadas, microcefalia, sueltas).
- formación anormal de la cola (ejemplos: anudadas, dobladas, en espiral)
- formación anormal de la cola con inclusión citoplasmática proximal (ejemplos: gotas citoplasmáticas proximales en colas dobladas)
- formaciones anormales de la cola con inclusión distal (ejemplos: gotas citoplasmáticas distales en colas dobladas).

En este experimento se optó por una clasificación intermedia en acuerdo con el Laboratorio de Semen de Teriogenología de la Facultad de Veterinaria, que es la siguiente:

- defectos de acrosoma (ejemplos: nudosos, rugosos, incompletos).
- defectos de cabeza (ejemplos: decapitados, piriformes, alargadas).
- defectos de pieza media (ejemplos: flexionadas, dobles, inserción abaxial, similares a DAG).
- defectos de la cola (ejemplos: dobladas, cortas, en espiral, dobles).
- gotas citoplasmáticas (ejemplos: proximales y distales).

4.5.1 Anormalidades del acrosoma

Los defectos a nivel del acrosoma se desarrollan durante la espermatogénesis en el carnero pueden estar asociados con disturbios en la termorregulación testicular, así como a la presencia de enfermedades sistémicas, toxemia, deficiencias nutricionales y excesivo depósito de grasa en el escroto (Barth y Oko, 1986; McGowan, *et al.* 1995). Las anomalías del capuchón espermático se han relacionado, cuando aparecen en un porcentaje muy alto, con infertilidad (Salisbury *et al.*, 1978). Se han observado acrosomas nudosos en varias especies animales caracterizados por una saliencia en el borde apical (ver Anexo A (1)) mientras que los acrosomas rugosos aparecen incompletos, faltando un trozo en uno de los bordes. Ambas alteraciones son hereditarias (Salisbury *et al.*, 1978).

4.5.2 Anormalidades de la cabeza

La morfología anormal de la cabeza espermática puede estar reflejando un disturbio a nivel del epitelio seminífero que altere consecuentemente la espermatogénesis o disturbios en el control endócrino de la función testicular (McGowan, *et al.* 1995).

Dentro de este grupo se incluyen a las cabezas piriformes (ver Anexo A (2)), amorfas, macro y microcefalia, ahusadas, decapitadas o cabezas sueltas anormales (Hafez y Hafez, 2005). La decapitación espermática ocurre en el epidídimo o puede ser consecuencia de degeneración testicular (Salisbury *et al.*, 1978; Baton, 2006) (ver Anexo A (3)). Tanto la macro como la microcefalia indican una alteración a nivel del núcleo (Baton, 2006).

4.5.3 Anormalidades de la pieza media

Los defectos en la pieza media del espermatozoide, como la reflexión distal de las mismas pueden tener su origen en bajos niveles de testosterona. Dentro de las anormalidades de pieza media se encuentran los defectos similares a Dag, de origen hereditario, en la cual se produce una disrupción del axonema. Se produce a nivel de cuerpo y cola del epidídimo y su presencia está asociada a disminución de la motilidad de masa así como a esterilidad cuando aparecen en un porcentaje muy alto (Barth y Oko, 1986, Baton, 2006) (ver Anexo A (4)).

Otros de los defectos de esta parte, es la ubicación abaxial de la misma con respecto a la cabeza o la presencia de piezas medias dobles (ver Anexo A (5)). Generalmente es de baja incidencia y la fertilidad no se ve afectada (Baton, 2006). Los teratoides, que son espermatozoides no desarrollados, pueden aparecer como consecuencia de severos disturbios en la espermatogénesis, degeneración de los túbulos seminíferos o fibrosis (Barth y Oko, 1986) (ver Anexo A (6)).

4.5.4 Anormalidades espermáticas a nivel de cola

El flagelo es la parte más compleja del espermatozoide ya que está compuesta por numerosas estructuras y componentes interdependientes por lo que un defecto en uno de ellos, que pudiese ocurrir durante la espermatogénesis o la maduración, llevaría a la alteración de otro (Barth y Oko, 1986). Anormalidades como las colas cortas, se asocian con problemas a nivel del axonema y su incidencia aumenta con la edad (Baton, 2006) (ver Anexo A (7)), otro de los defectos observados es el enrollamiento en la porción distal de la cola espermática y pueden estar asociada a una fertilidad reducida, en toros (Salisbury *et al.*, 1978; Baton, 2006) (ver Anexo A (8)). Las colas dobladas están presentes en las disfunciones del testículo o el epidídimo pero también puede aparecer como consecuencia de shock osmótico o presencia de un ambiente osmótico anormal, por ejemplo presencia de agua en la copa de colección o en la vagina artificial (Barth y Oko, 1986). Las colas dobladas pueden incluir una gota citoplasmática o no (Baton, 2006) (Anexo A (9)).

4.5.5 Gotas espermáticas

La presencia de gotas citoplasmáticas ya sea en colas normales o en espiral puede estar indicando inmadurez de la función testicular, inhabilidad del espermatozoide para abandonar el epitelio seminífero y alcanzar el epidídimo para madurar correctamente o una disfunción del propio epidídimo (Barth y Oko, 1986).

Estas células no pueden ser congeladas ya que durante el proceso, la gota se cristaliza y rompe la membrana celular (Baton, 2006) (ver Anexo A (10)).

4.6 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL SEMEN

El semen se define como la suspensión líquida o semigelatinosa que contiene los espermatozoides y las secreciones iso-osmolares o plasma seminal de las glándulas accesorias del aparato reproductor masculino (Salisbury, 1978; Hafez, 1996).

Sus propiedades físicas, incluidos el contenido de materia seca, densidad, viscosidad, pH, presión osmótica y conductividad eléctrica, dependen en diversos grados de la concentración relativa de espermatozoides (Salisbury *et al* 1978).

Aún no se han definido totalmente los roles de todas las sustancias que componen el plasma seminal, aunque sí está demostrado que el espermatozoide absorbe gran cantidad de estos elementos, como por ejemplo los iones calcio y zinc (Hafez, 1996).

4.6.1 Componentes inorgánicos del semen

Entre los constituyentes inorgánicos del plasma seminal en rumiantes, se encuentran los minerales sodio (Na) (generalmente asociado con el cloro), potasio (K), calcio (Ca), fósforo (P), azufre, y en menor medida, el zinc, cobre, magnesio, hierro y boro (Mann, 1974; Hafez, 1996). En los ovinos, el plasma seminal contiene: 143,6 (mg/100ml) de Na, 87,3 (mg/100ml) de K y 18,1 (mg/100ml) de Ca.

Las glándulas accesorias de los rumiantes concentran los iones K y Ca en sus secreciones a niveles más altos de los que se hallan en el plasma sanguíneo; y los espermatozoides concentran K a niveles más altos de los que se hallan en el plasma seminal que los rodea (Salisbury *et al* 1978).

La cantidad de Na es más elevada en el plasma que en las células, mientras que el K tiende a concentrarse en las células. El P se halla principalmente asociado con la sustancia cromatínica del espermatozoide. Aunque el P y algunos otros minerales presentes en menores cantidades, se hallan asociados con enzimas y otros componentes implicados en los procesos vitales de los espermatozoides (Salisbury *et al* 1978).

4.6.2 Componentes orgánicos del semen

El semen de los rumiantes está constituido por los elementos orgánicos que a continuación se detallarán:

- sustancia seca, formada principalmente por las células espermáticas.
- hidratos de carbono (fructosa, inositol, sorbitol, manitol, eritritol, glicerol, glicerilfosforilcolina y galactosa), que son sustancias reductoras.
- polisacáridos.



- ácidos orgánicos (ej: láctico)
- componentes nitrogenados como ser aminoácidos (componentes de las células y del plasma), proteínas y amoníaco.
- compuestos fosforados.
- Vitaminas: en machos rumiantes, las vitaminas A, D, E, el ácido ascórbico y del complejo B (tiamina, riboflavina, ácido pantoténico y niacina) se encuentran en el semen eyaculado, ya sea integrando los espermatozoides o el plasma seminal (Cole y Cupps, s/a; Abdel-Rahman, et al., 2002), y está demostrado que influyen sobre los citados parámetros seminales, como se discutirá más adelante.

4.7 FACTORES QUE AFECTAN LA ESPERMATOGÉNESIS Y CALIDAD SEMINAL

La espermatogénesis en carneros puede ser afectada por numerosos factores, como por ejemplo la raza, edad, estación del año (fotoperíodo), alimentación, temperatura, frecuencia de eyaculación, injurias del escroto y/o su contenido, entre otras causas (Pineda, 1989; Fernández Abella, 1995).

En nuestro país el factor nutricional adquiere importancia en cuanto al desempeño productivo y reproductivo de nuestras majadas, ya que en la mayoría de éstas se encuentran en sistemas pastoriles, que como se ha mencionado, presentan fuertes oscilaciones en la producción de forraje, tanto en cantidad como calidad. Bajo estas condiciones, por ejemplo, la evolución de la talla testicular acompaña los cambios en el crecimiento de dichas pasturas (Fernández Abella, 1995).

El animal en pastoreo en la mayoría de los casos no consume los minerales esenciales en cantidades suficientes, dependiendo de los requerimientos (Orcasberro, 1997). Además de la energía y proteína, un adecuado aporte de vitaminas y minerales es esencial para el mantenimiento normal del metabolismo celular para un buen desempeño productivo (expresado como ganancia de peso y producción de lana), así como el reproductivo, manifestado en los índices de fertilidad de la majada (Egaña, 1995; Lee, *et al.*, 2002). En caso que ocurran deficiencias de minerales esenciales se produciría sintomatología y efectos productivos muy variados en lo que a forma e intensidad de presentación se refieren.

Actualmente se conoce con bastante precisión las funciones metabólicas de los micronutrientes esenciales en distintas condiciones productivas, tal es el caso de los minerales a los cuales se los ha implicado en nuevas funciones ligadas a los sistemas inmune y reproductor (Egaña, 1995).

4.8 MINERALES Y SU EFECTO SOBRE LA REPRODUCCIÓN

Dentro de la gran cantidad de minerales que contiene el organismo solo 15 han demostrado ser esenciales para el ganado ovino (NRC, 1985) considerándose esenciales a aquellos que poseen actividad metabólica (McDonald *et al.*, 2002a). A estos minerales se los puede dividir en macrominerales: calcio, fósforo, potasio, sodio, cloro, magnesio y azufre y microminerales o elementos traza: hierro, yodo, cobre, cobalto, manganeso, zinc, molibdeno y selenio (Ammerman y Goodrich, 1983, NRC, 1985).

En el cuadro II se presentan los requerimientos de algunos minerales para ovinos. Estos pueden variar de acuerdo a la raza, edad y estado fisiológico del animal. Cabe

aclarar que existe una gran variabilidad en la absorción de minerales en el tracto digestivo de los animales lo que va a depender de la forma química en que se encuentra el elemento en cuestión y/o las interacciones entre ellos u otros alimentos, afectando su disponibilidad real, lo que hace difícil predecir eventuales deficiencias de estos nutrientes. Las deficiencias subclínicas sólo pueden comprobarse mediante ensayos específicos de suplementación mineral (Orcasberro, 1997; Lee, *et al.*, 2002).

Cuadro II. Requerimientos de minerales en la dieta de ovinos

MINERAL	NECESIDADES
Calcio, %	0.20 - 0.82
Fósforo, %	0.16 - 0.38
Magnesio, %	0.12 - 0.18
Cobre, ppm	7 - 11
Manganeso, ppm	20 - 40
Zinc, ppm	20 - 33
Selenio, ppm	0.10 - 0.20
Yodo, ppm	0.10 - 0.80
Cloruro de sodio, %	0.06 - 0.18

Fuente: NRC, 1985

Los contenidos de minerales en los alimentos y su disponibilidad para el animal son muy variables. Por ejemplo, el contenido de calcio es mayor en las leguminosas y crucíferas respecto a las gramíneas, y el sodio por lo general es muy bajo en cualquier especie vegetal, a excepción de algunas gramíneas. Los elementos minerales de los forrajes se concentran sobre todo en las hojas y sus niveles disminuyen con el desarrollo de la planta, sobre todo para el fósforo (Guéguen y Lamand, 1981).

4.8.1 Macrominerales y reproducción

En este caso se hará referencia a aquellos macrominerales contenidos en el suplemento utilizado en este experimento y que podrían tener un efecto directo o indirecto sobre la reproducción: calcio, fósforo, sodio, cloro, y magnesio.

4.8.1.1 Sodio y cloro

El cloro participa, junto al sodio y al potasio, en el mantenimiento del equilibrio ácido-base, y en la regulación osmótica (McDonald, 2002a) y controla el metabolismo del agua en los tejidos. Un inadecuado aporte de cloruro de sodio resulta en: inapetencia, retardo en el crecimiento e ineficiencia en la utilización del forraje (NRC, 1985). El sodio puede llegar a causar problemas en la fertilidad de los animales (Underwood y Suttle, 1999).

Si bien es escasa la información relativa a los efectos del cloro sobre la reproducción en rumiantes, en carneros la concentración seminal de cloro tiene una correlación positiva con la motilidad espermática y negativa con la concentración espermática (Abdel-Rahman *et al.*, 2000).

4.8.1.2 Calcio

Es el mineral más abundante en el organismo animal, encontrándose más del 99% de su contenido en los huesos, siendo esencial para el funcionamiento de distintos sistemas enzimáticos, como los necesarios para la transmisión de impulsos nerviosos y los responsables de las propiedades contráctiles de los músculos, así como los que intervienen en la coagulación de la sangre (McDonald, 2002a). El calcio dietario es absorbido de acuerdo a las necesidades del animal a nivel de la primera mitad del intestino por mecanismos de difusión y otro de transporte activo con la intervención de la vitamina D y la paratohormona (Guéguen y Lamand, 1981; NRC, 1985).

La concentración de calcio en el plasma seminal de carneros Merino se ha asociado negativamente a la motilidad espermática (Kaludin y Dimitrova, 1986; Abdel-Rahman *et al.*, 2000), indicando que si la misma es muy elevada puede tener efectos adversos sobre dicha característica. Por otra parte, se ha reportado que la concentración de calcio en el plasma seminal tiene una correlación positiva con la concentración espermática y el porcentaje de células vivas (Kaludin y Dimitrova, 1986; Abdel-Rahman *et al.*, 2000).

4.8.1.3 Fósforo

Se encuentra en fosfoproteínas, ácidos nucleicos, fosfolípidos, e integrando los di- y tri-fosfatos de adenosina, siendo vital en el metabolismo energético animal (McDonald, 2002a), y junto con el calcio, es un constituyente de los huesos del organismo (Guéguen y Lamand, 1981). Interviene en la mayoría de las reacciones bioquímicas, en particular en la transferencia de energía y por lo tanto en la utilización de lípidos y glúcidos además de ser un componente esencial de los ácidos nucleicos (Guéguen y Lamand, 1981). La utilización de este elemento, lo mismo que el calcio, es influenciada por la vitamina D, y en los rumiantes se absorbe sobre todo en los dos últimos tercios del intestino delgado (McDonald, 2002a).

El fósforo es el mineral más frecuentemente asociado a infertilidad en rumiantes, considerándose que dietas deficientes en proteína y energía también presentan deficiencias de este elemento (Schingoethe *et al.*, 1993). Esto es particularmente importante si se considera que después del sodio, la deficiencia de fósforo es la más común entre rumiantes en pastoreo (Kincaid, 1993). En carneros, el contenido de fósforo en el plasma seminal se encuentra positivamente correlacionado con la motilidad espermática (Abdel-Rahman *et al.*, 2000) y podría estar explicado por el hecho de que este mineral es imprescindible para la transferencia y utilización de energía en los procesos reproductivos (Forero, 2004).

4.8.1.4 Magnesio

El magnesio es el activador de enzimas más común del organismo animal, particularmente de aquellas vinculadas al metabolismo de carbohidratos y lípidos (McDonald, 2002a). Aproximadamente el 60-70% del total del magnesio corporal está presente en el esqueleto, también forma parte de muchos sistemas enzimáticos y participa en el funcionamiento del sistema nervioso (Underwood, 1983, citado por NRC, 1985). Su concentración en el plasma seminal de carneros está positivamente correlacionado con la

concentración y motilidad espermática (Kaludin y Dimitrova, 1986), pero no está correlacionado con el porcentaje de espermatozoides muertos (Abdel-Rahman *et al.*, 2000) pero se desconoce su rol específico.

4.8.2 Microminerales y reproducción

Los microminerales contenidos en el suplemento aportado a los carneros son: zinc, selenio, manganeso, cobre, cobalto e yodo. Sus necesidades, por lo general, se expresan como partes por millón (ppm) en materia seca (Tedó y Casas, 2004). Los microminerales se encuentran en pequeñas cantidades en los tejidos vivos, y su déficit generalmente provoca el bloqueo o la disminución de la eficacia de distintas vías metabólicas, que pueden manifestarse en una disminución de la producción, el crecimiento y la fecundidad (Guéguen y Lamand, 1981).

4.8.2.1 Yodo

Es necesario para la síntesis de las hormonas tiroideas y en la regulación del metabolismo energético (Miller, *et al.*, 1993b). En rumiantes adultos, la deficiencia de este elemento causa una alteración de las funciones fisiológicas: reducción en el crecimiento de la lana, en la tasa de concepción, y durante la gestación influye negativamente sobre el desarrollo fetal, aumenta la mortalidad embrionaria, el número de abortos, produce retenciones placentarias y da lugar al nacimiento de corderos débiles o muertos. Además, reduce la fertilidad en machos (NRC, 1985, Underwood y Suttle, 1999). Una deficiencia de este micronutriente se ha asociado a una baja fertilidad y a una disminución de la calidad seminal en bovinos (Schingoethe *et al.*, 1993, Underwood y Suttle, 1999).

4.8.2.2 Hierro

Forma parte de la hemoglobina y participa de muchas reacciones bioquímicas importantes, especialmente las relacionadas con las enzimas de la cadena de transporte de electrones y del ciclo del ácido tricarboxílico, y su deficiencia en los animales es caracterizada por: crecimiento reducido, letargia, anemia, disminución de la resistencia a infecciones, y en algunos casos aumento de la mortalidad (McDonald, 2002a). Los efectos de una deficiencia de hierro sobre la función reproductiva, tanto en hembras como en machos, serían de tipo indirecto, a través de la alteración del metabolismo energético del animal (Underwood y Suttle, 1999). Sin embargo, es improbable que existan deficiencias en rumiantes adultos, salvo en animales con alta carga parasitaria (Miller *et al.*, 1993b)

4.8.2.3 Cobre

El cobre forma parte de distintas enzimas como la ceruloplasmina, que interviene en la liberación de hierro de las células al plasma, la citocromooxidasa, que interviene en la fosforilación oxidativa, y la superoxidodismutasa, que forma parte del sistema antioxidante de las células (McDonald *et al.*, 2002a). En corderos, su carencia causa la "ataxia enzoótica", desórdenes en los huesos, anemia, y en ovejas, infertilidad (NRC, 1985).

En machos rumiantes, una deficiencia de cobre produce alteraciones en la libido y reduce la espermatogénesis (Tedó y Casas, 2004). Cuando se administra cobre a toros mantenidos con una dieta deficiente en este mineral, ocurre una mejora de la calidad seminal, a través de un aumento en la motilidad espermática y una disminución del porcentaje de espermatozoides muertos (Schingoethe *et al.*, 1993).

El cobre presenta una interacción negativa con el molibdeno y el azufre, especialmente cuando éstos se encuentran en alta concentración en la dieta, ya que se forman complejos insolubles que reducen la utilización del primero (McDonald *et al.*, 2002a).

4.8.2.4 Cobalto

Es necesario para la síntesis de vitamina B₁₂ o cianocobalamina en el rumen, de especial importancia en la nutrición de rumiantes por su participación en el metabolismo del ácido propiónico para formar glucosa (McDonald, 2002a). Los signos clínicos de una deficiencia en rumiantes son: disminución del apetito, severa emaciación, anemia, disminución de la actividad estrol, y detrimento de la producción de leche y lana. En general, la acción de este elemento sobre la reproducción en rumiantes es indirecta, ya que es consecuencia de la debilidad provocada por la deficiencia de la vitamina B₁₂, y sus consiguientes efectos sobre el metabolismo energético del animal (Underwood y Suttle, 1999).

4.8.2.5 Manganeso

El corazón, cartilagos, tejidos gonadales, y lana tienen cantidades apreciables de manganeso. El principal sitio donde se encuentra el manganeso es en las mitocondrias. Entre los tejidos reproductivos, se ha encontrado una alta concentración en el cuerpo lúteo de vacas al día 11 del ciclo lo que sugiere una relación entre la disponibilidad de manganeso y la fertilidad (Hidiroglou y Knipfel, 1984, Miller, *et al.*, 1993a; Underwood y Suttle, 1999).

El manganeso actúa como cofactor de muchas enzimas, algunas vinculadas con la síntesis de colesterol, por lo que su deficiencia podría limitar la síntesis de hormonas sexuales, de las que el colesterol es precursor, y posiblemente de otros esteroides sexuales, con la consecuente infertilidad (Doisey, 1973 citado por Underwood y Suttle, 1999). De allí que el manganeso sea necesario para la normal fertilidad en los rumiantes, aunque en condiciones de pastoreo es rara su deficiencia (McDonald, 2002a).

La deficiencia de este elemento resulta en una disminución del crecimiento, anomalías del esqueleto, y ataxia en los recién nacidos y depresión o disturbios en la función reproductiva como celos silentes, estros irregulares, infertilidad, nacimiento de hijos deformes en vacas, ovejas y cabras; en machos cabríos disminuye la espermatogénesis, la motilidad y el número de espermatozoides en el eyaculado, y retrasa el desarrollo testicular (NRC; 1985, Schingoethe *et al.*, 1993; McDonald *et al.*, 2002a). En un experimento donde se evaluó el efecto del nivel de manganeso en la dieta de carneros Merino, no se reportaron efectos sobre el peso corporal o la producción de lana, pero el tamaño de los testículos fue más alto en los carneros que consumieron dietas con contenido medio de manganeso, respecto a niveles muy bajos o muy altos. Se concluyó que carneros mantenidos sobre pasturas y consumiendo suplementos con granos podrían

no tener niveles adecuados de manganeso para una óptima performance reproductiva y desarrollo esquelético (Masters, *et al.*, 1988).

4.8.2.6 Zinc

El zinc, al formar parte de enzimas como la anhidrasa carbónica, la lactato deshidrogenasa, la alcohol deshidrogenasa, la fosfatasa alcalina y la timidina quinasa, o como activador de otros sistemas enzimáticos, interviene en la replicación y diferenciación celular y en la producción, conservación y secreción de hormonas (McDonald *et al.*, 2002a), y es esencial para la síntesis y estabilidad del ácido desoxirribonucleico (ADN) (Davenson, 1969, citado por Oliveira, 2002).

El zinc se encuentra en el semen generalmente en altas concentraciones, que varían entre animales y entre especies, y son especialmente elevadas en la cola del espermatozoide, probablemente debido a que el zinc está involucrado en la motilidad del mismo (Hidiroglou y Knipfel, 1984). El mecanismo por el que el zinc participa del control de la motilidad espermática está vinculado con su rol como cofactor (junto con el cobre) de la enzima superóxido dismutasa, la cual tiene una alta capacidad anti-oxidante y cuya actividad es decisiva para mantener el estado funcional del esperma (Maxwell y Stojanov, 1996; Sikka, 2001 citado por Oliveira, 2002).

La carencia de zinc en machos de distintas especies retarda el desarrollo testicular, lo que ocasiona una marcada atrofia del epitelio de los túbulos seminíferos y una reducción del ADN, ácido ribonucleico (ARN) y proteínas, así como una reducción en el contenido de zinc en testículo, epidídimo, y la próstata (Hidiroglou y Knipfel, 1984). Por otra parte, su deficiencia disminuye la liberación de gonadotrofinas desde la pituitaria y la producción de andrógenos (Hidiroglou y Knipfel, 1984). El zinc también participa en el normal funcionamiento de las glándulas accesorias (Smidt y Ellen, 1972).

Específicamente en los ovinos, una deficiencia de zinc se caracteriza por: disminución del apetito y reducción de la tasa de crecimiento, además de otros signos como paraqueratosis y menor producción de lana (Underwood y Suttle, 1999). En carneros, el zinc está directamente involucrado en el desarrollo anatómico y funcionamiento normal de los órganos reproductivos. La deficiencia de este elemento conduce a una reducción del desarrollo testicular en machos jóvenes o atrofia testicular con alteración de la espermatogénesis, una reducción de la secreción de testosterona por las células de Leydig, y causa una reducción de la libido en los animales adultos (Underwood y Somers, 1969; Hidiroglou y Knipfel, 1984; NRC, 1985; Schingoethe *et al.*, 1993; Martín *et al.*, 1994). Este mineral es importante para la espermatogénesis, ya que está involucrado directamente en la maduración espermática y en la preservación del epitelio germinativo en carneros (Underwood y Somers, 1969). Es preciso señalar que los efectos de una deficiencia de zinc sobre la espermatogénesis puede ser confundida con una reducción en el consumo de materia seca, ya que se observan efectos similares (Neathery, *et al.*, 1973).

4.8.2.7 Selenio

El selenio es un constituyente de la enzima Glutatión Peroxidasa (GSH-Px) y junto a otros compuestos como la vitamina E, forma parte del sistema anti-oxidante del organismo animal (Miller *et al.*, 1995; Stewart, 1996). El selenio es un elemento

fundamental tanto para el crecimiento como para la reproducción de los rumiantes. Por ejemplo, su carencia produce distrofia muscular en corderos (Miller *et al.*, 1993a), así como un aumento de la mortalidad embrionaria en ovejas durante las 3-4 semanas tras la concepción (Underwood y Suttle, 1999).

Se ha reportado que el plasma seminal contiene elevadas cantidades de la enzima GSH-Px, cuya función es proteger a la membrana lipídica en las células reproductivas del macho de daños oxidativos (Mann y Lutwak-Mann 1981). Brown y Burk (1973, citados por Wu, 1979) detectaron una alta captación de selenio por el testículo y el epidídimo, así como una alta concentración de selenio en la cola del espermatozoide. Esta elevada concentración de selenio estaría asociada a la presencia de un selenopéptido en la cola del espermatozoide, que es un componente estructural de ésta, y que ante una deficiencia de selenio disminuye su contenido, causando una fractura en la mitad de la cola del espermatozoide (López Alonso *et al.*, 1997). Esto explicaría por qué una dieta deficiente en selenio está asociada con un mayor porcentaje de colas dobladas y en tirabuzón en el semen de rumiantes (Smith *et al.*, 1978). Del mismo modo, en cerdos alimentados con dietas fortificadas en selenio, el porcentaje de espermatozoides normales fue tres veces mayor en comparación y la motilidad espermática mayor respecto a los animales no suplementados (Mahan *et al.* 2003).

Hay evidencia que los animales generalmente presentan mayores necesidades de selenio durante la etapa reproductiva, puesto que como consecuencia del aumento del metabolismo reproductivo durante la misma (alto número de mitosis), se originan gran cantidad de radicales libres que deberán ser destruidos por la glutatión peroxidasa (López Alonso, *et al.*, 1997). Por ejemplo, en un experimento realizado con carneros Merino, la suplementación con selenio y vitamina E mejoró la calidad de semen en los animales tratados respecto a los carneros sin suplementar (Gokcen *et al.*, 1990). Asimismo, se ha reportado que el tratamiento con vitamina E y selenio antes de la encarnerada reduce los problemas de fertilidad en la majada ovina (Loste *et al.*, 2001 citado por Tedó y Casas, 2004).

4.9 VITAMINAS Y SU EFECTO SOBRE LA REPRODUCCIÓN

Son compuestos orgánicos indispensables al desarrollo, mantenimiento y reproducción de la vida animal (De Alba, 1971). Se las divide en dos grandes grupos, las liposolubles: A, D, E y K y las hidrosolubles: complejo B y C (McDonald, 2002b). Las vitaminas B y K mayoritariamente son sintetizadas por los microorganismos del rumen, mientras que las vitaminas A, D y E deben ser aportadas por la dieta (Huber, 1993).

4.9.1 Vitaminas liposolubles: efectos sobre la reproducción

4.9.1.1 Vitamina A

La vitamina A o retinol tiene importantes funciones en el desarrollo normal de la visión, el crecimiento y diferenciación de numerosos tipos de células (Huber, 1993). En casos de moderada deficiencia de vitamina A, los tejidos más dañados son el respiratorio, urogenital, las glándulas salivales y ojos, asociado a una disminución de la resistencia a infecciones (Huber, 1993). El síntoma más importante de la hipovitaminosis A es el

reemplazo del epitelio normal por un epitelio escamoso queratinizado (Rode, *et al.*, 1995). La carencia de esta vitamina puede ocurrir en campos con pasturas secas (Huber, 1993).

En el macho, la deficiencia de vitamina A tiene efectos sobre tres importantes tipos de células testiculares: células de Sertoli, células de Leydig y células germinales, actuando en el pasaje de las señales, el metabolismo y modificando numerosos factores secretados por las mismas, siendo necesaria para la proliferación y diferenciación de espermatogonias A (Livera *et al.*, 2002). La deficiencia de vitamina A ocasiona una disminución de la secreción de testosterona (Livera, *et al.*, 2002), lo que disminuye la habilidad sexual, causa injuria testicular con degeneración de los túbulos seminíferos y por consiguiente, reducción de la espermatogénesis. Asimismo, hay un aumento de la proporción de espermatozoides anormales, disminución de la motilidad espermática, reducción la secreción de las glándulas sexuales accesorias, y puede disminuir la capacidad de fertilización del espermatozoide, al afectar la acrosina y los activadores plasminógenos, que juegan un rol esencial en la inducción de la reacción de el acrosoma, con su unión con el oocito y su penetración en la zona pelúcida (Zervos, *et al.*, 2005, Livera *et al.*, 2002; Cole y Cupps, s/a).

En un experimento realizado con toros alimentados con una dieta deficiente en vitamina A por un período prolongado, se reportó una disminución del peso testicular y de la calidad seminal, así como una reducción de la producción y reservas de espermatozoides en el epidídimo, y una disminución de la libido; sin embargo, la ganancia diaria de peso no fue afectada por el tratamiento impuesto (Rode, *et al.*, 1995). En otro experimento realizado con carneros, a los cuales se le asignó distintos niveles de vitamina A en la dieta (0, 100.000 y 200.000 UI) durante cinco meses, se observó que el porcentaje de espermatozoides anormales fue más alto en el grupo que no recibió vitamina A, con mayor presencia de anomalías de cabeza (grandes, chicas, en alfiler, piriformes) y en la pieza media y cola, así como espermatozoides no desarrollados o teratoides (Abdulkareem *et al.*, 2005).

4.9.1.2 Vitamina E

Está aceptado que la principal función metabólica de la vitamina E es servir como antioxidante, previniendo la degradación peroxidativa de los lípidos en las células animales e impedir la acumulación de radicales libres, que podrían tener un efecto adverso sobre la acción de ciertas enzimas y dañar las membranas celulares (Huber, 1993), por ejemplo la de los espermatozoides de bovinos (O'Flaherty *et al.*, 1997). La vitamina E está estrechamente vinculada a la reproducción en algunas especies animales como la rata, el ratón y el hámster, aunque no en el verraco ni en los rumiantes (Mc Entee, 1990; Huber, 1993; Marin-Guzman *et al.*, 2003), entre ellos el carnero (Upetri *et al.*, 1997).

Sin embargo, en un ensayo reciente se reportó que la concentración de vitamina E estuvo positivamente correlacionada con la motilidad de masa y negativamente correlacionada con el porcentaje de espermatozoides con algún tipo de anomalía en búfalos (Abdal-Malak, 2004). En otro ensayo, la suplementación con vitamina E incrementó el volumen de eyaculado en carneros, y mejoró la fertilidad en ovejas cuando se utilizó dicho semen, respecto al de carneros sin suplementar (Tenlibaeva, 1991).

4.9.2 Vitaminas hidrosolubles y su efecto sobre la reproducción

La mayoría de las vitaminas de este grupo son componentes de coenzimas y la conexión entre los síntomas de deficiencia observados y el fallo de la ruta metabólica no es siempre clara. Por lo general los rumiantes sintetizan en el rumen a través de los microorganismos estas vitaminas; aunque pueden producirse deficiencias de tiamina y cianocobalamina (De Alba, 1971; McDonald, 2002b).

4.9.2.1 Tiamina o vitamina B1

La tiamina es una vitamina perteneciente al llamado grupo de vitaminas del complejo B. Es una coenzima que interviene en las reacciones enzimáticas clave del metabolismo energético animal como la formación de la acetilcoenzima A, la descarboxilación oxidativa de la alfa-cetoglutarato, y también en la síntesis de aminoácidos bacterianos (McDonald, 2002b). Su deficiencia ocasiona pérdida del apetito, debilidad muscular y progresiva disfunción nerviosa (McDonald, 2002b).

De acuerdo con Salisbury (1978), la concentración plasmática de dicha vitamina tiene una correlación positiva con la motilidad espermática en machos de distintas especies de rumiantes, siendo además necesaria para el desarrollo de tracto genital del macho joven, y para la secreción de fructosa y ácido cítrico por las glándulas accesorias (Smidt *et al.*, 1972).

4.9.2.2 Riboflavina o vitamina B2

Forma parte de la flavoproteínas, que intervienen en reacciones químicas relacionadas con el transporte de hidrógeno durante la fosforilación oxidativa y en el ciclo del ácido cítrico; también es coenzima para la enzima acetil coenzima A deshidrogenasa además forma parte de la catalasa que es una enzima antioxidante presente en el semen (López Alonso, *et al.*, 1997; McDonald, 2002b). Se han observado deficiencias de esta vitamina en ganado vacuno y ovino joven, y los síntomas incluyen pérdida del apetito, diarrea y lesiones en la comisura de la boca (McDonald, 2002b). Del mismo modo que para la tiamina, la concentración plasmática de riboflavina en machos rumiantes se ha correlacionado positivamente con la motilidad espermática (Salisbury, 1978), y su deficiencia puede llevar a inhibir la secreción de andrógenos, provocando degeneración testicular e interrumpiendo la espermatogénesis (Audet, *et al.* 2004).

4.10 EL CAMPO NATURAL: CONTENIDO DE MINERALES Y VITAMINAS

El consumo de minerales por animales en pastoreo no suplementados depende del consumo total de forraje, del contenido mineral del agua de bebida, y de la ingestión y composición del suelo; por su parte, el contenido en el forraje dependerá de la composición botánica de la vegetación, su estado de madurez, la época del año, el clima y la selectividad animal, entre otros factores (Orcasberro, 1997). La posibilidad de que un animal presente síntomas clínicos o que su performance se vea afectada por una subnutrición mineral dependerá de sus requerimientos, del consumo y absorción de minerales en el tracto gastrointestinal, así como de la fracción que efectivamente puede ser aprovechada por el animal, también llamada “bio-disponibilidad” (Egaña, 1995; Orcasberro, 1997).

Hay que señalar que el coeficiente de absorción de los minerales en el tracto digestivo de los rumiantes puede variar según el alimento, en algunos casos de forma muy importante, siendo generalmente menores cuando provienen de forrajes respecto a las fuentes inorgánicas. Por ejemplo, los coeficientes de absorción promedio de calcio, fósforo y magnesio proveniente de forrajes son 30, 64 y 16%, respectivamente, mientras que el proveniente de concentrados es 60, 95 y 50% (NRC, 2001).

La identificación de las deficiencias minerales más comunes y difundidas es muy problemática, ya que deficiencias marginales son frecuentemente exacerbadas por las interacciones entre micronutrientes, o bien son confundidas con variaciones en el nivel de aporte de proteína y/o energía (Underwood y Suttle, 1999).

4.10.1 Zonas de aptitud pastoril en Uruguay

Las zonas de aptitud para el pastoreo en Uruguay se dividen de acuerdo a lo expuesto en el Anexo B. Las explotaciones adonde se realiza la cría ovina en nuestro país, se encuentran en todas las zonas de aptitud pastoril, principalmente en las zonas consideradas regulares, poco aptas y aptas con limitaciones, esto es, básicamente, basalto superficial (Ver Anexo C). Aun así, en las zonas Muy Aptas y Aptas se encuentran cerca de tres millares de explotaciones. En las zonas consideradas poco aptas se encuentran las majadas más grandes (DIEA, 2003).

4.10.2 Contenido de minerales y vitaminas en pasturas naturales

La producción ovina en nuestro país se realiza fundamentalmente sobre pasturas naturales, de la cual todavía existe escasa información tanto en términos de producción de materia seca como de calidad de la misma, principalmente respecto a contenido y variación de nutrientes, así como de su disponibilidad para el animal (Piaggio y Uriarte, 2005).

El contenido de minerales en las pasturas naturales depende de numerosos factores, como por ejemplo, el contenido y disponibilidad de los mismos en el suelo, el tipo de pastura, el estado fenológico, la época del año, y las condiciones de pastoreo (Sienra, 1987). Por ejemplo, Fernández *et al.* (1983) encontró que las concentraciones más bajas de fósforo, calcio, cobre, zinc, y manganeso en pasturas naturales de Uruguay se detectaron en los meses estivales, mientras que los valores más bajos de magnesio se detectaron en invierno.

En nuestro país se han determinado contenidos de fósforo, zinc, cobre, magnesio, manganeso y cobalto en pasturas naturales sobre suelos de Basalto, Cristalino, Areniscas, y Cretácico, encontrándose cantidades insuficientes para cubrir los requerimientos de bovinos (Cuenca *et al.*, 1981; Guerrero, 1983; Fernández *et al.*, 1983; Berretta *et al.*, 1990, citado por Orcasberro, 1997; Pigurina *et al.*, 1998; Piaggio y Uriarte, 2005).

En algunas circunstancias se han encontrado niveles de fósforo, calcio, zinc y cobre en sangre y/o tejidos de vacunos por debajo de los considerados críticos (Cuenca *et al.*, 1981; Orcasberro, 1997), y en un experimento realizado en pasturas naturales sobre Areniscas, la suplementación con fósforo tuvo efectos positivos sobre el porcentaje de preñez de vacas Hereford de primera cría, aunque no en vacas adultas (Arroyo y Mauer, 1982). Sin embargo, es escasa la información generada en nuestro país respecto a posibles deficiencias minerales en ovinos y específicamente en carneros.

Del mismo modo que los minerales, el contenido de vitaminas en las pasturas depende de numerosos factores, como la estación del año, la especie forrajera y el estado de crecimiento de las pasturas (estado fenológico), entre otros (Sapsford, 1951). En general, los microorganismos del rumen son capaces de sintetizar las vitaminas del complejo B y la vitamina K, mientras que los rumiantes en pastoreo normalmente no presentan deficiencias de vitamina D, ya que es sintetizada a partir de la luz solar, y son capaces de sintetizar vitamina C por sí mismos (Huber, 1993). Con respecto a la vitamina A y E, su contenido en las pasturas normalmente es suficiente para satisfacer los requerimientos de rumiantes en pastoreo, aunque si el estado fenológico es muy avanzado y/o la proporción de restos secos o contenido de pared celular es muy elevada, es posible que exista una deficiencia de estas vitaminas (Huber, 1993).

Por otro lado, los carneros aumentan sus requerimientos en micronutrientes durante la época de servicios y su deficiencia puede llevar a una reducción en la calidad seminal (Marai *et al*, 2003), lo cual coincide con el período otoño-invierno, época en la que se reportaron la ocurrencia de las concentraciones más bajas de estos elementos (Pigurina *et al.*, 1998).

5. OBJETIVOS

Considerando la posible carencia de algunos minerales y vitaminas con importancia sobre la reproducción de carneros en los suelos y pasturas de Uruguay, y la ausencia de antecedentes acerca del efecto del aporte de minerales y vitaminas sobre las características seminales de carneros, se planteó como objetivo de este experimento evaluar el efecto de la suplementación con minerales (P, Ca, Mg, Cu, Mn, Zn, Se, I, Co, Na, Cl) y vitaminas (A, B₁, B₂, D y E) sobre el peso, condición corporal, circunferencia escrotal, tono testicular, motilidad espermática individual y de masa, concentración espermática, porcentaje de espermatozoides muertos, de anomalías totales y específicas en carneros Merino Australiano pastoreando sobre campo natural entre mayo y julio. Como hipótesis de este ensayo se planteó que la suplementación con dicha mezcla vitamínico-mineral tiene efectos positivos sobre distintos aspectos de la calidad seminal de carneros.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 ANIMALES Y TRATAMIENTOS

El ensayo se realizó en el establecimiento “El Palmar”, propiedad de la firma Guionet Diana y Suc. José J. Guggeri, en el departamento de Paysandú, Uruguay entre el 21 de mayo y el 11 julio del 2006. Los suelos predominantes de dicho predio pertenecen a la unidad “Algorta”, desarrollados sobre areniscas (base geológica), según la carta de suelos 1:100.000 (Durán, 1991).

Para el mismo se utilizaron un total 35 carneros de la raza Merino Australiano con una edad entre 2 y 6 dientes que fueron seleccionados a partir de un lote de 45 animales inmediatamente después de haberseles realizado un examen clínico- reproductivo y haber sido declarados como aptos de acuerdo a las metodologías descriptas por Robles (2004) y Elhordoy, (2004). El peso corporal promedio presentado al inicio del experimento por todos los animales fue de $43,2 \pm 4,2$ kg y la condición corporal promedio de $2,52 \pm 0,50$ (escala de 1 a 5). La primera evaluación de los carneros se realizó el día -1 previo a la suplementación. Luego de esta los animales fueron asignados aleatoriamente a dos grupos: control y suplementado (con 100 g de un compuesto mineral y vitamínico).

TRATAMIENTO CONTROL (n=20): sin suplementación.

TRATAMIENTO SUPLEMENTADO (n=15): suplementación diaria a cada carnero con 100 g de un compuesto a base de sales minerales y vitaminas.

La duración del período experimental fue de 51 días. El suplemento vitamínico - mineral utilizado fue elaborado por la barraca Deambrosi, y constituido por una mezcla del producto comercial OVINO TOTAL® al que se le adicionaron vitaminas. La composición química del suplemento utilizado se presenta en el cuadro III.

Entre las 6:00 AM y las 5:00 PM, todos los carneros pastorearon en un mismo potrero de aproximadamente 60 hás, sobre pasturas naturales, junto a bovinos y equinos. En el potrero existía un bebedero y aguadas naturales. A partir de las 5:00 PM, los carneros de los tratamientos control y suplementado eran conducidos a dos corrales separados con acceso a agua y sombra. En el corral donde se encontraban los carneros suplementados, se ofreció el suplemento vitamínico - mineral en comederos individuales confeccionados con recipientes de plástico. El suplemento fue previamente pesado y colocado en bolsas plásticas individuales conteniendo 100 g cada una. Cada carnero recibió esa cantidad diariamente durante 51 días. Luego que comían el suplemento se los soltaba, permaneciendo en el corral. Cada mañana se limpiaban los comederos tirando el posible remanente de suplemento que hubiese quedado del día anterior. Al día 51 del experimento se recolectó el rechazo de suplemento de cada comedero en bolsas de nylon individuales y se pesó, determinándose por diferencia con la cantidad ofrecida, el consumo estimado de suplemento de cada carnero del tratamiento Suplementado. Durante la noche y hasta las 6:00 AM, los carneros de los dos tratamientos permanecieron en sus respectivos corrales.

Cuadro III. Composición del suplemento comercial utilizado (Ovino Total ®, Barraca Deambrosi)

COMPONENTE	CONTENIDO¹
Cloruro de sodio	58,2
Fósforo	2,25
Calcio	11,3
Magnesio	0,275
Cobre	0,0975
Zinc	1,6
Manganeso	0,036
Cobalto	0,0042
Yodo	0,0047
Selenio	0,0004
Melaza	5,00
Vitamina A	7500
Vitamina D	1000
Vitamina E	75
Vitamina B1	0,0045
Vitamina B2	0,008

¹expresado como gramos cada 100 g de producto (base fresca) en el caso de minerales y melaza o como U.I. cada 100 g de producto (base fresca) en el caso de vitaminas

6.2 DETERMINACIONES DE CAMPO Y ANÁLISIS SEMINAL

Se realizó la determinación de las distintas variables que a continuación se detallan en cuatro ocasiones, la primera previo al inicio del experimento con el fin de establecer los valores de partida (día - 1), y las restantes durante el período experimental, con un intervalo de 17 días entre cada una de ellas (día +17, día +34 y día +51).

En los días correspondientes a las mediciones se mantuvieron a los carneros en sus respectivos corrales durante toda la mañana, momento en el cual eran realizadas las mismas.

6.2.1 En los animales

6.2.1.1 Examen clínico reproductivo

Previo a cada extracción de semen, se realizó un examen clínico - reproductivo de cada carnero, según las metodologías descritas por Elhordoy (2004) y Robles (2004).

El examen se divide en una serie de pasos que deben seguirse metódicamente y son (Elhordoy, 2004):

1. Reseña e identificación
2. Anamnesis (fundamental para establecer el diagnóstico).
3. Examen clínico general
4. Examen objetivo particular de aparato reproductor
5. Espermiograma
6. Exámenes complementarios

7. Informe final declarando al carnero como (Robles, 2004):

- **Apto:** es un animal que ha superado las pruebas y es clínicamente sano, presentando una buena calidad seminal
- **No apto:** son aquellos animales que presentan alguna patología, o defectos hereditarios.
- **Diferido:** son aquellos animales que pasaron la mayoría de los pasos pero presentan alguna alteración de la que pueden recuperarse, por ejemplo, una mala condición corporal

6.2.1.2 Condición corporal

Se determinó la condición corporal (CC) cada 17 días, una vez previo al inicio del experimento: día - 1 y luego a los días + 17, +34 y +51 utilizando una escala de 1 a 5 de Russell *et al* (1969) donde 1 equivale a muy flaco y 5 muy gordo. La condición corporal fue determinada por una misma persona durante todo el experimento.

6.2.1.3 Peso corporal

Se determinó el peso corporal de los animales cada 17 días, una vez previo al inicio del experimento: día - 1 y luego a los días + 17, +34 y +51 utilizando una balanza Mondial con una precisión de 0,5 Kg.

6.2.1.4 Circunferencia escrotal

Se determinó la circunferencia escrotal, en centímetros, con una cinta métrica. Para ello se procede de acuerdo a la metodología descrita por McGowan *et al* (1995): primero se descienden ambos testículos dentro de la bolsa escrotal colocándose los dedos en la zona cráneo lateral del cuello del escroto sosteniéndolos firmemente en esta posición, y posteriormente se procede a colocar la cinta a la altura del diámetro mayor debiendo estar ajustada a la piel. La tensión debe ser tal que los testículos permanezcan juntos repitiéndose la operación para confirmar la medida obtenida (McGowan *et al*, 1995).

6.2.1.5 Tono testicular

Se determinó el tono testicular utilizando una escala de 1 a 5 donde 1 es muy duro y 5 muy blando siendo tonos normales aquellos con valores de 2 y 3 (Galloway, 1982) por una misma persona durante todo el experimento si.

6.2.2 En el semen

Para la extracción se utilizó un electro-eyaculador (FHK Company, Fujihika Industry Co., Ltd.), de acuerdo a la metodología descrita por Barker (1958), aplicándose estímulos eléctricos de entre 6 y 12 V cada 6 a 8 segundos, hasta obtener la respuesta. Luego de obtenido el semen se observaron los parámetros motilidad de masa e individual como a continuación se detallará. Posteriormente, se procedió a acondicionar cada muestra para su análisis morfológico y de concentración en el laboratorio, que consistió en diluir 0,25 µl de semen utilizando una pipeta Eppendorf, en 4,75 ml de formol salino bufferado previamente mantenido en baño María a 37 °C para evitar shock térmico de los espermatozoides, en tubos estériles. La dilución obtenida fue de 1:200.

Todas las variables determinadas por una misma persona durante el período experimental.

6.2.2.1 Motilidad de masa y motilidad individual

Inmediatamente de extraída la muestra de semen de cada carnero, se determinó, la motilidad de masa colocando una gota de semen fresco sobre un portaobjetos seco y entibiado observándola al microscopio a un aumento de 100X (escala de 0 a 5, Elhordoy y De Mello (1998)). Para la motilidad individual, se colocó una gota de semen diluida con suero fisiológico a 37 °C sobre un portaobjetos seco y entibiado cubriéndose el preparado con un cubreobjetos y se evaluó al microscopio el porcentaje de espermatozoides con movimiento rectilíneo uniforme (200X). En el experimento de consideraron porcentajes de motilidad individual de 70 u 80 ya que fueron estos dos únicos valores durante el mismo.

6.2.2.2 Concentración espermática

En las muestras acondicionadas de dicha forma, se determinó la concentración espermática por medio de la cámara de Neubauer (200X). El hemocitómetro o cámara de Neubauer es un portaobjetos que cuenta con cámaras numeradas con precisión (Hafez y Hafez, 2005). Cada cámara está dividida en 25 cuadrados grandes los cuales se subdividen en 16 cuadraditos. Se coloca un cubreobjetos sobre los retículos y se carga la cámara tocando con un extremo de la pipeta ambos bordes del cubreobjetos en el lugar donde se contacta con los retículos (una a cada lado). Se cuentan las cabezas de los espermatozoides que se encuentran en 5 cuadrados mayores leídos en diagonal. En el experimento se utilizó una dilución de semen en formol salino bufferado de 1:200 y se obtiene la concentración por mm³ al multiplicar el número total de espermatozoides contados en los 5 cuadrados mayores por 10000 (Rouge, 2002).

6.2.2.3 Porcentaje de espermatozoides vivos y muertos

La determinación del porcentaje de espermatozoides vivos y muertos se realizó mediante la técnica de tinción supravital con eosina y nigrosina descrita por Lasley (1942) (citado por Salisbury, 1978) y Campbell *et al.* (1956), visualizándose a los espermatozoides muertos de color rosado (Rouge, 2006). Se determinó el porcentaje de espermatozoides muertos en un total de 200 células observadas al microscopio con objetivo de inmersión (1000X).

6.2.2.4 Porcentaje de espermatozoides anormales

El porcentaje de espermatozoides con algún tipo de anomalía fue determinado en un total de 200 células espermáticas observadas con objetivo de inmersión (1000X) detallándolas en:

- anomalías de acrosoma
- anomalías de cabeza
- anomalías de pieza media
- anomalías de la cola
- presencia de gotas citoplasmáticas proximales y distales.

El microscopio que se utilizó para la observación de las distintas variables es de la marca NIKON OPTIPHOT.

6.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA; versión 9.1.3).

La unidad experimental fue cada carnero y la asignación de los mismos fue completamente al azar, quedando 20 carneros en el tratamiento control y 15 en el tratamiento suplementado. Las variables peso, condición corporal, concentración espermática, porcentaje de espermatozoides muertos y con anormalidades fueron analizados usando un modelo lineal general (procedimiento GLM) que incluyó los siguientes efectos: tratamiento, fecha de medición y la interacción tratamiento x fecha de medición, y en el caso de la variable condición corporal y circunferencia escrotal, el valor medido previo al inicio del experimento se utilizó como covariable. Las variables expresadas como porcentaje (porcentaje de espermatozoides muertos y con anormalidades) y concentración espermática fueron previamente transformadas para obtener una distribución normal de los residuales.

Los resultados se presentan como medias de mínimos cuadrados \pm error estándar de la media. En el caso de las variables transformadas los resultados que se presentan son las medias de mínimos cuadrados originales. Las medias se compararon usando el test de mínima diferencia significativa, y la significancia fue declarada con una probabilidad $< 0,05$, y la tendencia con una probabilidad $< 0,10$.

Las variables motilidad de masa, motilidad individual y tono testicular tienen una distribución binomial y fueron analizadas con el test exacto de Fisher (procedimiento FREQ) para cada fecha de medición por separado.

Se determinaron correlaciones de Pearson a través de los tratamientos entre las variables concentración de espermatozoides, porcentaje de espermatozoides muertos o anormales, y circunferencia escrotal, utilizando el procedimiento CORR.

7. RESULTADOS

7.1. VARIABLES MEDIDAS EN EL ANIMAL AL DÍA -1

En la medición que se realizó al día - 1, los 35 carneros utilizados en el experimento presentaron una condición corporal, peso vivo y circunferencia escrotal promedios muy similares, lo mismo que la proporción de carneros con un tono testicular igual a 3 (cuadro IV)

Cuadro IV. Condición corporal (CC), peso corporal, circunferencia escrotal (CE) y tono testicular (TT) en el período pre experimental (día - 1) en carneros Merino Australiano

VARIABLES	CONTROL	SUPLEMENTADO	EEM ²
CC (1 a 5)	2,53	2,52	0,05
PESO (Kg.)	40,6	42,6	1,0
CE (cm.)	24,9	24,7	0,5
TT=3 ¹	11/20	7/15	

¹ se presenta como la proporción de carneros que presentaron TT igual a 3.

² EEM equivale al error estándar de la muestra.

7.2. VARIABLES MEDIDAS EN EL SEMEN AL DÍA -1

En la cuadro V se presentan los valores promedios y error estándar de la media (EEM) de inicio correspondientes a las diferentes variables seminales analizadas durante el ensayo no observándose variaciones importantes entre ambos grupos.

Cuadro V. Medias de mínimos cuadrados y error estándar de la media (EEM) para las variables seminales en el período pre experimental (día - 1) en carneros Merino Australiano

VARIABLES	CONTROL	SUPLEMENTADO	EEM
[spz] ¹ x mm ³	1.927.250	2.158.000	225.564
% muertos ²	11,3	10,6	0,6
% Cabezas ³	0,4	0,3	0,1
% PM ⁴	1,0	0,7	0,2
% Colas ⁵	2,0	2,9	0,7
% Acrosomas ⁶	0,5	0,4	0,1
% Gotas ⁷	4,5	3,6	1,2
% AT ⁸	10,1	11,6	1,6
MOT MASA ⁹ =5	1/20	3/15	-
MOT INDIVIDUAL ¹⁰ =80%	1/20	3/15	-

¹ Concentración espermática por mm³

² % de espermatozoides muertos

³ % de cabezas espermáticas anormales

⁴ % de piezas medias anormales

⁵ % de colas espermáticas anormales

⁶ % de acrosomas anormales

⁷ % de gotas citoplásmicas

⁸ % de anomalías espermáticas totales

⁹ Proporción de carneros con motilidad de masa=5

¹⁰ Proporción de carneros con motilidad individual = 80

7.3. CONSUMO DEL SUPLEMENTO MINERAL Y VITAMÍNICO

El consumo de suplemento al día 51 del período experimental fue de 70 ± 9 g por carnero y por día.

7.4. VARIABLES MEDIDAS EN EL ANIMAL DURANTE EL EXPERIMENTO

En el cuadro VI se muestran los valores promedio y el error estándar de la media para las variables condición corporal, peso y circunferencia escrotal, registrados para ambos tratamientos durante el experimento.

Cuadro VI. Medias de mínimos cuadrados y prueba de F para las variables: condición corporal (CC), peso corporal y circunferencia escrotal (CE) medidas en carneros Merino Australiano durante el experimento

VARIABLE	CONTROL	SUPLEMENTADO	EEM ¹	TRAT ²	FECHA ³	TRAT X FECHA ⁴
CC (1 a 5)	2,71	2,80	0,03	ns ⁵	0,004	ns
PESO (Kg.)	44,0	43,9	0,7	ns	<0,001	ns
CE (cms.)	27,6	27,1	0,35	ns	0,003	<0,001

¹ error estándar de la media

² efecto tratamiento

³ efecto fecha

⁴ interacción tratamiento-fecha

⁵ efecto no significativo ($p > 0,05$)

No hubo efecto de la suplementación sobre ninguna de estas variables ($p > 0,05$). Por otra parte, se detectó un efecto significativo de la fecha de medición para estas variables, así como una interacción significativa entre tratamiento y fecha de medición para la variable circunferencia escrotal. Si bien no hubo diferencias entre tratamientos al día -1 del experimento, los carneros suplementados tuvieron mayor circunferencia escrotal al día 17, pero luego fue menor al día 34 y 51, respecto a los carneros del tratamiento control (figura 3). Independientemente de los tratamientos, el peso de los carneros se incrementó entre el día 17 y 34 del experimento, para descender al final del mismo (figura 4).

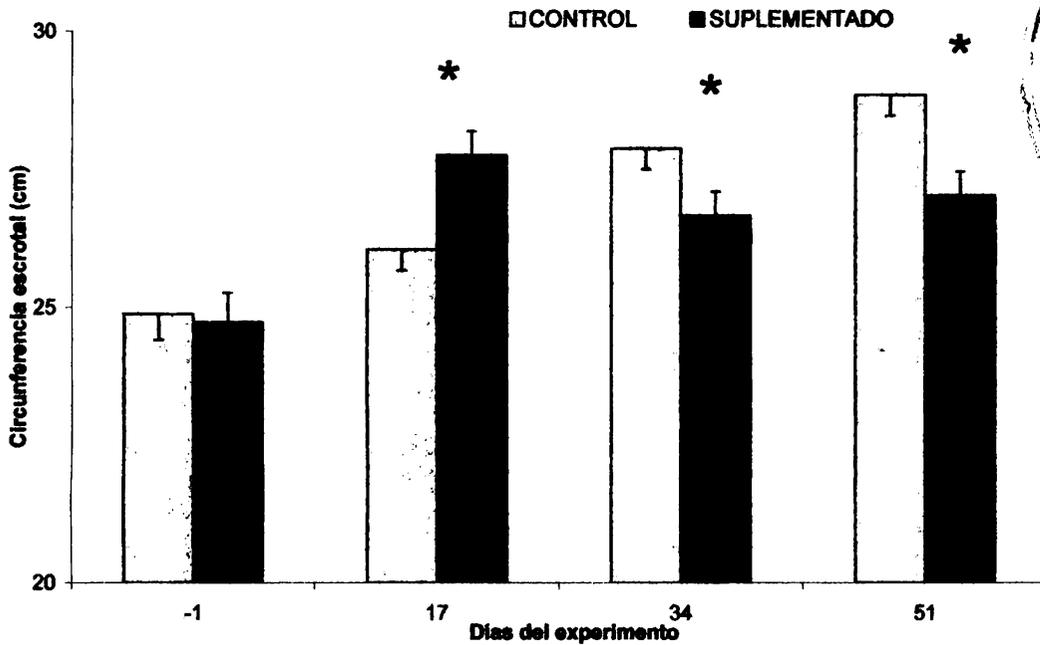


Figura 3 . Evolución de la circunferencia escrotal desde el día -1 (período pre experimental) al día +51 (período experimental) de los carneros Merino pertenecientes a los tratamientos control y suplementado (los asteriscos sobre las barras indican diferencias significativas entre tratamientos para cada fecha, $p < 0,05$).

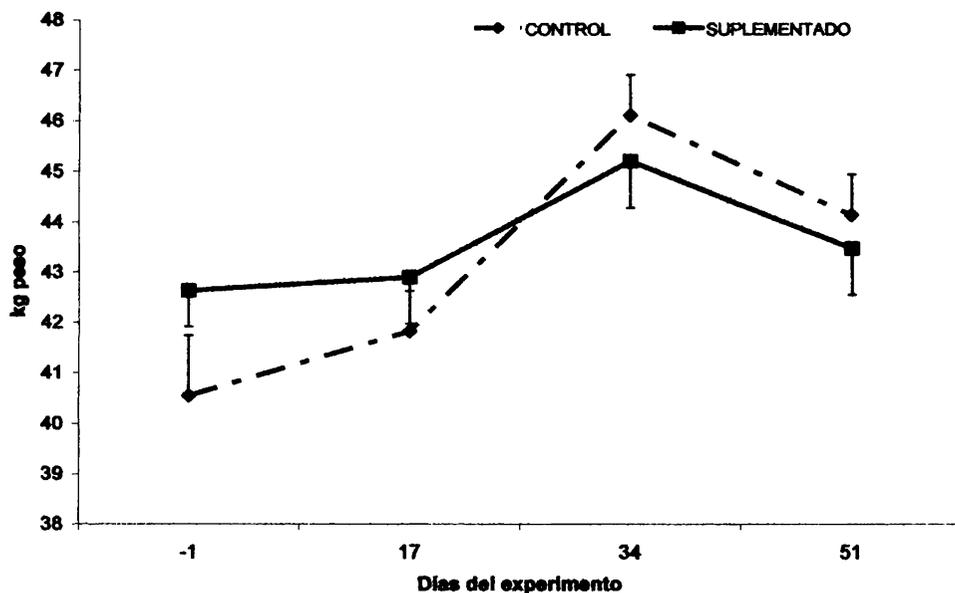


Figura 4. Evolución del peso corporal desde el día -1 (período pre experimental) al día +51 (período experimental) de los carneros Merino pertenecientes a los tratamientos control y suplementado.

7.5. VARIABLES MEDIDAS EN EL SEMEN DURANTE EL EXPERIMENTO

En el cuadro VII se presentan los valores correspondientes a las variables seminales durante el experimento que incluyen: error estándar de la medio (EEM), efectos tratamiento (TRAT), fecha del muestreo (FECHA) e interacción tratamiento por fecha (TRAT x FECHA). Se registró un efecto significativo de la suplementación sobre las variables: concentración espermática, porcentaje de espermatozoides con anomalías a nivel de acrosoma, pieza media ($p < 0,001$ para las tres primeras variables) y anomalías totales ($p < 0,05$) (cuadro VII, figuras 5 y 6). En el caso de la variable porcentaje de espermatozoides muertos se registró una tendencia hacia un efecto de la suplementación ($p = 0,057$) y un efecto significativo de la fecha de medición ($p < 0,001$); respecto a esto último, los porcentajes de espermatozoides muertos disminuyeron en ambos tratamientos (desde 11,7% a 9,2%) para mantenerse luego constantes.

Para todas las variables mencionadas, los carneros suplementados presentaron menores porcentajes de estas anomalías respecto a los carneros del tratamiento control, a pesar de haber partido de valores similares al día -1. Por ejemplo, la variable concentración espermática promedio durante el experimento fue 65% superior en los animales del tratamiento suplementado respecto al control, los que mantuvieron niveles similares a los medidos en el período preexperimental (figura 5). Por otra parte, se registró una interacción entre los efectos suplementación y fecha de medición para la variable porcentaje de anomalías en la cabeza ($p < 0,05$) (cuadro VII).

Cuadro VII. Medias de mínimos cuadrados y prueba de F para las variables seminales en carneros Merino Australiano durante el experimento

VARIABLE	CONTROL	SUPLEMENTADO	MEDICIÓN	TRAT	FECHA	TRAT x FECHA
¹ [spz] x mm ³	2383000	3943370	178085	<0,001	ns ⁹	ns
% muertos ²	9,96	8,60	0,45	0,057	<0,001	ns
% cabezas ³	0,75	0,53	0,08	ns	ns	0.031
% PM ⁴	0,84	0,24	0,08	<0,001	ns	ns
% colas ⁵	1,86	1,47	0,31	ns	ns	ns
% acrosomas ⁶	0,45	0,19	0,05	<0,001	ns	ns
% gotas ⁷	4,96	3,59	0,72	ns	ns	ns
% AT ⁸	10,14	6,99	1,06	0,034	ns	ns

¹ Concentración espermática por mm³
² % de espermatozoides muertos
³ % de cabezas espermáticas anormales
⁴ % de piezas medias anormales
⁵ % de colas espermáticas anormales
⁶ % de acrosomas anormales
⁷ % de gotas citoplásmicas
⁸ % de anomalías espermáticas totales

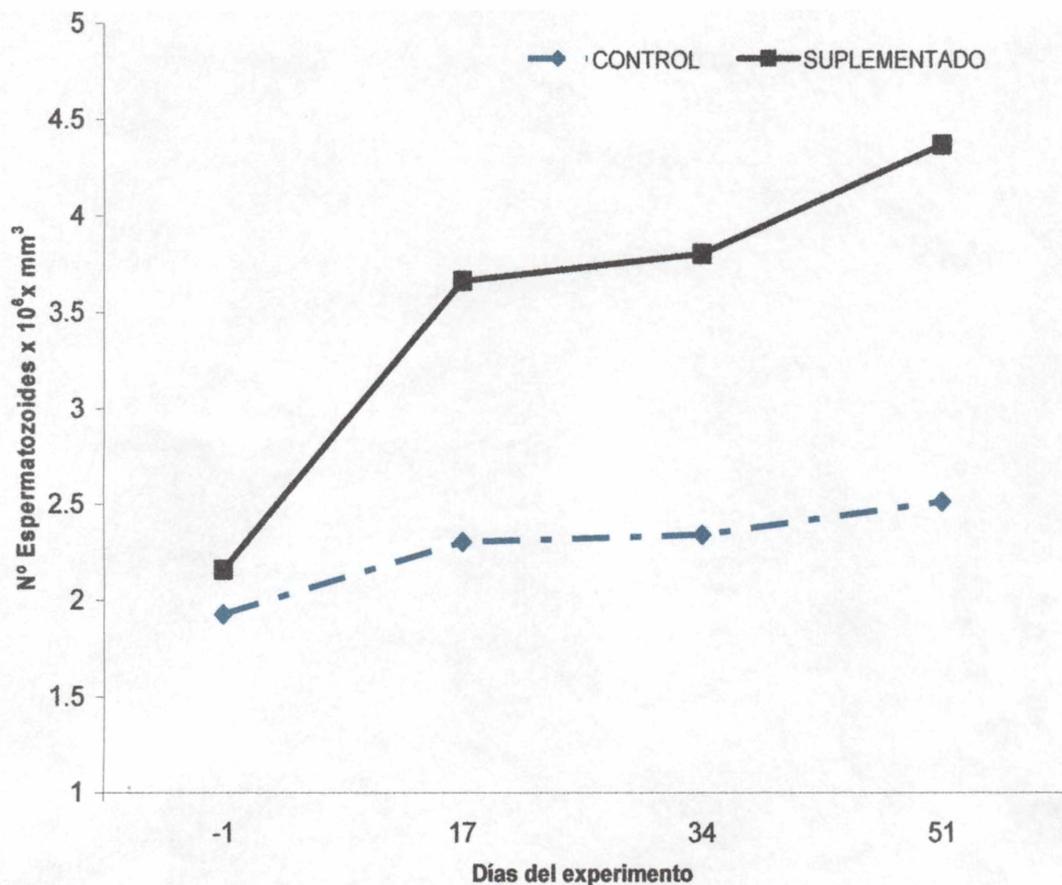


Figura 5. Concentración espermática en carneros de los tratamientos Control y Suplementado al día -1 y durante el experimento (días + 17, +34 y +51).

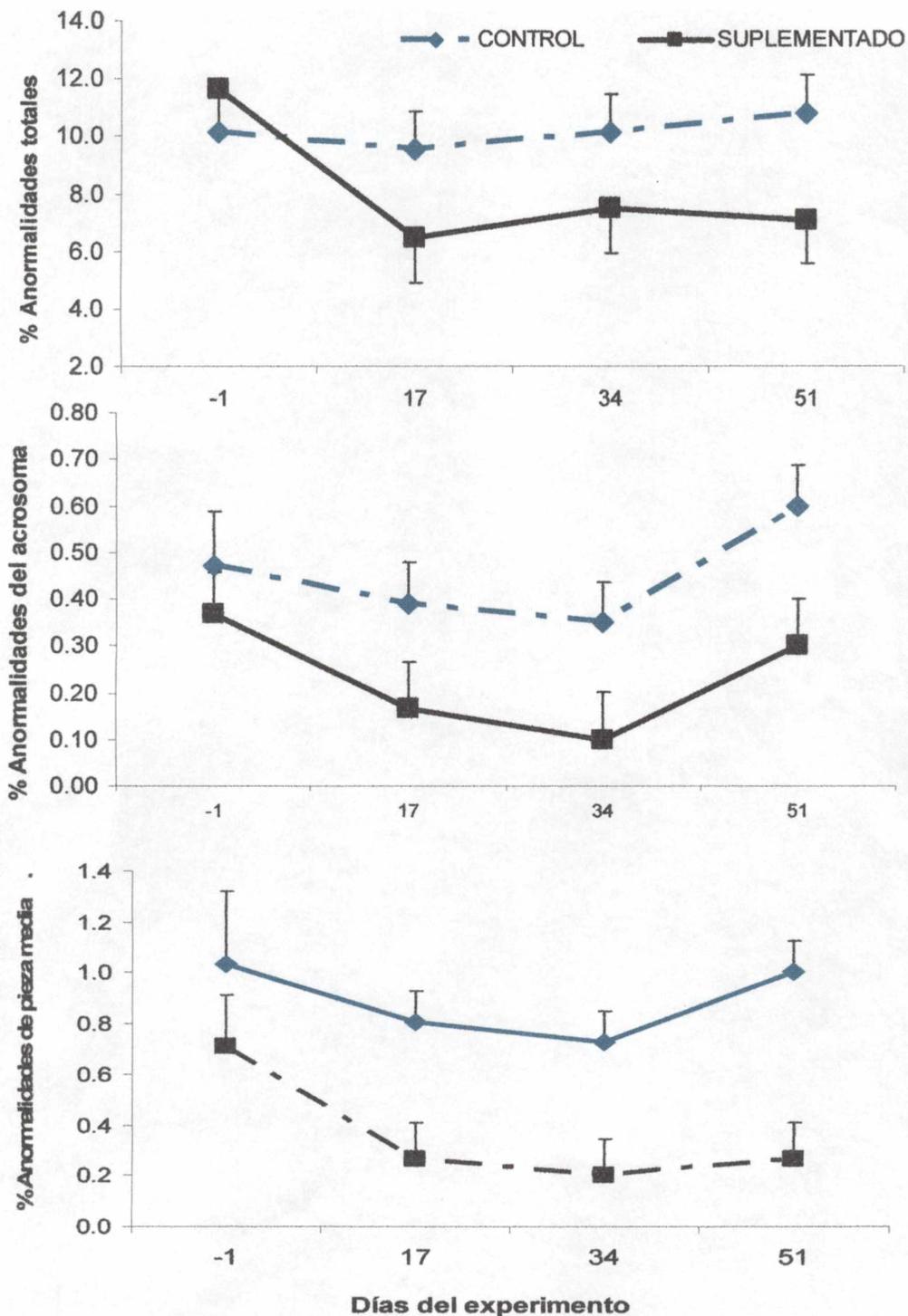


Figura 6: Porcentaje de anomalías espermáticas totales (panel superior), porcentaje de anomalías del acrosoma espermático (panel medio) y porcentaje de anomalías de la pieza media espermática (panel inferior) durante el período pre experimental (día -1) y durante el período experimental (días +17, +34 y +51) para los tratamientos Control y Suplementado.

7.6. VARIABLES DISCRETAS MEDIDAS DURANTE EL EXPERIMENTO

En el cuadro VIII se presentan las proporciones obtenidas para las variables discretas medidas durante el experimento: tono testicular, motilidad de masa y motilidad individual. La motilidad individual no es una variable discreta pero se consideró de esa forma por haberse obtenido dos únicos valores durante el experimento (70 u 80 %).

No se registraron efectos significativos del tratamiento sobre el tono testicular aunque sí hubo efecto sobre las otras dos variables, presentando el tratamiento suplementado una mayor proporción de careros con motilidad individual de 80% y con motilidad de masa de 5 durante todas las mediciones del experimento ($p < 0,05$ para ambas variables).

Cuadro VIII . Test exacto de Fisher para las variables discretas tono testicular, motilidad de masa y motilidad individual según tratamiento y fecha de medición.

TRATAMIENTOS y VARIABLES	MUESTREOS		
	+17	+34	+51
Tono testicular¹			
CONTROL	10/20	8/20	12/20
SUPLEMENTADO	9/15	10/15	10/15
p>F	ns ⁴	ns	ns
Motilidad de masa²			
CONTROL	6/20	9/20	8/20
SUPLEMENTADO	11/15	12/15	14/15
p>F	0,0176	0,0461	0,015
Mot individual³			
CONTROL	6/20	9/20	8/20
SUPLEMENTADO	11/15	12/15	14/15
p > F	0,0176	0,0461	0,015

¹ Proporción de careros con tono testicular 3

² Proporción de careros con motilidad de masa = 5 (escala de 1 a 5)

³ Proporción de careros con motilidad espermática individual = 80 % (Movimiento rectilíneo uniforme)

⁴ Efecto del tratamiento no significativo

Partiendo de valores muy similares, la motilidad individual y de masa (figura 7) presentaron un aumento en el tratamiento suplementado mientras que en el tratamiento control mantuvo niveles muy similares al período pre experimental y disminuyendo hacia el final del mismo.

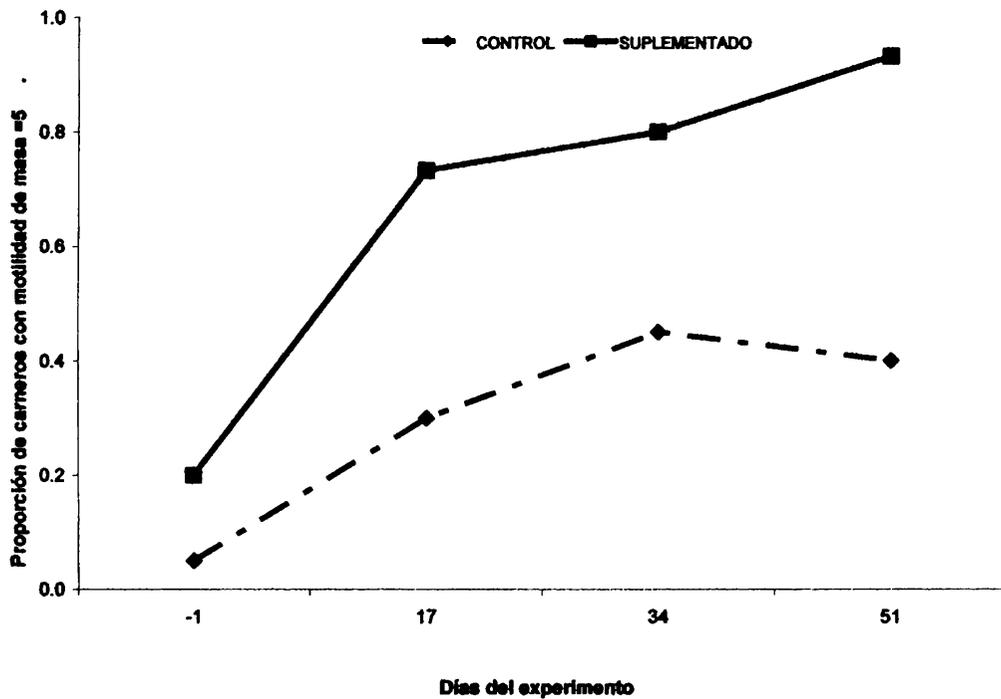


Figura 7: Proporción de carneros con una motilidad de masa en el semen de 5 (escala de 1 a 5) según tratamiento.

7.7. CORRELACIONES DE PEARSON ENTRE VARIABLES

Considerando todos los carneros, independientemente de los tratamientos, se detectó una correlación negativa y significativa entre la concentración de espermatozoides y el porcentaje de anomalías espermáticas totales, en especial con las anomalías de acrosoma y pieza media. También se encontró una correlación positiva y significativa entre tipos específicos de anomalías, como por ejemplo, entre anomalías en la cola y la presencia de gotas citoplasmáticas, o entre defectos en el acrosoma y en la pieza media. Por otro lado se registró una correlación significativamente negativa entre la concentración espermática y la circunferencia escrotal y una correlación positiva entre el peso corporal y la circunferencia escrotal (cuadro IX; $p < 0,05$ para todas las correlaciones mencionadas).

Cuadro IX. Correlaciones de Pearson entre variables de semen y variables medidas en los carneros a través de los tratamientos durante el experimento (el valor en la tabla indica el coeficiente de correlación, y los asteriscos indican la $p > F$).

VARIABLES	[SPZ] ¹	A.T.	ACROS	PM ³	COLA	GOTAS	PESO	CE
[spz] ¹		-0,40024*	-0,40511*	- 0,45661**				
A.T.			0,52232**		0,45628***	0,81778***		- 0,17072*
Acrosoma				0,50585*		0,39391*		
PM ³								
Cola						0,40964*		
Gotas								
Peso								0,23550*
CE								

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

² Porcentaje de anomalías espermáticas totales

¹ Concentración de espermatozoides por ml

³ Porcentaje de piezas medias anormales

8. DISCUSIÓN

Los resultados de este experimento demostraron que la suplementación de carneros Merino Australiano pastoreando campo natural sobre Areniscas entre los meses de mayo y julio en Uruguay con minerales y vitaminas tuvo efectos positivos sobre la calidad del semen sin modificar la circunferencia escrotal, el tono testicular, el peso o la condición corporal de los animales.

Las variables condición y peso corporal no fueron afectadas por los tratamientos, aunque registraron una variación significativa según fecha de extracción. Estos cambios podrían haberse debido a variaciones en el consumo de forraje (que no fue medido) durante el período experimental, ya que el potrero donde los carneros pastorearon era muy grande y es posible que hubiera una amplia variación en la oferta de pastura en distintas partes del mismo (asociado a la variabilidad de suelos, Durán, 1991). Tampoco se puede descartar que parte de dicha variación haya sido debida a cambios en las condiciones climáticas (que no fueron registradas). Por otra parte, no se pudo encontrar una respuesta clara a las variaciones en la circunferencia escrotal de los carneros en los tratamientos.

La falta de efecto de la suplementación con minerales y vitaminas sobre la circunferencia escrotal en este experimento coincide con los resultados de Mesáros *et al.* (1999), quienes no observaron diferencias en esta variable al administrar zinc parenteralmente a carneros (aunque sí observaron efectos positivos sobre la calidad seminal de dichos animales), y discrepa con lo reportado por Masters *et al.* (1988), quienes observaron un aumento en el tamaño testicular de carneros Merino debido a la suplementación con manganeso en la dieta. Las variaciones entre experimentos podrían estar asociadas a las cantidades utilizadas de suplemento, la forma de suplementación, y sobre todo, el o los minerales y/o vitaminas evaluado en cada uno de ellos.

Se observó que en el tratamiento suplementado hubo un aumento de la concentración espermática, lo que coincide con lo reportado por Elhordoy *et al.*, (2006), quienes suplementaron carneros Corriedale con el mismo suplemento utilizado en este experimento durante 45 días. La mayor concentración espermática en el tratamiento suplementado respecto al control podría explicarse por el aporte de macrominerales como calcio y magnesio, ya que tanto Abdel-Rahman *et al.* (2000) como Kaludin y Dimitrova (1986) observaron una correlación positiva entre el nivel de estos minerales en el semen y la concentración espermática de carneros en pastoreo.

La mayor concentración espermática de los carneros suplementados en este experimento también podría haber sido causada por microminerales como zinc y cobre, cuya carencia se ha asociado a una disminución de la concentración espermática en rumiantes (Cigánková *et al.*, 1997 citado por Mesáros *et al.*, 1999; Tedó y Casas, 2004), o la vitamina A, ya que según Jubb y Kennedy (1970, citados por Hafez y Hafez, 2005), su carencia provocaría degeneración testicular y consecuentemente la presencia de un eyaculado menos concentrado. Por otra parte, Sapsford (1951) señaló que carneros consumiendo una dieta deficiente en vitamina A, presentaron una baja concentración espermática. Hay que señalar que es posible que las pasturas secas o de baja calidad pueden ser deficientes en vitamina A (Huber, 1993), y que ello podría ocurrir en el campo natural en Uruguay durante el invierno, cuando la calidad del campo natural es baja (Pigurina *et al.*, 1998).

En el experimento, se observó un aumento de la concentración en el tratamiento suplementado al día 17, lo cual es muy pronto considerando la duración de la

espermatogénesis (aproximadamente 49 días), y el tránsito y maduración en el epidídimo, que dura 16 días en el carnero (Hafez y Hafez, 2005), no encontrándose una respuesta a este resultado.

La mayor motilidad espermática individual y de masa en el tratamiento suplementado podría ser debida al efecto de minerales como el magnesio, cloro, y el fósforo, cuya concentración en el plasma seminal de carneros está correlacionada positivamente con dicha variable (Kaludin y Dimitrova, 1986; Abdel-Rahman *et al.*, 2000). El fósforo podría intervenir a través de su papel en el metabolismo energético de la célula espermática (Forero, 2004). Asimismo, Kendall *et al.*, (2000) reportaron que la suplementación con zinc, cobalto y selenio tuvo un efecto positivo sobre estas variables. En particular, la carencia de zinc ha sido asociada a una disminución de la motilidad espermática en rumiantes (Griveau y Le Lannou, 1997, citado por Oliveira, *et al.*, 2002), mientras que el selenio tendría un efecto positivo sobre la motilidad espermática, ya que forma parte de la enzima glutatión peroxidasa, cuya presencia en el semen mejora dicha variable (Maxwell y Stojanov, 1996). Otro mineral que podría estar involucrado en estos resultados es el cobre, ya que según Schingoethe *et al.* (1993), toros suplementados con este mineral presentaron un aumento en la motilidad espermática, así como una disminución en el porcentaje de espermatozoides muertos. El manganeso también podría estar influenciando ya que forma parte de la superóxido dismutasa mitocondrial adonde se desarrolla el metabolismo energético de la célula espermática (Marín Guzmán, *et al.*, 2000) y por lo tanto disminuiría el efecto negativo de las especies de oxígeno reactivas sobre este organelo citoplasmático y consecuentemente sobre la motilidad del espermatozoide.

Cabe destacar que de acuerdo a varios autores nacionales (Cuenca, *et al.*, 1981; Sosa y Guerrero, 1983; Fernández, *et al.*, 1983; Pigurina, *et al.*, 1998; Piaggio y Uriarte, 2005), la mayoría de los suelos del país son deficientes en fósforo y zinc, y posiblemente en cobre y magnesio, todos minerales que han demostrado tener efectos positivos sobre las variables de calidad seminal hasta ahora mencionadas en rumiantes.

Las vitaminas hidrosolubles como la B1 (tiamina) y la B2 (riboflavina) podrían haber influido sobre la motilidad espermática, ya que presentan una correlación positiva con dicha variable en rumiantes (Salisbury, 1978). La vitamina A también podría estar implicada ya que su deficiencia, según Jubb y Kennedy (1970, citados por Hafez y Hafez, 2005) causa una disminución de la motilidad espermática.

Según Elhordoy *et al.* (2006), la suplementación de carneros Corriedale con el mismo suplemento utilizado en este experimento durante 45 días causó una disminución en el porcentaje de anomalías espermáticas totales así como en el porcentaje de espermatozoides muertos. Sin embargo, los autores no pudieron atribuirlo a ningún mineral o vitamina específico.

El mayor porcentaje de espermatozoides vivos en el tratamiento suplementado respecto al control observado en este experimento coincide con los resultados del experimento realizado por Kendall *et al.* (2000), quienes al suplementar un grupo de carneros jóvenes con bolos de zinc, cobalto y selenio reportaron un mayor porcentaje de espermatozoides vivos al compararlos con un tratamiento testigo. Considerando que una de las causas de muerte de los espermatozoides son las reacciones de oxidación que provocan daños a las membranas lipídicas de estas células (Kessopoulov *et al.* 1992, citado por Maxwell y Stojanov 1996), y que elementos como el zinc (Maxwell y Stojanov, 1996), el selenio (López Alonso, *et al.*, 1997), y también el cobre (McDonald *et*

al., 2002a) forman parte de antioxidantes presentes en el semen (como la glutación peroxidasa en el caso del selenio y de la superóxido dismutasa en el caso del cobre y el zinc), la presencia de los mismos en el suplemento utilizado podría explicar parcialmente los resultados obtenidos.

Otro elemento que podría explicar el menor porcentaje de espermatozoides muertos en los carneros suplementados es el calcio, cuya concentración en el plasma seminal de carneros tiene una correlación positiva con el porcentaje de espermatozoides vivos (Abdel-Rahman *et al.*, 2000). De todos modos, hay que señalar que en general los suelos del Uruguay y posiblemente las pasturas naturales no son deficientes en calcio, al menos para satisfacer los requerimientos de bovinos y ovinos (Orcasberro, 1997), aunque podrían ser deficientes para lograr un óptimo desempeño en algunos casos particulares.

La disminución en el porcentaje de espermatozoides anormales en el tratamiento suplementado detectada en este experimento podría ser atribuible al efecto del selenio presente en el suplemento, ya que es un componente estructural de la célula espermática y su deficiencia está asociada a un aumento en las anomalías espermáticas en rumiantes, principalmente de cola y pieza media (Smith *et al.*, 1978; López Alonso, *et al.*, 1997). Asimismo, Abdel-Malak (2004) indicó la existencia de una correlación negativa entre la concentración de vitamina E en el plasma seminal de carneros y el porcentaje de anomalías a nivel de acrosoma, mientras que Gokcen *et al.* (1990) observaron una mejora en la calidad de semen de carneros Merino suplementados con selenio y vitamina E, respecto a animales no suplementados. Estos resultados sugerirían que la vitamina E, sola o en conjunto con el selenio, también podría estar implicada en la reducción en el porcentaje de anomalías (particularmente en el acrosoma y pieza media) observado en este experimento. Por otra parte el aumento observado en el porcentaje de espermatozoides anormales hacia el final del período experimental podría ser explicado por el fin de la estación reproductiva para la raza Merino Australiano, utilizada en este experimento y que va de noviembre a agosto (Aguilar, 2007), aunque el tratamiento suplementado mantuvo porcentajes significativamente más bajos lo que podría atribuirse al efecto del suplemento mineral y vitamínico.

Abdulkareem *et al.*, (2005), en un experimento realizado con carneros mantenidos sobre pasturas secas a los cuales los dividió en un grupo control y dos suplementados con diferentes niveles de vitamina A, reportó que los animales pertenecientes al primero de los grupos citados presentaron un mayor porcentaje de espermatozoides anormales, principalmente a nivel de cabeza, pieza media y cola respecto a los suplementados, lo que en parte coincide con los resultados obtenidos en este experimento en lo que a anomalías espermáticas totales y a nivel de pieza media se refiere. Asimismo, Jubb y Kennedy (1970, citados por Hafez y Hafez, 2005) reportaron que una deficiencia de vitamina A causa un aumento del porcentaje de espermatozoides anormales en rumiantes.

En el experimento no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de gotas citoplasmáticas entre ambos grupos contrario a lo reportado por Marin-Guzmán *et al.* (2000) en cerdos, donde la suplementación con dietas fortificadas con selenio y vitamina E redujo los valores de esta variable.

En distintas especies animales, entre ellos los carneros, se ha reportado que la suplementación con selenio, zinc y vitamina A mejora la espermatogénesis, la maduración del espermatozoide y la preservación del epitelio seminífero (Kendall, *et al.*, 2000; Underwood y Suttle, 1999; Rode *et al.*, 1995). Esto no solo explicaría la mayor concentración espermática en los carneros suplementados, sino también el menor

porcentaje de espermatozoides muertos o con anomalías observados en el tratamiento suplementado, aún cuando no se registraron cambios en la circunferencia escrotal, ya que no se estaría aumentando la cantidad de tejido seminífero sino que se mejorarían los procesos de espermatogénesis, maduración del espermatozoide, y de preservación del epitelio seminífero. Asimismo, explicaría por qué los efectos positivos de la suplementación sobre la calidad seminal de los carneros suplementados (en términos de disminución de diversas anomalías espermáticas) se observaron tan pronto como al día 17 luego de iniciada la misma, ya que habría un efecto directo sobre la maduración de los espermatozoides almacenados en el epidídimo.

La correlación negativa encontrada entre la concentración espermática y el porcentaje de anomalías totales coincide con lo reportado por Karagiannidis *et al.* (2000) y podría estar explicando parcialmente el menor porcentaje de anomalías espermáticas totales encontradas en el grupo suplementado. Dentro de las anomalías, las que se correlacionaron significativamente con la concentración fueron las observadas a nivel de acrosoma y pieza media (de forma positiva), mientras que no se registraron correlaciones con las demás anomalías espermáticas. Por otra parte se registraron correlaciones positivas y significativas entre el porcentaje de anomalías espermáticas totales y los porcentajes de anomalías espermáticas a nivel de acrosoma, cola y presencia de gotas citoplasmáticas. También se observó una correlación negativa entre el porcentaje de anomalías espermáticas totales y la circunferencia escrotal, y una correlación positiva entre el peso corporal y la circunferencia escrotal, coincidiendo con lo reportado por Fernández Abella *et al.* (1992), quienes en carneros adultos encontraron una correlación positiva entre peso y volumen testicular. Para las demás correlaciones encontradas en este experimento no se encontraron referencias bibliográficas.

9. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este experimento permiten concluir que la suplementación de carneros Merino Australiano pastoreando campo natural sobre suelos de Areniscas en Paysandú entre los meses de mayo y julio con un compuesto en base a minerales y vitaminas, tuvo efectos positivos sobre la concentración, motilidad espermática (de masa e individual) y el porcentaje de anormalidades totales, en particular a nivel de acrosoma y pieza media, sin cambios en el peso, condición corporal o circunferencia escrotal. Si bien se conoce que muchos de los minerales y vitaminas incluidos en el suplemento tienen efectos positivos sobre distintos aspectos de la calidad seminal de carneros, el diseño del experimento no permitió determinar cual o cuales de estos minerales y/o vitaminas fueron responsables de los resultados obtenidos. Por lo tanto, sería beneficioso realizar otros experimentos que permitiera evaluar el efecto específico de determinados minerales y vitaminas, así como utilizar otras pasturas sobre otros tipos de suelos, en otras razas ovinas, y además, realizar el seguimiento de los carneros por un período mayor.



10. BIBLIOGRAFÍA

- 1) ABDEL-MALAK, MJ. (2004) The importance of zinc and vitamin E in buffalo seminal plasma. *Assiut Veterinary Medical Journal*; 102:386-400.
- 2) ABDEL-RAHMAN HA, EL-BELELY MS, AL-QARAWI AA, EL-MOUGY SA. (2000) The relationship between semen quality and mineral composition of semen in various ram breeds. *Small Ruminant Research*; 38:45-49.
- 3) ABDULKAREEM TA, AL-HABOBY AH, AL-MJAMEI SM, HOBI AA. (2005) Sperm abnormalities associated with vitamin a deficient in rams. *Small Ruminant Research*; 1:67-71.
- 4) AGUILAR, DE. (2007) Preparando el servicio de la majada. Disponible en URL: www.cuencarural.com. Fecha de consulta: 22 de julio de 2007.
- 5) AMMERMAN CB, GOODRICH RD. (1983) Advances in mineral nutrition in ruminants. *Journal of Animal Science*; 57, Supp 2:519-533.
- 6) ARROYO G, MAUER E. (1982) Efecto de la suplementación mineral sobre el comportamiento reproductivo y evolución del peso en vacas de cría Hereford y su relación con la concentración mineral en el suero y tejidos de reserva y estudio del aporte de minerales por las praderas naturales del noreste uruguayo. Tesis de Facultad de Agronomía, 231p.
- 7) AUDET JP, LAFOREST GP, MARTINEAU, MATTE JJ. (2004) Effect of vitamin supplements on some aspects of performance, vitamin status, and semen quality in boars. *Journal of Animal Science*; 82:626-633.
- 8) BARKER, CAV. (1958) The collection of semen from bulls, rams and bucks by electro-ejaculator. *Canadian Journal of Comparative Medicine*; 1:3-9.
- 9) BARTH AD, OKO RJ. (1989) Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa. EE.UU., Ed. Iowa State University Press, 285p.
- 10) BATON ROUGE, LA. (2006) Disponible en URL: www.vet.med.lsu.edu/Importantinformation.htm. Fecha de consulta: 23 de Marzo de 2006.
- 11) CAMPBELL RC, DBTT HM, GLOVER TD. (1956) Nigrosin – eosin as stain for differentiating live and dead spermatozoa. *Journal of Agricultural Science*; 48:1-8.
- 12) CASTRILLEJO, A. (1990) Relevamiento clínico de aptitud reproductiva en carneros. *Veterinaria (Montevideo)*; 108:12-19.
- 13) COLE HH, CUPPS PT. (s.a.) Reproducción de los animales domésticos. 3a. ed. España, Ed. Acribia, 551p.

- 14) CUENCA L, FERNANDEZ A, ALONSO T, DECIA C. (1981) Niveles de minerales en las pasturas y tejidos de bovinos de carne en el Uruguay. *Veterinaria* (Montevideo); 71:103-109.
- 15) DE ALBA J. (1971) Vitaminas y minerales. En: DE ALBA J. *Alimentación del ganado en América latina*. 2a. ed. México, Ed. Fournier, pp.77-125.
- 16) DICOSE. (2006) Total nacional 06. Disponible en URL: www.mgap.gub.uy/dicose/totalnacional06.pdf. Fecha de consulta: 4 de Mayo de 2007.
- 17) DIEA-MGAP. (2003) Aspectos técnicos de la cría de ovinos. En: DIEA-MGAP. *La ganadería en Uruguay, contribución a su conocimiento*. Montevideo, Ed. Estudios agroeconómicos del MGAP, pp.65-75.
- 18) DURAN, A. (1991) *Los suelos del Uruguay*. Montevideo, Ed. Hemisferio Sur, 398p.
- 19) DYCE KM, SACK WO, WENSING CJG. (1999) Pelvis y órganos reproductores masculinos de los rumiantes. En: DYCE KM, SACK WO, WENSING CJG. *Anatomía Veterinaria*. 2a. ed. México, Ed. Mc. Graw-Hill-Iteramericana, pp.795-807.
- 20) EDDY EM, O'BRIEN DA. (1994) The Spermatozoa. En: KNOBIL E, NEIL DJ. *The Physiology of Reproduction*. NY, Ed. Raven Press Ltd., pp.70-91.
- 21) EGAÑA, J. (1995) Minerales: los nutrientes olvidados de la alimentación animal. Disponible en URL: www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D10236%25261SID%253D429,00.html. Fecha de consulta: 1 de Mayo de 2007.
- 22) ELHORDOY D, DE MELLO J. (1998) *Curso de inseminación Artificial en Ovinos*. Montevideo, Ed. Oficina de publicaciones de la Facultad de Veterinaria, 60p.
- 23) ELHORDOY, D. (2004) Diagnóstico clínico y de laboratorio de patologías reproductivas en carneros. *Jornadas de Actualización de los Problemas Reproductivos en Ovinos del MERCOSUR*. Montevideo, pp.76-79.
- 24) ELHORDOY D, ELGARTE J, HERNANDEZ S, GUGGERI D. (2006) Suplementación de sales minerales con oligoelementos zinc, cobalto, selenio y vitaminas sobre características seminales en carneros, previo al servicio. *Jornadas Uruguayas de Buiatría*. XXXIV, Paysandú, pp.189-191.
- 25) FERNANDEZ A, ALONSO T, DECIA JC. (1983) Contenido de minerales en forraje de campo natural en Uruguay. Sheil Uruguay Ltd. Y Centro de Investigaciones Veterinarias "Miguel C. Rubino", [4p].

- 26) FERNANDEZ ABELLA D, VILLEGAS N. (1992) Evaluación de diferentes técnicas de medición de la talla testicular y la producción de semen de carnero. *Boletín técnico de ciencias biológicas*; 2:71-75.
- 27) FERNANDEZ ABELLA, D. (1995) Inseminación artificial en ovinos. En: Fernández Abella, D. *Temas de reproducción ovina e inseminación artificial en bóvidos y ovinos*. Montevideo, Ed. Departamento de publicaciones de la Universidad de la república y Departamento de publicaciones de la Facultad de Agronomía, pp.95-131.
- 28) FORERO, LE. (2004) Fallas reproductivas asociadas a deficiencias de microminerales: caso colombiano. Disponible en URL: www.produccion-animal.com.ar/bovinos/minerales.pdf. Fecha de consulta: 29 de agosto de 2007
- 29) FOSTER R, HOFFMAN D, BRIGGS GD. (1989) The relationship of scrotal circumference to testicular weight in rams. *Veterinary Journal*; 66:20-22.
- 30) GALOWAY, DB. (1982) Aptitud reproductiva del carnero y factores que afectan la fertilidad. *Jornadas Uruguayas y Latinoamericanas de Buiatría*. Paysandú, pp.J-1-J-26.
- 31) GIL, J. (2002) El espermatozoide desde la espermiación hasta la fecundación. En: Ungerfeld, R. *Reproducción de los animales domésticos*, Tomo I. Montevideo, Ed. Melibea Ediciones, pp.93-111.
- 32) GOKCEN H, CAMAS H, ERDING H, ASTI R, CEKGUL E, SENER E. (1990) Studies on the effects of vitamin E and Selenium added to the ratio non acrosome morphology enzyme activity and fertility of frozen ram spermatozoa. *Turk veterinerlik re Hayvancilik Dergisi*; 2:207-218. (Abstract).
- 33) GUEGUEN L, LAMAND M. (1981) Minerales. En: INRA. *Alimentación de los rumiantes*. Madrid, Ed. Mundi – Prensa, pp.141-175.
- 34) HAFEZ, ESE. (1996) *Reproducción e inseminación artificial en animales*. 6a. ed. México, Ed. Nueva Editorial Interamericana, 542p.
- 35) HAFEZ ESE, HAFEZ B. (2005) *Reproducción e inseminación artificial en animales*. 7a. ed. México, Ed. McGraw Hill, 519p.
- 36) HIDIROGLOU M, KNIPFEL JE. (1984) Zinc in mammalian sperm: a review. *Journal of Dairy Science*; 6:1147-1156.
- 37) HUBER, JT. (1993) Vitamins in Ruminant Nutrition. En: Church, DC. *The ruminant animal, Digestive Physiology and Nutrition*. EE.UU., Ed. Waveland Press INC, pp.313-325.

- 38) **KALUDIN I, DIMITROVA I. (1986) Dependence between the magnesium and calcium content of the spermatozoa of rams and their motility. Veterinary Medicine Nauki; 2:22-33. (Abstract).**
- 39) **KENDALL NR, MCMULLEN S, GREEN A, RODWAY RG. (2000) The effect of a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus on trace element status and semen quality of ram lambs. Animal Reproduction Science; 62:277-283.**
- 40) **KINCAID, R. (1993) Macroelements for Ruminants. En: Church, DC. The ruminant animal, Digestive Physiology and Nutrition. EE.UU., Ed. Waveland Press INC, pp.326-341.**
- 41) **LEE J, KNOWLES SO, JUDSON GJ. (2002) Trace - element and vitamin nutrition of grazing sheep. En: Lee J, Knowles, SO, Judson, GJ. Sheep Nutrition. Australia, Ed. CAB International, pp.285-311.**
- 42) **LIVERA G, ROUILLER-FABRE V, PAIRAULT C, LEVACHER C, HABERT R. (2002) Regulation and perturbation of testicular functions by vitamin A. Reproduction; 124:173-180.**
- 43) **LOPEZ ALONSO M, MIRANDA M, HERNANDEZ J, CASTILLO C, BENEDITO JL. (1997) Glutación peroxidasa (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de selenio en rumiantes. Archivos de Medicina Veterinaria; 2:171-180.**
- 44) **MAHAN D, ZAWADZKI J, GUERRERO R. (2003) Metabolismo mineral y fertilidad del verraco: observaciones de América Latina a Europa. Disponible en URL: www.engormix.com/metabolismo_mineral_fertilidad_verraco_s_articulos_202_PO_R.htm. Fecha de consulta: 9 de Mayo de 2007.**
- 45) **MANN, T. (1974) Secretory function of the prostate, seminal vesicle and other male accessory organs of reproduction. Journal of Reproduction and Fertility; 37:179-188.**
- 46) **MANN T, LUTWACK-MANN C. (1981) Male reproductive function and semen. NY, Ed. Springer-Verlag, 340p.**
- 47) **MARAI FM, EL – DARAWANY AA, ABOU-FANDOUD EL, ABDEL HAFEZ AM. (2003) Egyptian Suffolk rams semen characteristics, scrotal measurements, selenium, melatonin, PGF2 α , heat stress. Journal of Animal and Veterinary Advances; 4:221-224.**
- 48) **MARIN-GUZMAN J, MAHAN DC, PATE JL. (2000) Effect of dietary selenium and vitamin E on spermatogenic development in boars. Journal of Animal Science; 6:1537-1543.**

- 49) MASSÁNYI P, TRANDZIK J, NAD P, KORENEKOVAB, SKALICKÁ M, TOMAN R, LUKAC N, HALO M, STRAPAK P. (2004) Concentration of Copper, Iron, Zinc, Cadmium, Lead, and Nickel in Bull and Ram Semen and Relation to the Occurrence of Pathological Spermatozoa. *Journal of Environmental Science and Health*; 12:3005-3014.
- 50) MASTERS DG, PAYNTER DI, BRIEGEL J, BAKER SK, PURSER DB, AUST J. (1988) Influence of Manganese Intake on Body, Wool and Testicular Growth of Young Rams and on the Concentration of Manganese and the Activity of Manganese Enzymes in Tissues. *Australian Journal of Agriculture Research*; 39:517-524.
- 51) MAXWELL WMC, STOJANOV T. (1996) Liquid storage of ram semen in the absence or presence. *Reproduction*; 6:1013-1020.
- 52) MC DONALD LE. (1989) *Endocrinología veterinaria y reproducción*, 4ª ed. México, Ed. Prensa Técnica, 551p.
- 53) MC DONALD P, EDWARDS RA, GREENHALGH JFD, MORGAN CA. (2002a) *Minerales. Nutrición Animal*. 6a. ed. Zaragoza, Ed. Acribia, pp.91-120.
- 54) MC DONALD P, EDWARDS RA, GREENHALGH JFD, MORGAN CA. (2002b) *Vitaminas. Nutrición Animal*. 6a. ed. Zaragoza, Ed. Acribia, pp.63-87.
- 55) MESAROS P, CIGANKOVA V, BIRES J, LUKACINOVA M. (1999) The influence of the parenteral administration of zinc on the metabolism and seminal fluid of the ram. *Folia Veterinaria*; 1:9-12.
- 56) (MC GOWAN M, GALLOGAY D, TAYLOR E, ENTWISTLE K, JOHNSTON P. (1995) *The veterinary examination of bulls*. Australia, Ed. Lesley Marman AACV, 81p.
- 57) MILLER G, BARTLETT P, ERSKINE R, SMITH K. (1995) Factors affecting serum selenium and vitamin E concentrations in dairy cows. *JAVMA*; 206:1369-1373.
- 58) MILLER, JK. (1993a) Oxidative Stress, Antioxidants, and Animal function. *Journal of Dairy Science*; 76:2812-2823.
- 59) MILLER JK, RAMSEY N. (1993b) The trace elements. En: Church, DC. *The ruminant animal, Digestive Physiology and Nutrition*. EE.UU., Ed. Waveland Press INC, pp.342-400.
- 60) NEATHERY MW, MILLER JW, BLACKMON DM, PATE FM, GENTRY P. (1973) Effects of long term zinc deficiency on feed utilization, reproductive characteristics, and hair growth in the sexually mature male goat. *Journal of Dairy Science*; 56:98-105.

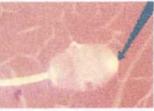
- 61) NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL). (2001) Mineral. En: NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. Nutrient requirements of dairy cattle. 7a. ed. Washington DC., Ed. National Academy Press, pp.105-161.
- 62) O'FLAHERTY C, BECONI M, BEORLEGUI N. (1997) Effect of natural antioxidants, superoxide dismutase and hydrogen peroxide on capacitation of frozen – thawed bull spermatozoa. *Andrología*; 5:269-275. (Abstract).
- 63) OLIVEIRA CEA, BADÚ CA, FERREIRA WM, KAMWA EB, LANA AMQ. (2002) Effects of dietary zinc supplementation on spermatic characteristics of rabbit breeders. Disponible en URL: www.dcam.upv.es/8wrc/docs/Reproduction/Short%20Papers/315-321_olicarp_mod.pdf. Fecha de consulta: 5 de Mayo de 2007.
- 64) ORCASBERRO, R. (1997) Suplementación y performance de ovinos y vacunos alimentados con forrajes. En: INIA. Pasturas y producción animal en áreas de ganadería extensiva, Serie técnica N° 13. 2a. ed. Uruguay, Ed. Unidad de difusión e información de el INIA, pp.225-232.
- 65) PIAGGIO L, URIARTE G. (2005) Nutrición mineral de los ovinos en pastoreo en el Uruguay. *Producción ovina*; 17:5-20.
- 66) FIGURINA G, SOAERES DE LIMA JM, BERRETTA E. (1998) Contenido de minerales en pasturas naturales de basalto. En: INIA. Seminario de Actualización para tecnologías para basalto, Serie técnica 102. Uruguay, Unidad de difusión e información de el INIA, pp.113-122.
- 67) PINEDA MH. (1989) Male reproduction. En: McDonald LE, Pineda MH. *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. 4a. ed. EE.UU., Ed. Lea y Febiger, pp.261-302.
- 68) ROBLES, C. (2004) Salud reproductiva del carnero. Bariloche, Argentina, Ed. INTA – EEA Bariloche, 32p.
- 69) RODE LM, COULTER GH, KASTELIC JP, BALEY DRC. (1995) Seminal quality and sperm production in beef bulls with chronic dietary vitamin A deficiency and subsequent re-alimentation. *Theriogenology*; 43:1269-1277.
- 70) ROUGE, B. (2006) Ram breeding soundness examination. Disponible en URL: www.vetmed.lsu.edu/eiltslotus/theriogenology-5361/ram_2htm. Fecha de consulta: 9 de Mayo de 2007.
- 71) ROUGE, B. (2002) Theriogenology of the male. Disponible en URL: www.vetmed.lsu.edu/eiltslotus/theriogenology-5361/male%20reprod_2.htm. Fecha de consulta: 2 de Enero de 2007.

- 72) ROVIRA, J. (1996) Manejo nutritivo de los rodeos de cría en pastoreo. Montevideo, Ed. Hemisferio Sur, 288p.
- 73) RUSSELL AFJ, DONEY JM, GUNN HE. (1969) Subjective assessment of body fat in the live sheep. *Journal of Agricultural Science*; 72:451-457.
- 74) SALISBURY GW, VAN DEMARK NL, LODGE JR. (1978) La conservación y la inseminación. En: SALISBURY GW, VAN DEMARK NL, LODGE JR. *Fisiología de la reproducción e inseminación artificial de los bovinos*. 2a. ed. España, Ed. Acribia, pp.195-462.
- 75) SAPSFORD CS. (1951) Seasonal changes in spermatogenesis in rams: their relation to plane of nutrition and to vitamin A status. *Australian Journal of Agricultural Research*; 3:331-341.
- 76) SCHINGOETHE DJ, BYERS FM, SCHELLING GT. (1993) Nutrient needs during periods of the life cycle. En: Church, DC. *The ruminant animal, Digestive Physiology and Nutrition*. EE.UU., Ed. Waveland Press INC, pp.421-436.
- 77) SCHOENIAN, S. (2006) Reproduction in the Ram. Disponible en URL: www.sheep101.info/201/ramrepro.html. Fecha de consulta: 9 de Mayo de 2007.
- 78) SIENRA, R. (1987) Deficiencias nutricionales y su relación con la fisiopatología de la reproducción. XI Jornadas de Reproducción Animal. Santa Fe, pp.3-33.
- 79) SMIDT D, ELLEN DORFF M. (1972) Influencia de la alimentación sobre la reproducción. En: *Endocrinología y fisiología de la reproducción de los animales zootécnicos*. España Ed. Acribia, pp.349-355.
- 80) SOSA JC, GUERRERO J. (1983) Composición mineral de forrajes de algunos establecimientos al norte de el Río Negro. *Jornadas Técnicas de Veterinaria*. Montevideo, pp.119-120.
- 81) SUL. (2006) El ingreso de divisas al país por exportaciones del Rubro Ovino totalizaron casi 228 millones de dólares, subieron 10%. Disponible en URL: www.sul.org.uy/mercados/ver.asp?pag=Mercados/1189expesp.htm. Fecha de consulta: 8 de Abril de 2007.
- 82) TEDO G, CASAS J. (2004) Importancia de los aportes de microminerales en la dieta del ganado ovino. Disponible en URL: www.tegasa.com/Notas%20Prensa/Importancia%20de%20los%20aportes%20de%20microminerales%20en%20la%20dieta%20del%20ganado%20ovino.htm. Fecha de consulta: 8 de Abril de 2007.
- 83) TENLIBAEVA, AS. (1991) Vitamin nutrition of breeding rams. *Zootekhniya*; 5:47-48.

- 84) UNDERWOOD EJ, SOMERS M. (1969) Studies of zinc nutrition in sheep, The relation of zinc to growth, testicular development, and spermatogenesis in young rams. *Australian Journal of Agriculture Research*; 20:889-897.
- 85) UNDERWOOD EJ, SUTTLE NF. (1999) *The mineral nutrition of livestock*. 3^a ed. USA, Ed. Wallingford, 614p.
- 86) UNIVERSITY OF WYOMING. (2004) Spermatogenesis. Disponible en URL: www.uwyo.edu/wjm/repro/spermat.htm. Fecha de consulta: 9 de Mayo de 2007.
- 87) WU ASH, OLDFIELD JE, SHULL LR, CHEEKE PR. (1979) Specific Effect of Selenium Deficiency on Rat Sperm. *Biology of Reproduction*; 20:793-798.
- 88) YANGIMACHI, R. (1994) Mammalian fertilization. En: Knobil E, Neil DJ. *The physiology of Reproduction*. NY, Ed. Raven Press Ltd., pp. 105-140.
- 89) ZERVOS JA, TSANTARLIOTOU, VATZIAS G, GOULAS P, KOKOLIS NA, TAITZOGLOU IA. (2005) Effects of dietary vitamin A intake on acrosin and plasminogen activator activity of ram spermatozoa. *Reproduction*; 129:707-715.

ANEXOS

Cuadro: Anormalidades espermáticas

Anormalidad espermática	Foto
Acrosoma nudoso (1)	
Cabeza piriforme (2)	
Cabeza suelta (3)	
Similar a Dag (4)	
Pieza media doble (5)	
Teratoide (6)	
Cola corta (7)	
Cola enrollada (8)	
Cola doblada (9)	
Gota citoplasmática proximal (10)	

¹Fotos Elgarte y Guggeri (2006)

ANEXO B

Cuadro: Zonas de aptitud pastoril en Uruguay

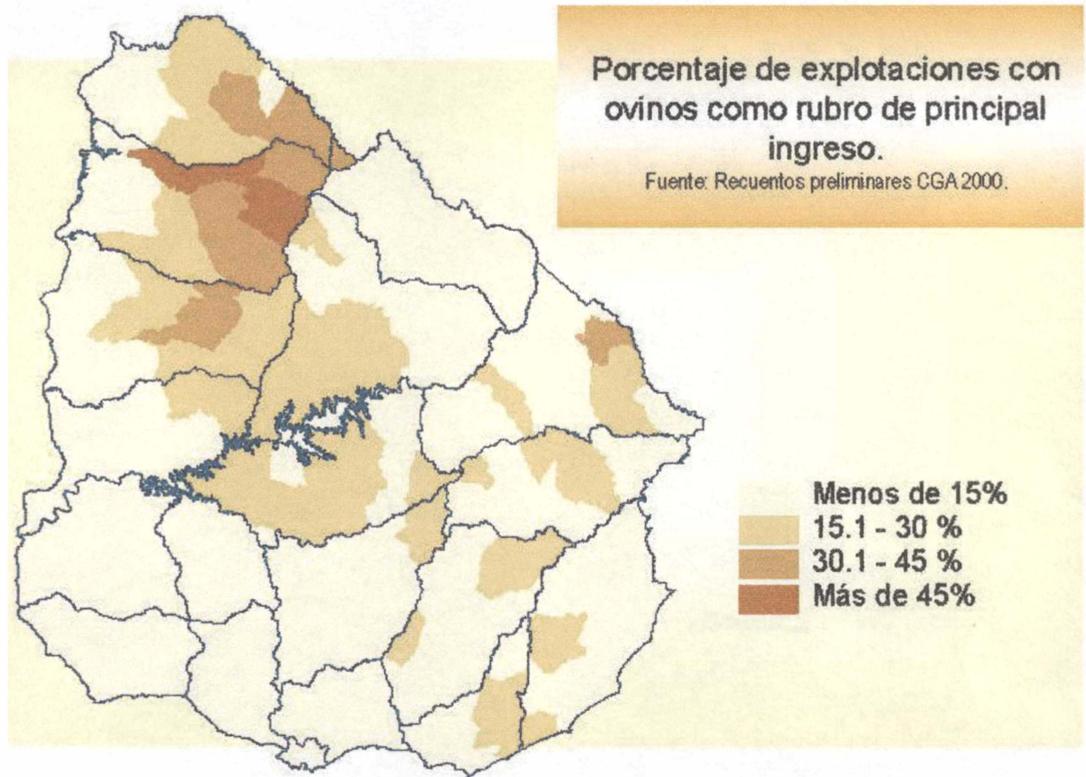
<i>Zonas de aptitud pastoril</i>	<i>Características de las pasturas</i>
MUY APTA	Más de 2.5 ton/há de materia seca (MS) apta para consumo animal
APTA	Volumen similar a la anterior pero con mayor variación estacional y de calidad de la pastura
APTA c/limitaciones	Más de 2 ton/há MS
REGULAR	Crisis invernal de oferta forrajera
POCO APTA	Menos de 1 ton/há/año de MS

Adaptada de: Muñoz, 2006



ANEXO C

MAPA DISTRIBUCIÓN DE LA ACTIVIDAD OVINA EN URUGUAY



Distribución de la actividad ovina en Uruguay (DIEA, 2000)