UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON SELENIO SOBRE LA CALIDAD ESPERMÁTICA Y LA FERTILIDAD DE SEMEN FRESCO Y CONGELADO EN CARNEROS MERINO AUSTRALIANO

por

José Matías SILVA ALBERTONI

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Producción Animal

MODALIDAD: Ensayo Experimental

MONTEVIDEO
URUGUAY
2014

SUMMARY:

It was evaluated the effect of the supplementation with selenium on fertility and preservation of Australian Merino ram semen in the northern region of Uruguay. For this purpose was administered a dose of 1 cc /50 kg body weight of Selfos plus® (sodium selenite and sodium glycerophosphate vitamins A, D and E) subcutaneously in six rams in the month of August 2013. It was evaluated the seminal characteristics at the start of the test, at 60 and 70 days post supplementation. Artificial insemination was performed in 32 sheep with fresh semen (ejaculate pools) from six rams treated with Selfos plus®, and 35 ewes with fresh semen (ejaculate pools) from six rams unsupplemented. The semen of the rams supplemented and unsupplemented was frozen, also it was analized the motility pre and post freezing. A group of 33 sheep was inseminated with supplemented frozen ram semen and 34 sheep with control ram semen. By ultrasonography was evaluated the fertility, prolificacy and fecundity at day 35 post insemination. The results showed no change in the mass motility. An increase in semen volume of the treated group and the average sperm concentration which means that there was increased sperm production (concentration x volume) could be observed. No difference ($p > 0.05$) was observed on the fertility of sheep inseminated with fresh semen (cervical insemination) between the two groups. A significant difference ($p < 0.05$) was observed in fertility obtained with frozen semen insemination (laparoscopy insemination) for the treated group compared to the control group. Preliminary results obtained indicate that the administration of Selfos plus® in Merino rams with good nutritional value, shows a significant increase in fertility of frozen semen.

INTRODUCCIÓN:

La economía de nuestro país depende en gran parte de la producción del sector agroindustrial. Este sector constituyó en los últimos 10 años, alrededor del 11% del Producto Bruto Interno del país (MGAP-DIEA, 2013). Dentro del sector agropecuario, la producción ovina representa uno de los rubros de mayor importancia, constituye la principal fuente de ingresos familiares para pequeños y medianos productores ganaderos.

Entre las grandes cualidades de la producción ovina siempre se destacó su rápida capacidad de recuperación en condiciones de mercado favorable para los productores. Una de las expresiones más claras de esa cualidad se observaron en los últimos dos años donde el stock ovino experimentó una importante recuperación. En los últimos dos años ganaderos el crecimiento de la población ovina nacional se ubicó en un 16%, alcanzando al mes de junio de 2013 la cifra de 8,66 millones de cabezas (Salgado, 2014).

Los productores agropecuarios dedicados a la producción ovina, produjeron 33.349 toneladas de lana base sucia en el año agrícola de 2012-2013 (MGAP-DIEA, 2013). La industria textil que procesa esta lana, ocupa un importante lugar en la mano de obra total de la industria manufacturera nacional. En 2013 el ingreso por la exportación de lana en sucio aumentó 70%, la lana lavada por su parte aumento un 33.3% más que igual periodo anterior (Bottaro, 2014).

Respecto a la carne ovina, en el año agrícola 2012-2013 se produjeron 110 mil toneladas de carne en pie (MGAP-DIEA, 2013). En el 2014 la faena de ovinos ha crecido 48% respecto al año pasado, pasó el millón y medio de animales y en particular la faena de ovejas más que ha duplicado en 2013 a la de 2012 y sigue en 2014 por encima de la de 2013 (Blasina, 2014).

Las cotizaciones del cordero mantienen un 10% por encima de las del novillo en 2014, ratificando que hay en la carne ovina un negocio estable. La apertura de nuevos mercados como EEUU para la carne ovina podría ser un factor que llevara a retomar la retención de vientres, especialmente si va acompañado de negociaciones firmes para abrir el mercado europeo para carne con hueso (Blasina, 2014).

La llegada de los planes de uso y manejo de suelos con el regreso de las pasturas a los sistemas productivos y la necesidad de mantener los suelos esponjosos, libres de la pezuña de los pesados vacunos es una oportunidad para que se aproxime el momento en que los ovinos ingresen sobre las zonas agrícolas, es claro que hay allí una oportunidad (Blasina, 2014).

En las últimas dos décadas, los porcentajes de señalada de la majada nacional no han superado el 60-70 % (Salgado, 2014). El porcentaje de señalada es tomado

como un indicador de referencia para definir el desempeño reproductivo de una majada, lo que está indicando una importante deficiencia a este nivel.

La tasa de señalada depende de la fertilidad y prolificidad de las ovejas encarneradas así como de la supervivencia de los corderos nacidos. Son por lo tanto estas variables las que deben incrementarse para mejorar la tasa de señalada.

Un relevamiento nacional de un alto número de carneros de campo de diferentes razas, utilizados en majadas comerciales, evidenció que el 24,4%, no eran reproductivamente aptos. La utilización de altos porcentajes de machos (3 a 4%) en la encarnerada, enmascara este problema, al competir carneros fértiles con otros no aptos para la reproducción. La evaluación clínica reproductiva del carnero permite determinar reproductores potencialmente fértiles. Dicho examen debe realizarse anualmente, por lo menos 60 días antes del servicio, a efectos de detectar con tiempo afecciones recuperables y descartar a aquellos que presenten problemas irreversibles (Bonino, 2000).

En nuestro país la producción de lana superfina de la raza Merino surgió como una alternativa de valorización y mejora de la competitividad del rubro ovino en las regiones de Basalto y Cristalino, particularmente para aquellos productores laneros que desarrollaban sus sistemas productivos sobre suelos superficiales con escasas posibilidades de diversificación de la producción (Montossi y col.,2003). Pero gran parte de este avance en el mediano y largo plazo está definido por el mejoramiento genético de dicha raza y para lograr esto uno de los factores a mejorar es el nivel de fecundidad.

En la actualidad en los sistemas de producción ovina se aplican biotecnologías reproductivas para mejorar la producción. Un método muy difundido y utilizado en todo el país es la inseminación artificial, es una herramienta fundamental para difundir rápidamente los genes mejoradores en una majada.

La técnica de inseminación artificial permite incrementar la selección de padres selectos, utilizando un porcentaje de carneros menor al 1% (Fernández Abella, 2003). También presenta como ventaja, la posibilidad de usar semen de carneros que por alguna razón no pueden realizar la monta, ya sea por lesiones o por edad, pero que tienen suficiente valor genético como para su conservación y utilización por inseminación artificial (Evans y Maxwell, 1990; Milczewski y col., 2000).

La inseminación artificial (IA) utilizando semen congelado, permite usar carneros genéticamente superiores, y dado que estos dejan más descendencia que las hembras, se hace hincapié en la selección de estos carneros (Evans y Maxwell, 1990). Esta ventaja es mantenida en el tiempo con semen congelado, incluso después de muerto el reproductor, y potencializado por la cantidad de dosis que se puede congelar en comparación con el uso directo del carnero; transportar semen a

J U D Q G H V G L V W D Q F L D V L Q F R U S R U D Q G R ³ V D Q J U H Q X H Y D ´
y Maxwell, 1990; Milczewski y col., 2000; Wulster y col., 2004).

En este ensayo se estudió la inseminación cervical usando semen fresco de carneros suplementados con selenio y carneros sin suplementar, también se evalúo la inseminación intrauterina con semen congelado de carneros suplementados y carneros sin suplementar y calidad espermática de ambos grupos.

REVISIÓN BIBLIOGRAFICA:

Generalidades de la reproducción ovina:

Ciclo estral:

El ciclo estral de la oveja tiene una duración promedio de 17 ± 3 días y se divide en una fase lútea y una fase folicular (Ungerfeld, 2002a).

La reproducción sigue un patrón poliestrico estacional, existe una alternancia entre los periodos de anestro y de actividad sexual. Comienza a reproducirse cuando las horas de luz disminuyen, por lo tanto se las considera de día corto (Ungerfeld, 2002a).

Existe una coordinación fundamentalmente entre 4 órganos como son el cerebro, hipófisis, ovarios y útero, estos se comunican fundamentalmente a través de hormonas. Las principales involucradas son la GnRH, LH, FSH, estradiol, inhibina, progesterona y PGF2alfa. Existen otras hormonas como la prolactina o andrógenos que también tienen participación en la regulación del ciclo (Ungerfeld, 2002a).

La fase folicular es relativamente corta, dura entre 3 y 4 días, mientras que la fase luteal ocupa el resto del ciclo, 14 días (Gibbons y Cueto, 1995).

La fase folicular comienza con la luteólisis y termina en la ovulación. Durante el transcurso de este tiempo se produce el desarrollo folicular final, la ovulación y comienza la organización del folículo que ovuló en un nuevo cuerpo lúteo.

La fase luteal se caracteriza por la maduración del cuerpo lúteo y unos niveles elevados de producción de progesterona.

El celo o estro es el periodo fértil durante el que la hembra acepta la monta por parte del macho, en la raza ovina tiene una duración de 22 horas. La caída de progesterona determina que se produzca una retroalimentación positiva entre la GnRH y la LH por un lado y por otro los estrógenos. Los estrógenos determinan que se produzca rápidamente un nuevo pulso de LH, que inducirá un nuevo incremento de estrógenos. Además el estrógeno incrementa la sensibilidad de la

hipófisis al GnRH y se produce una descarga masiva de LH. El pico de LH desencadena el proceso ovulatorio y además luteiniza el folículo. Los signos del estro vienen como resultado de las concentraciones elevadas de estrógeno circulante (Ungerfeld, 2002a).

Debido al pico de LH se desencadena la luteinización de la estructura folicular y la subsecuente formación del cuerpo lúteo. Mientras el cuerpo lúteo se desarrolla, las cantidades de progesterona secretadas por este aumentan (Ungerfeld, 2002a).

Los niveles altos de progesterona causan un retrocontrol negativo sobre la frecuencia de pulsos de LH, inhiben la pulsatilidad de LH. La progesterona inhibe la secreción uterina de PFG2alfa, por lo tanto determina el momento en que se produce la luteólisis (Ungerfeld, 2002a).

De no ocurrir gestación, el cuerpo lúteo decrece en tamaño, se vuelve pálido y su secreción comienza a decaer (Gibbons y Cueto, 1995).

Alrededor del día 12 del ciclo comienza la luteólis, esta involucra la muerte progresiva de las células luteales y se acompaña con la caída de los niveles de progesterona. La PFG2 alfa es la hormona luteolítica principal, es secretada por el útero en forma pulsátil (Ungerfeld, 2002a).

Aparato reproductor del macho:

El aparato reproductor del macho consiste en varios órganos individuales que actúan de manera coordinada para producir espermatozoides y depositarlos en el tracto reproductor femenino (Cunningham y Klein, 2009).

Este mecanismo implica tanto al sistema neuroendócrino (hipotálamo y adeno hipófisis) como al genital (Cunningham y Klein, 2009).

Los testículos son los órganos centrales del aparato genital masculino. Son responsables de la esteroidogénesis y de la producción de espermatozoides. El proceso de producción de espermatozoides dura aproximadamente dos meses (Fernández Abella, 2003).

El desarrollo testicular está directamente relacionado con la producción espermática. En promedio por cada gramo testicular se producen de 20 a 25 millones de espermatozoides por día (Fernández Abella, 2003).

Funcionalmente, el testículo tiene tres compartimentos. El tejido intersticial que contiene células de Leydig, rodea los túbulos seminíferos. Los otros dos compartimentos se localizan dentro de los túbulos seminíferos, basal y adluminal. El compartimento basal contiene espermatogonias que se dividen por mitosis y el adluminal constituye un medio especial en el que los espermatocitos inician y continúan las divisiones meioticas hasta diferenciarse en espermatida y por último

en espermatozoides. En los túbulos seminíferos, las células de Sertoli, proporcionan apoyo y nutrientes a las células germinales en desarrollo, se extienden desde el compartimento basal hasta el adluminal (Cunningham y Klein, 2009).

El escroto, junto con los músculos cremaster y la anatomía vascular de las arterias y venas testiculares protegen a los testículos y regulan su temperatura. Básicamente el escroto es un saco de piel con una capa subcutánea de tejido muscular fibroelástico denominada dartos. La disposición vascular de la arteria testicular, rodeada por el plexo de venas testiculares (plexo pampiniforme) proporciona un mecanismo de intercambio de calor, vital para la termorregulación testicular (Cunningham y Klein, 2009).

Los túbulos seminíferos vacían su contenido en la red testicular, que a continuación transporta los espermatozoides y el líquido de dichos túbulos a los vasos eferentes, para así llegar al epidídimo. Este canal está formado por tres partes: la cabeza, el cuerpo y la cola (Fernández Abella, 2003). El epidídimo no solo es un conducto para los espermatozoides, si no que aporta un medio adecuado donde estos se concentran, maduran y adquieren la capacidad de fecundación (Cunningham y Klein, 2009).

La cola del epidídimo actúa como reservorio de espermatozoides. A esta se le une el canal deferente que conduce los espermatozoides desde el epidídimo hacia la uretra (Fernández Abella, 2003).

Existen glándulas accesorias encargadas de secretar sustancias que forman parte del eyaculado junto a los espermatozoides. Estas son: las vesículas seminales, la próstata y las glándulas bulbo uretrales o de Cowper (Fernández Abella, 2003a).

El órgano copulador del macho es el pene y por este órgano se expulsa el semen a través de un proceso llamado eyaculación (Cunningham y Klein, 2009).

Espermatogénesis:

La espermatogénesis es el proceso por el cual las espermatogonias se convierten en espermatozoides.

Las espermatogonias son células aproximadamente semiesféricas, con una cara plana que está en contacto con la membrana basal y una convexa en contacto con células de Sertoli. Se encuentran en el compartimento basal del túbulo seminífero (Ungerfeld, 2002a).

Por lo general la espermatogénesis se divide en tres procesos principales: espermatocitogénesis, meiosis y espermiogénesis (Cunningham y Klein, 2009).

La espermatocitogénesis cumple con dos funciones importantes: la primera, la división mitótica de espermatogonias tipo A, produciendo espermatogonias que no entran al ciclo del espermatozoide manteniendo la población de células indiferenciadas. La segunda función es transformar las espermatogonias tipo A a tipo B, que más tarde se dividen por mitosis para producir espermatocitos primarios. Estos experimentan un proceso de meiosis final para producir espermatozoides (Cunningham y Klein, 2009).

La meiosis es una división reduccional del material genético a partir de dos divisiones celulares sucesivas, sin que haya replicación del material genético entre ellas. A los espermatocitos se les denomina primarios si están en la primera división y secundarios si están en la segunda (Ungerfeld, 2002a).

Los espermatocitos primarios se diferencias de sus antecesores las espermatogonias tipo B por su tamaño más pequeño y contienen menor cantidad de heterocromatina (Ungerfeld, 2002a).

Los espermatocitos secundarios pueden diferenciarse fácilmente de los espermatocitos primarios en base a su menor tamaño. Al final de la meiosis II se obtienen células haploides, las espermátidas redondas (Ungerfeld, 2002a).

La espermiogénesis es el proceso por el cual las espermátidas se transforman en espermatozoides. No existe multiplicación y el número de espermatozoides depende de la cantidad de espermáticas viables presentes. Estas se encuentran más cerca de la luz del túbulo seminífero. Según la etapa de diferenciación que se encuentren se las denomina espermáticas redondas, alargadas y maduras (Ungerfeld, 2002a).

Durante la diferenciación en la espermatogénesis, la célula desarrolla un flagelo a partir del centriolo, forma el acrosoma a partir del complejo de Golgi, condensa la cromatina nuclear, cambiando la forma de su núcleo y disminuyendo su volumen, y pierde citoplasma, que es fagocitado por la célula de Sertoli. La liberación del espermatozoide a la luz del túbulo seminífero por la célula de Sertoli se denomina espermiación (Ungerfeld, 2002a).

Control hormonal de la espermatogénesis:

El hipotálamo es un regulador de la actividad reproductiva mediante la síntesis de GnRH. Esta hormona de naturaleza peptídica es liberada a los vasos porta hipofisarios de forma pulsátil llegando a la hipófisis para estimular la secreción de LH y FSH, gonadotrofinas (Ungerfeld, 2002a).

Cada pulso de GnRH determina la liberación de otro pulso de LH, esta gonadotrofina es totalmente dependiente de la pulsatilidad de la GnRH (Ungerfeld, 2002a).

La secreción de FSH parece estar regulada por dos mecanismos como son un componente de la secreción basal o constitutiva y otro componente pulsátil y sujeto a regulación. Luego de cada pulso de GnRH aparece un pulso de FSH, pero además, cada tanto aparecen pulsos de FSH que no son precedidos por ningún pulso de GnRH (Ungerfeld, 2002a).

La principal función de la célula de Leydig es la producción de testosterona. La producción de esta hormona por parte de la célula intersticial está controlada por la LH (Ungerfeld, 2002a).

Se ha sugerido que deficiencia de selenio provoca algunos cambios en los receptores de LH de las células de Leydig y por lo tanto se afecta a la secreción de testosterona (Behne y col., 1982).

El aumento en la concentración de LH provoca un aumento del nivel plasmático de testosterona. Luego se inhibe la secreción de LH por un sistema de retroalimentación negativa provocado por este aumento de testosterona, lo que provoca posteriormente una disminución en la síntesis de testosterona (Ungerfeld, 2002a).

Las concentraciones de testosterona altas en los túbulos seminíferos son necesarias para un desarrollo normal de la espermatogénesis. Además, esta hormona llega al torrente sanguíneo y tiene vital importancia en la libido, la actividad secretoria de las glándulas anexas y las características sexuales secundarias (Ungerfeld, 2002a).

Las células de Sertoli que se encuentran presentes en el túbulo están reguladas por la FSH y testosterona. Existen evidencias que indican que la FSH estimula a la célula de Sertoli a aromatizar la testosterona y producir estrógenos. Además, la FSH estimula la producción de ABP, que es secretada en los espacios intercelulares del epitelio seminífero y en la luz del túbulos seminífero. La función de esta proteína es probablemente mantener las altas concentraciones de andrógeno que existen en los túbulos seminíferos (Ungerfeld, 2002a).

Existe además la producción por la célula de Sertoli de una hormona proteica denominada inhibina, esta tiene como efecto la supresión de la secreción de FSH probablemente actuando directamente sobre la hipófisis (Ungerfeld, 2002a).

La secreción de LH es necesaria para que la espermatogénesis ocurra normalmente, mientras que la FSH es necesaria para iniciar el proceso al comienzo de la pubertad, luego parece no ser esencial para el mantenimiento de la misma. Sin embargo, si se detiene por razones fisiológicas o patológicas, la FSH resulta necesaria para iniciarla (Ungerfeld, 2002a).

Morfología del espermatozoide:

El espermatozoide es una célula haploide compuesta por dos estructuras, la cabeza y la cola (Senger, 2003).

El núcleo es oval y aplanado, se encuentra rodeado por una membrana nuclear. Los dos tercios del núcleo están cubiertos por el acrosoma que contiene enzimas hidroliticas que son necesarias para la penetración del ovocito. Durante la fertilización el acrosoma se somete a una exocitosis altamente especializada denominada reacción acrosómica que permite la liberación de las enzimas capaces de penetrar la zona pelúcida (Senger, 2003).

La cola del espermatozoide es un flagelo con auto-alimentación (Senger, 2003). El flagelo puede ser dividido en cuatro regiones, cuello, media, principal y terminal. En el centro de toda la extensión del flagelo está el axonema, formado por 9 pares de micro túbulos radialmente organizados alrededor de dos filamentos centrales (Ungerfeld, 2002a). La cabeza y la cola se conectan mediante el capitulum y las columnas segmentadas (Ungerfeld, 2002a). La pieza media contiene las mitocondrias helicoidalmente ordenadas en torno al axonema (Ungerfeld, 2002a). El annulus delimita la unión entre la pieza media y la pieza principal. La pieza principal constituye la mayor parte de la cola y continúa casi hasta el final del flagelo donde le continúa la pieza terminal, la cual es corta y donde terminan los micro túbulos (Senger, 2003).

Las estructuras del espermatozoide se encuentran envueltas en una membrana plasmática altamente especializada (Ungerfeld, 2002a).

Factores que afectan la producción de semen:

La raza es uno de los factores que puede intervenir en la producción de semen. Se asume generalmente que los carneros de razas carniceras presentan eyaculados más concentrados que los obtenidos en razas laneras. Esto es debido a un mayor tamaño testicular de las razas carniceras. En Uruguay no se observan diferencias en tamaño testicular entre las razas laneras presentes en el país (Fernández Abella, 2003).

Los carneros adultos presentan un mayor tamaño testicular que los borregos, lo que determina una mayor producción espermática diaria. El semen de borrego presenta un elevado porcentaje de formas anormales a diferencia del semen de carnero, asimismo la cantidad de espermatozoides eyaculados desciende más rápidamente en el borrego a partir del segundo eyaculado. Por lo tanto, se asume que la edad es un factor importante en la producción de semen de buena calidad (Fernández Abella, 2003).

El fotoperiodo tiene influencia en la calidad del semen. El peso testicular de los ovinos evoluciona en sentido inverso a la duración de las horas luz. Las altas

temperaturas actúan directamente sobre el testículo, alterando la producción, la maduración y el almacenamiento del semen. Todos los factores que incrementen la temperatura corporal por encima de los valores normales ponen en riesgo el buen funcionamiento de la espermatogénesis (Fernández Abella, 2003).

El aumento del número de eyaculados por día reduce el volumen y la concentración espermática. Es importante tener en cuenta este concepto cuando se realiza inseminación artificial para no excederse en el número de colectas diarias (Fernández Abella, 2003).

Los cambios de alimentación afectan más rápidamente el volumen testicular que el peso corporal. Alimentos ricos en proteínas permiten incrementar aproximadamente un 40% la producción espermática. Cambios bruscos en la alimentación pueden modificar la cantidad y calidad del semen y además la libido de los carneros. Las deficiencias en minerales y vitaminas también está demostrado que afecta la producción de semen de calidad (Fernández Abella, 2003).

Existen reportes internacionales, que muestran la importancia de los microelementos en la reproducción y producción ovina. La administración de selenio mejora la fertilidad de los carneros, la fertilidad de las ovejas, la supervivencia neonatal y el crecimiento de los corderos (Piper, y col., 1980; Langlands y col., 1991a; Langlands y col., 1991b; Balicka-Ramisz, 2006).

Metodología de la inseminación artificial:

La inseminación artificial es una técnica de reproducción por la cual, el semen de los machos colectado artificialmente, es depositado en el tracto reproductivo de las hembras para producir la fecundación de los óvulos maduros. La inseminación artificial incrementa notablemente el aprovechamiento de un reproductor, al permitir obtener un gran número de crías del mismo padre. Esto es posible debido a que mediante un adecuado fraccionamiento del semen, se obtiene un número importante de dosis por eyaculado (Gibbons y Cueto, 1995).

La técnica de inseminación en la oveja puede hacerse en forma vaginal, cervical o intrauterina (Fernández Abella, 2003; Elhordoy, 1998).

Colecta de semen:

En la actualidad se utilizan dos métodos de colecta de semen: la vagina artificial y el electroeyaculador.

La vagina artificial tiende a imitar a la vagina de la oveja en temperatura y humedad. El carnero eyacula previa desviación del pene con la mano de manera que penetre en la vagina artificial (Fernández Abella, 2003).

El electroeyaculador consiste en un electrodo bipolar que se introduce en el recto y se hace pasar una corriente de 6 a 12 voltios y un número elevado de amperes. Es usado en carneros que no reaccionan a la vagina artificial o que presenten imposibilidad para montar. El volumen obtenido de semen es mayor a la colecta con vagina debido a una mayor estimulación de las glándulas anexas (Fernández Abella, 2003).

Evaluación seminal:

Para determinar que un carnero es apto para ser considerado en cualquier programa de reproducción debe cumplir con los siguientes requisitos: de ser clínicamente sano, tener buena libido y buena calidad espermática. Para determinar la calidad se debe realizar una evaluación seminal. Para Fernández Abella (2003), la evaluación es fundamental en cualquier programa de inseminación ya sea con semen fresco o congelado. Es de vital importancia para reducir las pérdidas debidas a la utilización de semen de baja calidad. La evaluación consiste en pruebas macroscópicas, microscópicas y bioquímicas.

Pruebas macroscópicas:

Volumen: Normalmente se encuentra entre 0,5 y 2,0 mL, esto depende de la excitación previa del animal, edad, época del año, número de eyaculados por día y el método de colecta (Fernández Abella, 2003).

Color: El color depende de la concentración de espermatozoides. Este método permite determinar la dilución necesaria previa conservación del semen, cuando no podemos medir la concentración por carecer de los elementos necesarios (Fernández Abella, 2003).

Tabla 1: Determinación de la concentración espermática a través del color del eyaculado.

Tonalidad	Millones/ml
Crema muy oscuro	4000
Crema oscuro	2800
Crema	2000
Crema claro	1600
Lechoso	1000
Lechoso claro	500
Nublado	100
Claro	Insignificante

Fuente: Fernández Abella y Villegas 1992, modificado Fernández Abella 2002.

Olor: Debe de ser inodoro, si presenta olor puede ser causado por infección o contaminación con orina.

Motilidad de masa: Se observa en el propio tubo de colecta a poca distancia del observador en presencia de luz. Se aprecian ondas que son resultados de la concentración espermática, movilidad de espermatozoides y porcentaje de células espermáticas vivas (Fernández Abella, 2003).

Se podrá tener una idea de la calidad seminal por la velocidad con que se hacen y deshacen las ondas (motilidad masal). La motilidad se estima por el vigor del movimiento de las ondas en una escala subjetiva entre 0 y 5 (0, mínimo; 5, máximo). Para utilizar un eyaculado, se recomienda que su motilidad masal sea de 3 o mayor (Gibbons, et al., 1993).

Tabla 2: Relación entre la movilidad grupal (masal) y el porcentaje de espermatozoides móviles del semen (movilidad individual).

Grado	Movilidad masal (macroscópica)	Movilidad individual (microscópica)
0	Sin corrientes	Sin movimiento progresivo
1	Pocas corrientes	20% de movimiento progresivo
2	Muchas corrientes moderadas	40% de movimiento progresivo
3	Muchas corrientes	60% de movimiento progresivo
4	Muchas corrientes rápidas	80% de movimiento progresivo
5	Numerosas ondas de tipo tumultuoso rápidas y vigorosas	Casi 100% de movimiento progresivo

Fuente: Moule, 1951.

Pruebas microscópicas:

Es aconsejable disponer de un microscopio con platina caliente para mantener al semen a temperatura fisiológica de 35 a 37ºC.

Motilidad: Por motilidad se entiende al desplazamiento del espermatozoide. El movimiento progresivo o normal es el que determina que el espermatozoide avance y pueda fecundar, interesando por ello la existencia de un alto número de espermatozoides con dicho movimiento (Fernández Abella, 2003).

Concentración: Es fundamental evaluar la concentración para realizar una correcta dilución. Lo lógico es obtener el dato real de la misma sin tener que recurrir a su estimación a través del color (Fernández Abella, 2003).Hay distintos métodos que permiten la determinación de la concentración espermática, entre ellos recuento en cámara de Neubauer, la de Makler o por fotocolorímetro.

Morfología: Es la mejor manera de evaluar la eficacia de los testículos para producir espermatozoos y estimar la fertilidad de un macho (Elhordoy, 1998).

Existe una alta correlación negativa entre el porcentaje de formas anormales y el poder fecundante del semen (Fernández Abella, 2003). A través de un frotis evaluamos las formas normales y anormales de los espermatozoides.

Test de vitalidad: Permite estimar el porcentaje de células espermáticas vivas. El semen fresco se mezcla con una solución de eosina-nigrosina, lo quepermite observar los espermatozoides muertos que se tiñen de rosado (Fernández Abella, 2003).

Pruebas bioquímicas:

pH: El rango normal es entre 6,3 y 7,2.

Reducción del azul de metileno: Esta técnica se basa en que los espermatozoides consumen fructosa (azúcar del semen) transformándola en ácido láctico, el que pasa luego a anhídrido carbónico y agua, liberando hidrógeno. A mayor actividad de los espermatozoides mayor liberación de hidrógeno y este reacciona con el azul de metileno provocando un cambio de color.

Para realizar la prueba se debe mezclar igual cantidad de semen y de una solución al 0,05 % de azul de metileno. Luego se aspira la mezcla con una pajuela de 0,5 ml y se introduce la misma en agua tibia (35 a 48 ºC). La prueba consiste en el tiempo que tarda la mezcla en virar del color azul a blanco (Fernández Abella, 2003).

Tabla 3: Calidad del semen según prueba de azul de metileno.

Tiempo (Minutos)	Calidad del Semen
0-1	Excelente
1-2	Muy bueno
2-3	Bueno
3-5	Regular
Más de 5	Malo

Fuente: Fernández Abella, 1995.

Preservación del semen:

Semen fresco, enfriado y refrigerado:

El semen fresco es aquel que va a emplearse inmediatamente después de su recolección, podrá mantenerse a 28-30 ºC en baño termostático durante su utilización, ya sea sin diluir o diluido (Gibbons y col., 1993).

Para un almacenamiento de 8 a 12 horas se debe diluir y conservar el semen enfriado entre 10 y 15º C (Fernández Abella, 2003).

Si se desea mantener el semen por 24 horas se lo debe diluir y refrigerar a 5ºC (Gibbons y col., 1993).

Los diluyentes son sustancias que permiten extender la vida de los espermatozoides para lograr así mantener la viabilidad y fertilidad del semen. Pueden ser sintéticos o naturales. Un diluyente natural, económico y de buena calidad, para conservar el semen por pocas horas es a base de leche descremada UHT. Cuando se realiza la dilución del semen se debe tener precaución en asegurar la dosis de espermas totales (Fernández Abella, 2003). La dilución se llevará a cabo a 30 ºC teniendo presente que el diluyente se agregará con pipeta limpia, seca y entibiada, dejándolo escurrir por las paredes del tubo de recolección (Gibbons y col., 1993).

Semen congelado:

La inseminación artificial se ha visto impulsada con el desarrollo de la técnica de congelación de semen, permitiendo el traslado de gametos masculinos a lugares distantes. Para lograr prolongar la vida de los espermatozoides se debe retardar o detener el metabolismo. Reducir la temperatura es la forma más común para lograr reducir el metabolismo (Ungerfeld, 2002b). La preservación y almacenamiento del semen de carnero mediante la reducción de la temperatura afecta la motilidad y altera la integridad de la membrana de los espermatozoides, estos cambios causan que disminuya la fertilidad. Dichos cambios en las membranas son similares a la capacitación y la reacción acrosómica de los espermatozoides. Puede ser posible para prevenir o revertir algunos de estos cambios de membrana la utilización de antioxidantes (Maxwell y Watson, 1996).

Existen diversos protocolos para congelar semen, uno de los más difundidos es la dilución en un paso. Este tipo de protocolo implica el agregado de un único diluyente hasta logar la concentración espermática necesaria, para luego seguir con el enfriado a 5ºC en 1,5 a 2 horas, sucediéndose la equilibración en ese plazo, luego el envasado y el congelado (Ungerfeld, 2002b).

Existe una gran variedad de diluyentes que se adaptan al tipo de protocolo utilizado en el procesamiento. Las fórmulas de los diluyentes incluyen ingredientes que brindan la protección necesaria para posibilitar la recuperación de los espermatozoides. Es necesaria la presencia de sustancias crioprotectoras, sustratos energéticos, buffers y reguladores osmóticos.

La presentación de semen congelado utilizada comúnmente es la pajuela, de 0,25 o 0,5 ml.

Según Mazur (1985), Watson (2000) y Holt (2000) citado por (Ungerfeld, 2002b) la velocidad del enfriado del semen es determinante para preservar la calidad

seminal. No debe ser excesivamente rápida ni tampoco descender muy lentamente. Se recomienda que la curva de congelación sea lo suficientemente lenta como para permitir la salida de agua del espermatozoide, pero a su vez lo suficientemente rápida como para evitar la formación de cristales muy grandes que dañen las células en el compartimiento interno.

Se puede congelar el semen con cámaras de congelación automáticas que permiten la programación de la curva de congelación. De no disponer del equipamiento necesario se puede congelar el semen colocando las dosis en vapores de nitrógeno liquido, luego de unos minutos se sumergen las pajuelas en nitrógeno liquido previo a su almacenamiento (Ungerfeld, 2002b).

Métodos de inseminación:

Método vaginal:

El semen es depositado en la cavidad vaginal requiriéndose gran cantidad de esperma. No se realiza un uso eficiente del esperma eyaculado, esta técnica se utiliza cuando no es posible introducir la cánula en el cérvix (Fernández Abella, 2003)

Método cervical:

La inseminación cervical con semen fresco es el método más difundido a nivel nacional. Esta técnica también se puede realizar con semen congelado.

Los porcentajes de preñez logrados en inseminación cervical con semen fresco, varían entre el 60 y 70%, mientras que por medio de la utilización de semen congelado por esta vía los resultados varían entre el 20 y el 25% (Gibbons y Cueto, 1995).

Según Fernández Abella (2003), la dosis inseminante de semen fresco debe tener entre 80 y 100 millones de espermatozoides, mientras que la inseminación realizada con semen congelado debe superar los 250 millones de espermatozoides.

El semen es depositado en el segmento cervical más próximo a la vagina. La estructura del cuello del útero de la oveja impide que la cánula se introduzca más de 0.5 a 1 cm, por ese motivo se denomina cervical superficial (Fernández Abella, 2003).

El cérvix ovino mide de 4 a 8 cm de longitud, presenta 3 a 7 pliegues en su mucosa, los cuales impiden o dificultan la penetración profunda de la cánula.

Para realizar la inseminación cervical, las hembras se presentan inclinadas cabeza-abajo, con los cuartos traseros montados sobre una baranda o riel (Gibbons y Cueto, 1995).

La técnica consiste en introducir el vaginoscopio con una mano, localizando el cuello del útero. Con la otra mano se introduce la pistola dosificadora dentro del vaginoscopio, localizado el orificio, se introduce la cánula hasta hacer tope y antes de depositar se retira la misma unos milímetros para facilitar la salida del esperma. Se retira el vaginoscopio unos centímetros para evitar que el contacto del mismo sobre la pared vaginal determine que el semen fluya hacia la vagina. Luego de depositar la dosis de semen se retira la pistola y vaginoscopio a la vez (Fernández Abella, 2003).Una vez descargado el semen es conveniente que la hembra permanezca durante 2 ó 3 minutos en la posición de inseminación (Gibbons y Cueto, 1995).

Método intrauterino:

A comienzos de la década del 80, investigadores australianos desarrollaron una técnica de inseminación intrauterina por laparoscopía, que depositando el semen descongelado directamente en la luz de los cuernos uterinos, permitía obtener porcentajes de preñez superiores al 50%(Gibbons y Cueto, 1995).

Este método permite utilizar menor cantidad de espermatozoides. Tiene como

Diagnostico de Selenio:

La determinación de selenio en sangre se puede realizar en forma directa o realizarla en forma indirecta a través de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px). Existen reportes que correlacionan directamente la actividad de dicha enzima y la concentración de selenio en sangre (Ceballos y col., 1999) por lo que la actividad de la enzima es una forma indirecta de determinar los niveles de selenio en sangre en ovinos.

El hecho de que exista una fuerte correlación entre selenio sanguíneo y GSH-Px, y que su determinación en sangre sea rápida y sencilla, hace que esta enzima se perfile en la actualidad como una de las medidas indirectas más importantes en el diagnóstico de procesos carenciales de selenio (Marti y col., 2007).

El siguiente cuadro proporcióna los rangos de referencias para diagnosticar deficiencias de selenio en los rumiantes domésticos. Dichos rangos han sido determinados por la Investigación de Laboratorios Veterinarios (Stormont, Belfast, Reino Unido) para aplicar a vacas y ovejas, y son los niveles que se consideran normales en Irlanda del Norte. Proporciona una correlación aproximada de selenio en sangre entera mg/l con Glutation peroxidasa usando el kit diagnostico de Ransel (Randox, 1994).

Tabla 4: Rangos de referencia para diagnosticar deficiencia de selenio en rumiantes.

Estado Animal	Selenio en Sangre Entera mg/l	GPX Units/g Hb	GPX Units/mL PCV
Deficiente	<0.05	<60	<18
Bajo/Marginal	0.051 - 0.083	61 - 100	18.5 - 30.3
Marginal	0.084 - 0.110	101 - 130	30.6 - 39.4
Adecuado	>0.11	>130	>39.4

Fuente: Randox Laboratories, 1994.

HIPOTESIS:

Por lo expuesto anteriormente nos planteamos como hipótesis de trabajo que la suplementación con selenio a carneros Merino Australiano mejoraría la calidad espermática así como la capacidad de fecundación, usando semen fresco y congelado-descongelado en programas de inseminación artificial a tiempo fijo.

OBJETIVOS

Objetivo General:

Estudiar el efecto de la suplementación con selenio a carneros Merino Australiano, pastoreando sobre campo natural de basalto, en la calidad espermática y en la fertilidad, utilizando semen fresco y congelado-descongelado en programas de inseminación artificial a tiempo fijo.

Objetivos Específicos:

Comparar espermiogramas de semen fresco, de carneros suplementados con selenio y carneros no suplementados, que pastorean campo natural de basalto.

Estudiar calidad espermática de muestras de semen congeladas-descongeladas, de carneros suplementados con selenio y no suplementados que pastorean campo natural de basalto.

Determinar estadísticamente las variaciones que ocurren en las ovejas inseminados vía cervical con semen fresco de carneros con y sin suplementación.

Determinar estadísticamente las variaciones que ocurren en las ovejas inseminados vía intrauterina con semen congelado-descongelado, de carneros con y sin suplementación.

MATERIALES Y METODOS:

Localización del ensayo:

El ensayo se llevó a cabo entre los meses de junio de 2013 y marzo de 2014 en el H V W D E O H F L P L H Q W R ³ 3 D V R G H O 6 D X F H ´ S U R S L H G D G G H responsable del mismo el Ing. Agr. Alberto Bozzo, Ruta Nacional Andrés Artigas Nº 4 Km. 117**,** departamento de Salto (31º 50´ latitud sur).

<u>Tipo de suelo:</u>

El establecimiento comprende una superficie de 967 hectareas. Los suelos predominantes corresponden principalmente a la unidad Cuchilla de Haedo-Paso de los Toros presentándose fundamentalmente Litosoles Subeustricos (a veces Eutricos). El mismo tiene un Índice Coneat promedio de 42, con suelos del grupo 1.10b en un 89% del área, suelos del grupo 12.12 en un 7% y suelos del grupo B03.1 en un 4% (anexo 1, suelos CONEAT). Los suelos son de uso netamente pastoril (MGAP ±PRENADER, 2014).

Trabajo de campo:

Manejo sobre los carneros:

El día 28 de agosto de 2013 a un grupo de 30 carneros de raza Merino Australiano se les realizó un estudió de aptitud reproductiva y calidad de semen, seleccionando 12 animales para el ensayo, estos fueron identificados mediante caravanas.

El manejo realizado contra parásitos gastrointestinales fue la dosificación al inicio del ensayo con 10 mg/kg oral de Closantel (Saguacid C-L 10%®, Laboratorio Dispert, Montevideo, Uruguay).

Se formaron dos grupos de 6 carneros, homogéneos en cuanto a condición corporal (entre 3,5 y 4, Jeffries, 1961), edad (4 y 6 dientes) y calidad espermática. Un lote fue suplementado con selenio por única vez y otro lote se mantuvo sin suplementar. El selenio aplicado fue de Selfos Plus®, de laboratorios AgroInsumos S.A., vía subcutánea (Fernández Abella y col., 2013), la dosis fue aplicada según el peso de los animales (1cc/50Kg de peso vivo), por recomendación del fabricante. Ambos grupos de carneros pastorearon el mismo potrero de campo natural.

Tabla 5: Composición de Selfos Plus®.

Formula	Cantidades
Selenito de Sodio	0,347 g
Vitamina A (Retinol Palmitato)	1200000 U.I
Vitamina D2 (Ergocalciferol)	600000 U.I
Vitamina E (DL-a-Tocoferol Acetato)	2500 U.I
Glicerofosfato de Sodio	30 g
Excipientes c.s.p.	100 mL

El mismo día se realizo la medida de circunferencia escrotal, condición corporal y edad; además se extrajo semen y se realizaron pruebas macroscópicas (color, volumen y movilidad en masa) y microscópicas (concentración).

El día 60 post aplicación de Selfos Plus®, se extrajo semen a todos los carneros, se realizaron las pruebas macroscópicas y microscópicas, para cada carnero. Se realizó un pool con las muestras de los carneros pertenecientes a cada lote y se congelaron dichos pools.

El día 70 post aplicación se extrajo semen de todos los carneros y se realizaron las pruebas antes mencionadas a cada carnero, además se realizaron los pools respectivos de carneros suplementados y no suplementados y se inseminó vía

cervical (semen fresco) a las ovejas correspondiente para cada lote según Fernandez Abella, 2008.

Para la condición corporal se utilizó la escala de Jeffries, 1961 y para medir la circunferencia escrotal se utilizó una cinta métrica (exactitud +/- 0,1 cm), la edad se estimo por la dentición.

En la totalidad de carneros utilizados en este ensayo se realizó el estudio de conteo de huevos por gramo en materia fecal (hpg) utilizando la técnica de Mac Master (Thienpont, 1986), para determinar parásitos gastrointestinales en dos oportunidades, día 0 y 60.

Manipulación y análisis del semen:

Una vez recolectado el semen se midió el volumen del eyaculado, la concentración y la movilidad espermática.

El volumen se determinó mediante una pipeta graduada.

Se estimó la concentración espermática mínima mediante el color (Tabla 1).

Se determino la movilidad espermática del eyaculado (Tabla 2)

El semen fresco utilizado para la inseminación cervical, se extrajo previo al momento de la inseminación y se mantuvo en baño de agua a 28°C durante el tiempo que duró el procedimiento. La dosis inseminante fue de 80 millones de espermatozoides totales por oveja.

El semen se congeló en pajuelas de 0,25 mL a una concentración de 60 millones de espermatozoides, según el método de Salamon (1976). Las pajuelas fueron descongelas en baño maría de 39°C durante 40 segundos.

En el laboratorio se determinó la concentración mediante el recuento de espermatozoides en cámara de Makler.

Se analizó la calidad post-descongelado (movilidad) de cinco pajuelas de la mezcla de semen perteneciente al lote de carneros tratados con selenio y la misma cantidad de pajuelas de semen congelado de los carneros sin tratar.

Inseminación:

Para este ensayo se utilizó una majada comercial de raza Merino Australiano (n=134), perteneciente al establecimiento Paso del Sauce, con una condición corporal entre 2,75 y 3,5 (Jeffries, 1961) y de 4 a 6 dientes, y se las dividió en cuatro grupos. Los animales fueron servidos por inseminación artificial.

El manejo contra parásitos gastrointestinales fue el mismo que se realizo sobre el grupo de carneros. Todas las ovejas utilizadas en este ensayo pastoreaban el mismo potrero de campo natural.

El día 6 de noviembre de 2013 que corresponde al día 70 post suplementación de los carneros con selenio, se realizó la inseminación de la siguiente manera:

Se realizaron cuatro lotes:

1) Inseminación artificial cervical a 32 ovejas, con la mezcla de semen fresco de los eyaculados de 6 carneros suplementados con Selenio.

2) Lo mismo se le realizó a 35 ovejas, con la mezcla de semen de los eyaculados de los 6 carneros sin tratar (testigos).

3) Inseminación artificial intrauterina a 33 ovejas, con la mezcla de semen congelado-descongelado de los eyaculados de los 6 carneros suplementados con selenio.

4) Inseminación artificial intrauterina a 34 ovejas, con la mezcla de semen congelado-descongelado de los eyaculados de los 6 carneros sin tratar (testigo).

La inseminación artificial con semen fresco se realizó según Fernández Abella 2008, el método usado fue el cervical superficial, el cual consiste en depositar el semen en el segmento del canal cervical más próximo a la vagina. La inseminación intrauterina con semen congelado descongelado se realizó según Fernández Abella, 1996.

Tabla 6: Cantidad de ovejas utilizadas por método de inseminación y tratamiento.

Inseminación	Control (n)	Suplementado (n)
Cervical	35	32
Intrauterina	34	33

A todas las ovejas se aplicó el mismo protocolo de sincronización de celo utilizando un dispositivo de silicona inerte intravaginal impregnado con 0,3 g de progesterona

natural de liberación (DICO®, Laboratorio Syntex, Montevideo, Uruguay) durante 11 días.

Se retiró el dispositivo a cada lote de ovejas desfasadas en el tiempo. Este manejo fue efectuado para facilitar el trabajo de inseminación de un número alto de animales, pudiendo así respetar el momento de inseminación luego de retiradas los dispositivos intravaginales. Al momento del retiro del dispositivo se administró 350 UI de PMSG (Novormon®, Laboratorio Syntex, Montevideo, Uruguay) Se aplicaron 10 ug de GnRH (Fertiline®, Universal Lab, Montevideo, Uruguay), 30 horas después del retiro del dispositivo. Entre las 52 y 55 horas posteriores al retiro del dispositivo se insemino a tiempo fijo (Fernández Abella, y col., 2003).

La inseminación fue realizada en todas las ovejas por el mismo operador.

El día 35 post inseminación se determinó fecundidad y carga fetal mediante ultrasonografía, utilizando un ecógrafo WELL (WED 9618 UV), con sonda transrectal de 5.0 Mh.

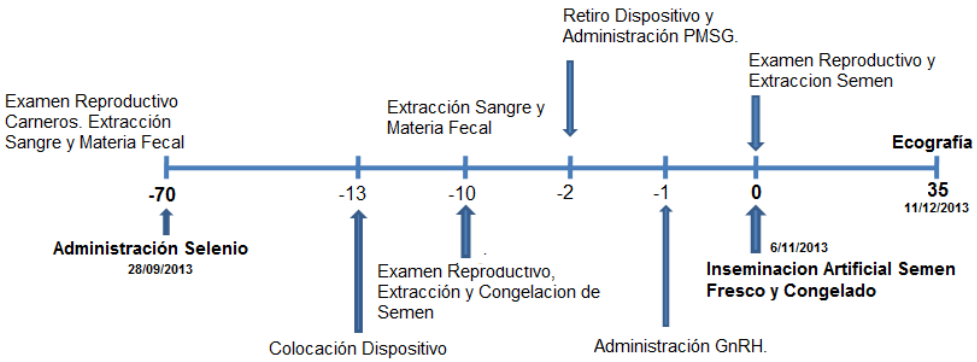

Figura 1. Cronología del trabajo de campo realizado.

Determinación de selenio en sangre:

Los días 28 de agosto de 2013 y 27 de noviembre de 2013 se obtuvieron muestras de sangre a todos los carneros, mediante punción de la vena yugular, éstas fueron extraídas con anticoagulante (EDTA) y se determinó Selenio en ellas en un periodo no mayor a 7 días de extraída. Su concentración se determinó en forma indirecta mediante la dosificación de la actividad de la glutatión peroxidasa (GSH-Px), según Ceballos y col. (1999) utilizando un reactivo comercial Ransel de Randox Laboratories.

Se determinó la concentración de hemoglobina para expresar los resultados de selenio en Unidades Internacionales por gramo de hemoglobina. La determinación de Hemoglobina se realizó por el método colorimétrico de la

cianometahemoglobina (Todd-Sandford-Davidsohn, 1988) utilizando reactivo comercial de laboratorios Wiener.

Análisis de datos:

Fueron analizadas las variables de calidad de semen y variables de preñez a la ecografía.

Para las variables de calidad de semen, concentración (millones spz/mL), volumen (mL/eyaculado), movilidad masal y movilidad a la descongelación y a las 2 horas, fueron realizados intervalos de confianza del 9 5% para la media de concentración y volumen en la población.

Para las variables de preñez el modelo ajustado correspondió al de un diseño completamente aleatorizado donde los tratamientos corresponden a un experimento factorial 2x2. Un factor fue el método de inseminación (cervical e intrauterino) siendo el otro factor la suplementación con selenio de los carneros (suplementados y control). Los 4 tratamientos comparados son: Cervical ±Fresco ± Selenio; Cervical ± Fresco ± Control; Intrauterino ± Congelado ± Selenio y Intrauterino ± Congelado ± Control, siendo los efectos estimados: métodos de inseminación, suplementación en interacción entre ambos.

Dado que la variable de respuesta estudiada es la proporción de ovejas preñadas en cada tratamiento (con y sin selenio), y ya que estas proporciones se distribuyen en forma binomial, fue ajustado un modelo lineal generalizado.

Se realizaron comparaciones de medias entre los tratamientos por el método de Tukey con un nivel de significación del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSION:

Animales:

En el inicio del ensayo en el grupo de carneros no se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) entre las medias de los tratamientos de selenio y control para las variables estudiadas como son circunferencia escrotal y condición corporal.

Tabla 7: Promedio de condición corporal y circunferencia escrotal para el grupo de carneros control y selenio.

Tratamiento	Condición Corporal	Circunferencia Escrotal
Control	3,6	31
Suplementado	3,5	31

$p>0,05$

Dentro del grupo de ovejas de cría no se encontraron diferencias significativas (p>0,05) entre los tratamientos en cuanto a la condición corporal al momento inicial.

Tabla 8: Promedio de condición corporal para cada grupo de ovejas al momento de inicio.

Tratamiento	Condición Corporal
Cervical Control	2,89
Cervical Suplementado	2,91
Intrauterina Control	2,93
Intrauterina Suplementado	2,87

p>0,05

En ambos grupos estos resultados dejan de lado diferencias en los resultados reproductivos por causa del estado de los animales analizados por tratamientos.

Calidad seminal:

La movilidad masal promedio de los dos grupos de carneros presentó valores superiores a 3,5 y no mostró diferencias significativas (p>0,05) al comienzo del ensayo y tampoco a los 70 días post-suplementación.

Tabla 9: Movilidad masal a los 70 días post-suplementación.

Tratamiento	Movilidad Masal
Selenio	3,5 +/- 0,51
Control	3,5 +/- 0,55

p>0,05

Al inicio no se observaron diferencias significativas (p=0.4918) en cuanto al volumen eyaculado entre el grupo que luego fue tratado con selenio y el grupo control, el volumen promedio eyaculado es de 1mL y 1,07 mL respectivamente. A los 70 días posteriores se encontraron diferencias significativas (p=0.0263) entre el grupo suplementado y control, la media es 2,3 mL para el grupo suplementado mientras que para el grupo control es 0,7 mL.

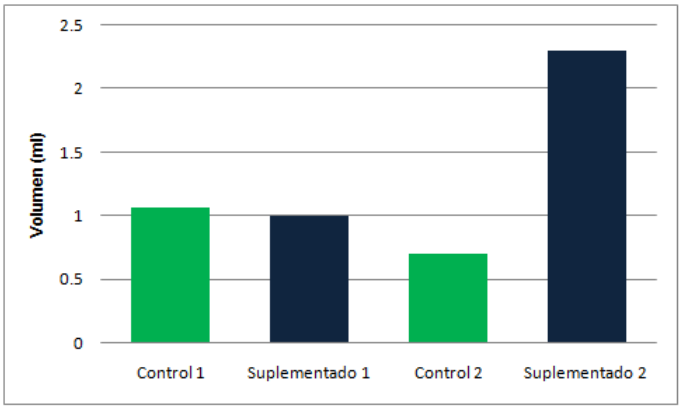

Figura 2. Volumen eyaculado promedio en cada grupo al momento 1 y 2.

Antes de la aplicación de Selfos plus® no hubo diferencias significativas (p=0.7676) en la concentración espermática por eyaculado entre grupo suplementado y control, la media fue de 4000 millones spz/mL y 4033 millones spz/mL respectivamente. Cuando se evaluó la misma a los 70 días pos-administración de Selfos plus®, la diferencia fue significativa (p=0.0265). Los carneros suplementados con Selenio, tuvieron mayor concentración espermática que los carneros sin tratar (4097 millones spz/mL vs. 3960 millones de spz/mL).

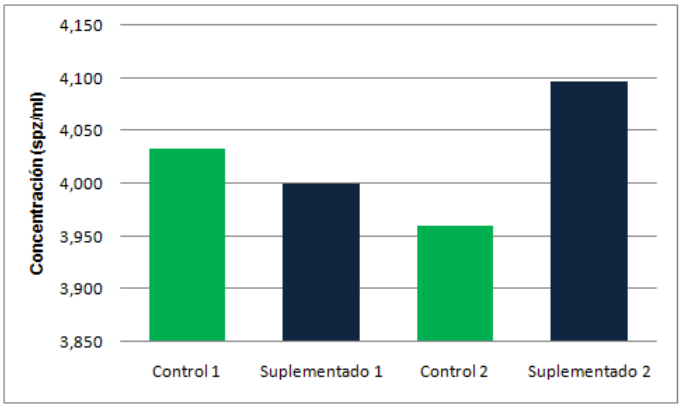

Figura 3. Concentración eyaculado promedio en cada grupo al momento 1 y 2.

La nutrición aparece como el factor dominante en controlar la actividad testicular, las deficiencias en minerales y vitaminas afectan la producción de semen. Es en la pared de los tubos seminíferos donde se producen los espermatozoides y donde se encuentran las células de Sertoli que regulan y coordinan la formación y liberación de espermatozoides. La literatura reporta la importancia de la suplementación con minerales y vitaminas sobre la producción espermática (Sapsord, 1951; Martin y col., 1990) y más específicamente se indica que el suplemento de selenio a la dieta tiene un papel importante en la determinación de la concentración espermática y en el número de células de Sertoli (Behne y col., 1996; Guzman-Marin, y col., 2000).

Para Fernández Abella y col. (1993), de los factores ambientales que afectan la calidad y la cantidad de semen, la nutrición es el único que lo hace permanentemente, afectando el crecimiento testicular, y la calidad espermática enmascarando y/o reduciendo el efecto del fotoperiodo.

La condición corporal de los carneros no varió significativamente durante el período del ensayo

En cuanto a las dosis que se obtienen por eyaculado promedio no se observaron diferencias significativas (p>0,05) al momento inicial para el grupo suplementado y control. El grupo suplementado presenta una media de 50 dosis por eyaculado mientras que el grupo control 54 dosis. En el momento final se observaron

diferencias significativas (p<0,05) entre ambos grupos, el grupo suplementado tiene una media de 118 dosis mientras el control 35 dosis. La dosis inseminante tomada como referencia es de 80 millones de espermatozoides (Fernandez Abella, 2003). Esto es muy importante, ya que sin modificar la fertilidad la suplementación con selenio puede permitir inseminar más animales en trabajos a celo natural o sincronizados con semen fresco.

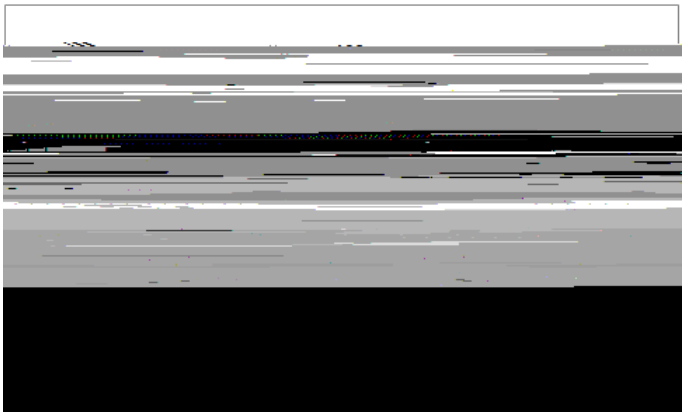

Figura 4. Cantidad de dosis por eyaculado promedio al momento 1 y 2.

Los resultados de calidad seminal obtenidos concuerdan con Marín-Guzman y col. (2000) y Kendall y col. (2000) que afirman que la suplementación con selenio mejora la concentración espermática. Álvarez y Storey (1984) también sugieren que la suplementación puede dar lugar a un aumento de la calidad del semen en carneros de campo.

Después de la absorción intestinal, el Selenio es llevado al hígado y vertido nuevamente a la circulación sanguínea, se distribuye en los diferentes órganos del cuerpo y se almacena principalmente en los tejidos que contienen proteínas. Su almacenamiento es de aproximadamente 60 días (Krishnamurti y col., 1989; Yu y Beynen, 2001). Por este motivo, la administración de Selfos plus® influyó en la calidad del semen obtenida a los 70 días pos administración

Los cambios producidos en la concentración espermática y el volumen fueron los determinantes del incremento en la producción espermática (concentración x volumen), lo que demostró el efecto del selenio en estas características.

Al momento de la descongelación (0 h), se observó que el semen del grupo tratado tuvo mayor porcentaje de movilidad, 21 puntos de porcentaje más que el semen del grupo testigo (61,0 vs 40,0%; p<0,05). A 2 horas la movilidad de los espermatozoides disminuyó, tanto para el semen del grupo tratado como para el grupo testigo (40vs 28% respectivamente, p<0,05).

CONCLUSIONES:

La suplementación con selenio en épocas carenciales como es la primavera y más aun en nuestras condiciones de cría extensiva con suelos mayoritariamente de basalto resulta beneficiosa. Este periodo de carencia de selenio en plantas también coincide con el comienzo de la estación de cría en la raza Merino Australiano y por lo tanto un aumento en la tasa metabólica en órganos reproductivos de los carneros.

La fertilidad en ovejas inseminadas con semen congelado del grupo suplementado fue significativamente superior al grupo control. Sin embargo, no se observaron mejoras en la fertilidad de ovejas inseminadas con semen fresco del grupo suplementado frente al control.

Con la administración de Selfos plus® en carneros Merino Australiano, setenta días previo a la encarnerada, se obtuvo mayor volumen y concentración espermática respecto a un grupo testigo, y como consecuencia una mayor cantidad de dosis inseminante.

BIBLIOGRAFIA:

1. Aitken, R. J.; Baker, M. A. (2004).Oxidative stress and male reproductive biology. Reprod. Fertil. Dev. 16: 581 ±588.

2. Alvarez, J. G.; Storey, B. T. (1984). Assessment of cell damage caused by spontaneous lipid peroxidation in rabbit spermatozoa. Biol. Reprod. 30: 323 ± 331.

3. Alvarez, J. G.; Storey, B. T. (1995). Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa. Mol. Reprod. Dev. 42: 334 ±346.

4. Anke, M.; Angelow, L.; Groppel, B.; Arnhold, W.; Gruhn, K. (1989).The effect of selenium deficiency on reproduction and milk performance of goats. Arch. Anim. Nutr. Berlin 39: 483 ±490.

5. Anzola, H. (1999). Algunas descripciones de la actividad biológica y fisiológica del Selenio. Director regional Cundinamarca ICA. Disponible en: http://encolombia.com/acovez24284_algunas14.htm. Fecha de consulta: 23 de Julio de 2014.

6. Arechiga, C. F.; Ortiz, O.; Hansen, P. J. (1994). Effect of prepartum injection of vitamin E and selenium on postpartum reproductive function of dairy cattle. Theriogenology 41: 1251 ±1258.

7. Balicka-Ramisz, A.; Pilarczyk, B.; Ramisz, A.; Wieczorek, M. (2006). Effect of selenium administration on blood serum Se content and on selected reproductive characteristics of sheep. Archiv Tierzucht. 49:176-180.

8. Behne, D.; Duk, M.; Elger, W. (1986).Selenium content and glutathione peroxidase activity in the testis of the maturing rat. J. Nutr. 116: 1442-1447.

9. Behne, D.; Hofer-Bosse, T.; Wallrabe, R. V. B.; Elger, W. (1982). Selenium in the testis of the rat: Studies on its regulation and its importance for the organism. J. Nutr. 112: 1682-1687.

10. Bell, B. (1997). Mineral Nutrition in Sheep. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Ontario. 11 p.

11. Berretta, E. (1998). Contenido de minerales en pasturas naturales de Basalto. I Especies nativas Seminario de actualización en tecnologías para Basalto. Serie Técnica 102. INIA Tacuarembó. pp 99 ±111.

12. Blasina, E. (2014). Perspectivas Agropecuarias 2014. Montevideo. Mosca. 360p.

13. Bonino, J. (2000). Evaluación clínica reproductiva del carnero. Revista Plan Agropecuario. (89): Disponible en: http://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R89/R89_41.htm Fecha de consulta: 2 de Julio de 2014.

14. Bottaro, M. (2014). Situación del mercado lanero. Lananoticias. (166): 24 ±25.

15. Burk, R.; Hill, K. (2005). Selenoprotein P: an extracellular protein with unique physical characteristics and a role in selenium homeostasis. Annual Review of Nutrition 25: 215-235.

16. Burk, R.F.; Hill, K.E. (1993).Regulation of selenoproteins.Annu. Rev. Nutr. 13: 65 ±81.

17. Calvin, I. H.; Cooper, G. W.; Wallace, E. (1981).Evidence that selenium in rat sperm is associated with a cysteine-rich structural protein of the mitochondrial capsules. Gamete Res. 4: 139 ±149.

18. Capaul, E. G.; Carcagno, A. R.; De Luca, L. (1988). Alterations in the semen quality and plasma enzymes in bulls. Relation with selenium deficiency. Selenium in Medicine and Biology. Proceedings of the Second International Congress on Trace Elements in Medicine and Biology, Avoriaz, Francia, pp. 377-379.

19. Cardellino, R.; Trifoglio, J. (2003). El mercado de lanas Merino finas y superfinas. Seminario Internacional: Lanas Merino finas y superfinas, producción y perspectivas. Salto, Uruguay. P. 1-12-

20. Ceballos A, FG Wittwer, PA Contreras, E Quiroz, H Böhmwald. (1999). Actividad de glutatión peroxidasa en bovinos lecheros a pastoreo correlacionada con la concentración sanguínea y plasmática de selenio. Pesq Agrop Bras 34: 2331-2338.

21. Ceballos, A.; Wittwer, F.G.; Contreras, P.A.; Bohmwald, H. (1998) Actividad sanguínea de glutatión peroxidasa en rebaños lecheros a pastoreo: variación según edad y época del año. Archivos de Medicina Veterinaria, 30 (1): 13-22.

22. Cristaldi, L.A.; McDowell, L.R.; Buergelt, C.D.; Davis, P.A.; Wilkinson, N.S.; Martin, F.G. (2005). Tolerance of inorganic selenium in wether sheep.Small Rumin. Res. 56: 205 ±213.

23. Cuesta, P.A.; McDowell, L.R.; Kunkle, W.E. (1995).Effects of high-dose prepartum injections of Se and vitamin E on milk and serum concentrations in ewes. Small Rumin.Res.18: 99-103.

24. Cunningham, J.; Klein, B. (2009). Fisiología Veterinaria. 4º ed. Barcelona, Elsiever, 700 p.

25. Davis, P.A.; McDowell, L.R.; Wilkinson, N.S.; Buergelt, C.D.; Van Alstyne, R.; Weldon, R.N.; Marshall, T.T. (2006). Tolerance of inorganic selenium by range-type ewes during gestation and lactation. Journal of Animal Science. 84:660-668.

26. Elhordoy, D. (1998). Curso de inseminación artificial. (Manual técnico), Montevideo, Facultad de Veterinaria. 60 p.

27. Evans, G.; Maxwell, W.M.C. (1990). Inseminación artificial en ovejas y cabras. Zaragoza, Acribia 192 p.

28. Fernandez Abella, D. (1993). Principios de Fisiología Reproductiva Ovina. Montevideo. Ed. Hemisferio Sur y Universidad de la República. 254p.

29. Fernandez Abella, D. (1996). Temas de reproducción ovina e inseminación artificial en bovinos y ovinos. Salto, Uruguay, Facultad de Agronomía. 206 p.

30. Fernandez Abella, D. (2003). Manual de inseminación artificial por vía cervical en ovinos. Montevideo, Secretariado Uruguayo de la Lana. 71 p.

31. Fernandez Abella, D.; Bonilla Riera, C.; Irabuena, O.; Sterla, S. (2003). Importancia de la sincronización del celo y de la calidad del semen en la fertilidad obtenida por inseminación intrauterina. Serie de Actividades de Difusión 343 - INIA Tacuarembó. Uruguay. 74 p.

32. Fernandez Abella, D. (2008). Manual de inseminación artificial por vía cervical en ovinos. Montevideo. Secretariado Uruguayo de la Lana. 77p.

33. Fernandez Abella, D.; Presa, Y.; Irabuena, O.; Sterla, S.; Villegas, N. (2013). Efecto del Selfos plus en la fertilidad del semen fresco y congelado en carneros Merino. Revista Argentina de Producción Animal 33 (1): 43-52.

34. Fernández Abella, D.; Villegas, N.; Echeverría, D.; Robaina, J. (1993). Evaluación de las variaciones estacionales en la producción espermática de cuatro razas ovinas. Boletín Técnico de Ciencias Biológicas 3: 23-24.

35. Gibbons, A., Cueto, M., Garcia Vinent, J., Wolff, M. y Arrigo, J. (1993). Obtención, procesamiento y conservación del semen ovino. Manual de divulgación. Comunicación Técnica de Producción Animal del INTA Bariloche Nº 200. 19 p.

36. Gibbons, A.; Cueto, M. (1995). Manual de Inseminación Artificial en la Especie Ovina. INTA Bariloche.19 p.

37. Gurdogan, F.; Yildiz, A.; Balicki, E. (2006) Investigation of serum Cu, Zn, Fe and Se concentrations during pregnancy (60, 100 and 150) and alter parturition (45 days) in single and twin pregnant sheep. Journal Veterinary Animal Science. 30: 61-64.

38. Guthrie, H. D.; Welch, G. R. (2006). Determination of intracellular reactive oxygen species and high mitochondrial membrane potential in Percoll-treated viable boar sperm using fluorescence-activated flow cytometry. Journal of Animal Science. 84:2089-2100.

39. Gutteridge, J. M. C.; Halliwell, B. (1994). Antioxidants in Nutrition, Health and Disease. Oxford Univ. Press, Oxford. 152 p.

40. Harrison, J. H.; Hancock, D. D.; Conrad, H. R. (1984).Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. J. Dairy Sci. 67: 123 ±132.

41. Hemler, M. E.; Lands, W. E. M. (1980).Evidence of peroxide-initiated free radical mechanism of prostaglandin biosynthesis. J. Biol. Chem. 225: 6253 ± 6261

42. Hill, F.I.; Wyeth, T.K.; Death, A. F. (1992).Blood selenium concentrations and glutathione peroxidase levels of unsupplemented and supplemented alpacas in New Zealand. Trace Elements: Roles, risks and remedies. Proceedings of the New Zealand Trace Elements Group Conference, New Zealand. pp. 135-140.

43. Hill, K.; Zhou, J. D.; Austin, L. M.; Motley, A. K.; Ham, A. J. L.; Olson, G. E.; Atkins, J. F.; Gesteland, R. F.; Burk, R. F. (2007). The selenium-rich C-terminal domain of mouse selenoprotein P is necessary for the supply of selenium to brain and testis but not for the maintenance of whole body selenium. Journal of Biological Chemistry 282 (15): 10972-10980.

44. Jeffries, B. C. (1961). Body condition scoring and its use in management, Tasmanian Journal of Agriculture, 32: 19-21.

45. Kendall, N.R.; McMullen, S.; Green, A.; Rodway, R.G. (2000). The effect of a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus on trace element status and semen quality of ram lambs. Journal of Animal Science. 62 (4):277-83.

46. Koenig, K. M.; Rode, L. M.; Cohen, R. D; Buckley, W. T. (1997). Effects of diet and chemical form of selenium on selenium metabolism in sheep. J . Anim. Sci. 75:817-827.

47. Krishnamurti, C.R., C.F. Ramberg Jr., M.A. Shariff. (1989). Kinetic modeling of selenium metabolism in non pregnant ewes. J. Nutr. 119: 1146-1155.

48. Langlands, J.P.; Bowles, J.E.; Smith, A.J. Donald, G. E.; (1981).Selenium concentration in the blood of ruminants grazing northern New South Wales. II. Relationship with geological, pedological and other variables. Australian Journal of Agricultural Research, 32: 523-533.

49. Langlands, J.P.; Donald, G. E.; Bowles, J.E.; Smith, A.J. (1991a) Subclinical selenium insufficiency. 3. The selenium status and productivity of lambs born to ewes supplemented with selenium. Australian Journal of Experimental Agriculture. 31:37-43.

50. Langlands, J.P.; Donald, G. E.; Bowles, J.E.; Smith, A.J. (1991b).Subclinical selenium insufficiency. 2. The response in reproductive performance of grazing ewes supplemented with selenium. Australian Journal of Experimental Agriculture. 31:31-35

51. Leboeuf, B.; Restall, B.; Salamon, S. (2000).Production and storage of goat semen for artificial insemination.Anim. Reprod. Sci. 62: 113-141.

52. Levander, O. A. (1986). Selenium. En: Mertz, W. (1986). Trace elements in human and animal nutrition. 5a ed. Orlando, Academic Press. 449 p.

53. Limaye, L. S. (1997). Bone marrow cryopreservation: improved recovery due to bioantioxidant additives in the freezing solution. Stem Cells 15: 353-358.

54. Lopez Alonso, M.; Miranda, M.; Hernandez, J.; Castillo, C.; Benedito, J. L. (1997). Glutatión peroxidasa (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de selenio en rumiantes. Archivo Médico Veterinario.29 (2): 171-180.

55. Marin ±Guzman, J.; Mahan, D. C.; Whitmoyer, R. (2000).Effect of dietary selenium and vitamin E on the ultrastructure and ATP concentration of boar spermatozoa, and the efficacy of added sodium selenite in extended semen on sperm motility. Journal of Animal Science. 78:1544-1550.

56. Marti, E.; Mara, L.; Marti, J. I.; Muiño ±Blanco, T.; Cebrián ±Perez, J. A. (2007). Seasonal variations in antioxidant enzyme activity in ram seminal plasma. Theriogenology 67 (9): 1446-1454.

57. Masters, D. G.; White, C. L.; Peter, D. W., Purser, D. B.; Roe, S. P.; Barnes, M. J. (1992). A multi element supplement for grazing sheep. II. Accumulation of trace element in sheep fed different levels of supplement. Australian Journal of Agriculture Research. 43: 809-817.

58. Maxwell, W. M. C.; Watson, P. F. (1996).Recent progress in the preservation of ram semen. Animal Reproduction Science 42: 55-65.

59. McCoy, K. E.; Weswig, P. H. (1969). Some selenium response in the rat not related to Vitamin E. Journal of Nutrition, 98: 383 ±389.

60. McDowell, L.R.; Conrad, J.H. (1997).La importancia nutricional de los oligoelementos en América Latina. Revista Mundial de Zootecnia 24:24-33.

61. McKenzie, R. L.; Rafferty, T. S.; Beckett, G. J. (1998). Selenium: an essential element for immune function. Immunol. Today 19: 342 ±345.

62. MGAP-DIEA. (2013). Anuario Estadistico Agropecuario. Disponible en http://www.mgap.gub.uy/Dieaanterior/Anuario2013/DIEA_Anuario_2013.pdf. Fecha de consulta: 2 de Agosto de 2014.

63. MGAP-PRENADER. (2014). Grupo de suelos CONEAT. Disponible en: http://www.prenader.gub.uy/coneat/. Fecha de consulta: 2 de Agosto de 2014.

64. Milczewski, V.; Kozicki, L.; Luz, S.; Neves, J. (2000). Intrauterine and cervical artificial insemination in sheep using cooled semen. Archives of Veterinary Science 5: 35-39.

65. Montossi, F.; De Barbieri, I.; Mederos, A.; De Mattos, D.; Frugoni, J.C.; Martinez, H.; Zamit, W.; Levratto, J.; Grattarola, M.; Perez Jones, J. (2003). Núcleo Fundacional del Proyecto Merino Fino del Uruguay. Jornada de Producción Animal y Pasturas en Basalto. INIA Tacuarembó, Uruguay. Serie Actividades de Difusión Nº 335. pp 41 ±42.

66. Muiño, T.; Perez, R.; Cebrian, J. A. (2008). Seminal plasma proteins and sperm resistance to stress.Reproduction in Domestic Animals 43: 18-31.

67. Mynhardt, H.; Van Ryssen, J.B.J.; Coertze R.J. (2006).The effect of the heat processing of soybean seed on the metabolism of its selenium in lambs. Anim. Feed Sci. Tech., 128: 122 ±134.

68. NRC. (2005). Mineral Tolerance of Animals: Second Revised Ed Sciences-National Research Council, Washington. Academy of D.C. 510 p.

69. Oh, S.H.; Ganther, H.E.; Hoekstra, W.G. (1974). Selenium as a component of glutathione peroxidase isolated from ovine erythrocytes, Biochemistry 13: 1825-1829.

70. Piaggio, L.; Uriarte, G. (2005). Nutrición mineral de los ovinos en pastoreo en el Uruguay; revisión. Producción Ovina. 17: 5-20.

71. Pigurina, G.; Soares De Lima, J.M.; Berretta, E. (1998). Contenido de minerales en pasturas naturales de Basalto (especies nativas). Seminario de actualización en tecnologías para Basalto (1998, Tacuarembó). Trabajos presentados. Tacuarembó, INIA. p 113 ±122. (Serie Técnica N° 102).

72. Pilarczyk, B.; Balicka- 5 D P L V] $ 5 D P L V] $ 9 R Y N 6 0 D M R U G.; Cisek, A. (2004). Effect on selenium supplementation on serum Se levels and selected of performance parameters in cows, pigs and sheep. Folia Univ. Agric. Stetin., Zootechnica, 2004; 235: 53 ±58.

73. Piper, L. R.; Bindon, B. M.; Wilkins, J. F.; Cox, R. J.; Curtis, Y. M.; Cheers, M. A. (1980). The effect of selenium treatment on the fertility of Merino sheep. Proceedings of the Australian Society of Animal Production 13 pp. 241-244.

74. Randox Laboratories (1994).Technical brief. Crumlin, UK. 2p.

75. Salamon, S. (1976). Artificial insemination of sheep. N.S.W. Publicity Press, Sydney. 86pp.

76. Salamon, S.; Maxwell, W. M. C. (2000).Storage of ram semen. Anim. Reprod. Sci. 62: 77-111.

77. Salewski A.; Seegers, N. (1994).Effect of a selenium supplement on milk yield, health and fertility.Milchpraxis, 32: 196-197.

78. Salgado, C. (2014). El Mercado de carne ovina en Lananoticias. Lananoticias. (166): 21 ±23.

79. Sarlos, P.; Molnar, A.; Kokai, M.; Gabor, Gy.; Ratky, J. (2002). Comparative evaluation of the effect of antioxidantes in the conservation of ram semen.Acta Veterinaria Hungarica 50 (2): 235 ±245

80. Segerson, E. C.; Libby, D. W. (1982). Ova fertilisation and sperm number per fertilised ovum for selenium and vitamin E treated Charolais cattle. Theriogenology 17: 333 ±341.

81. Senger, PL. (2003). Pathways to Pregnancy and Parturition.2ª ed. Washington.Current Conceptions, 373 p.

82. Shi, L.G.; Yang, R. J.; Yue, W. B.; Xun, W. J.; Zhang, C. X.; Ren, Y. S.; Shi, L.; Lei, F. L. (2010). Effect of elemental nano-selenium on semen quality, glutathione peroxidase activity, and testis ultrastructure in male Boer goats. Animal Reproduction Science. 118(2-4): 248-54.

83. Staats, D. A.; Lohr, D. P.; Colby, H. D. (1988). Effects of tocopherol depletion on the regional differences in adrenal microsomal lipid peroxidation and steroid metabolism. Endocrinology 123: 975 ±980.

84. Surai, P. F. (2006). Selenium in nutrition and health. Selenium in nutrition and health Nottingham: Nottingham University Press, 974 pp.

85. Tappel, A. L.; Chow, C. K. (1974).Glutathione peroxidase activity as a function of dietary selenomethionine. Nature, 247: 392-393.

86. Tedó, G.; Casas, J. (2005). Importancia de los aportes de microminerales en la dieta de ganado ovino. TEGASA ±Departamento Técnico Rumiantes. Disponible en: http://www.tegasa.es/noticias/importancia-de-los-aportes-de-microminerales-en-la-dieta-del-ganado-ovino.html Fecha de consulta: 3 de Septiembre de 2014.

87. Thienpont, D.; Rochette, F.; Vanparijs, O. (1986). Diagnosing helminthiasis by coprological examination. Janssen Research Foundation. 2da ed. Beerse, 205 p.

88. Tinggi, U. (2003). Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. Toxicology Letters 137: 103 ±110.

89. Todd-Sanford-Davidsohn (1988). Diagnostico y tratamiento clínicos por el laboratorio. 8a ed. Barcelona, Salvat Editores. 774 p.

90. Underwood, E. J.; Suttle, N. F. (1999).The Mineral Nutrition of Livestock. Wallingford, UK. CABI. 614p.

91. Underwood, E.J. (1977). Trace elements in human and animal nutrition. 4a ed. Academic Press, New York. 545p.

92. Ungerfeld, E. (1998). Factores que afectan el contenido de minerales en pasturas naturales y el estado nutricional de vacunos y ovinos en Uruguay. Revisión Bibliográfica; edición preliminar. Tacuarembó, INIA. 230 p.

93. Ungerfeld, R. (2002a). Reproducción en los animales domésticos. Montevideo, Melibea, V1, 291 p.

94. Ungerfeld, R. (2002b). Reproducción en los animales domésticos. Montevideo, Melibea, V2, 293 p.

95. Ursini, F.; Heim, S.; Kiess, M.; Maiorino, M.; Roveri, A.; Wissing, J.; Flohe, L. (1999).Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. Science 277: 225 ±228.

96. Uysal, O.; Bucak, M. (2007). Effects of oxidized glutathione, bovine serum albumin, cysteine and lycopene on the quality of frozen-thawed ram semen. ActaVeterinaria Brno 76 (3):383-390. Disponible en http://www.web.ebscohost.com/ehost

97. Van Metre, D.C.; Callan, R.J. (2001). Selenium and vitamin E. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice 17: 373 ±402.

98. Vezina, D.; Mauffette, F.; Roberts, K. D.; Bleau, G. (1996).Selenium ±vitamin E supplementation in infertile men .Effects on semen parameters and micronutrient levels and distribution. Biol. Trace Elem. Res. 53: 65-83.

99. Watkinson, JH. (1983). Prevention of selenium deficiency in grazing animals by annual topdressing of pasture with sodium selenite. New Zealand Veterinary Journal 31: 78 ±85.

100. Wennemuth, G.; Nayernia, K.; Diaconu, M.; Aumüller, G.; Schwandt, I.; Kleene, K.; Kuehn, H.; Engel, W. (2004) Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase: expression pattern during testicular development in mouse and evolutionary conservation in spermatozoa. Mol Reprod Dev. 67 (4): 458-64.

101. Wichtell, J. J.; Craigie, A. L.; Thompson, K. G.; Williams, N. B. (1996). Effect of selenium and A-Tocopherol supplementation on postpartum reproductive function of dairy heifers at pasture. Theriogenology 46, 491 ±502.

102. Wright, P. L.; Bell, M.C. (1966). Comparative metabolism of selenium and tellurium in sheep and swine, Am. J. Physiol. 211:6-10.

103. Wu, A. S. H.; Oldfield, J. E.; Schull, L. R.; Cheeke, P. R. (1979). Specific effect of selenium deficiency on rat sperm.Biol. Reprod.20, 793 ±798.

104. Wu, A. S. H.; Oldfield, J. E.; Whanger, P. D.; Weswig, P. H. (1973). Effect of selenium, vitamin E and antioxidants on testicular function in rats. Biol. Reprod. 8, 625 ±629. Disponible en http://www.biolreprod.org/content/8/5/625.full.pdf

105. Wulster, M.C.; Wang, S.Q.; Lewis, G.S. (2004). Transcervical artificial in sheep: effects of a new transcervical artificial insemination instrument and traversing the cervix on pregnancy and lambing rates. Theriogenology 62 (6): 990-1002.

106. Yu, S.; Beynen, A. C. (2001). The lowering effect of high copper intake on selenium retention in weanling rats depends on the selenium concentration of the diet. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 9: 29-37.

ANEXOS:

Suelos CONEAT del predio:

0DSD GH VXHORV \ GHVFULSFLyQ GH VXHORV SDUD HO H según padrón (MGAP-PRENADER, 2014):

DEPARTAMENTO	NRO. PADRON	SECC. JUDICIAL	SUP. CATASTRAL (Has.)	IND. PROD.
Salto	430	7	967.3506	42

Salto - **430**

Grupo	Indice	Porc.
1.10b	30	88.71 %
12.12	149	7.14 %
B03.1	158	4.15 %

Descripción de grupos de suelos CONEAT:

1.10b: El relieve es de sierras con escarpas escalonadas y laderas de disección de forma convexa; incluye pequeños valles. Las pendientes modales son de 10 a más de 12%.La rocosidad y/o pedregosidad varían de 20 a 30% pudiendo ser a veces de más de 30%.De 85 a 95% de la superficie de este grupo está ocupada por suelos superficiales y manchones sin suelo donde aflora la roca basáltica; el resto son suelos de profundidad moderada. Los suelos dominantes son Litosoles Subeutricos (a veces Eutricos) Melanicos, rodicos (Litosoles pardo rojizos).Tienen una profundidad de 30 centímetros, aunque normalmente son muy superficiales (menos de 10 centímetros); son de textura franco limosa a franco arcillosa, con gravillas de basalto en todo el perfil y bien drenados. La fertilidad natural es de media (en los Subeutricos) a alta (en los Eutricos). Estos suelos se encuentran en las posiciones más fuertes del paisaje (sierras con escarpas y laderas de disección de más de 6% de pendientes).Como asociados, ocupando pendientes menores, se encuentran Litosoles Eutricos Melanicos (Litosoles negros) y Brunosoles Eutricos Típicos moderadamente profundos (Praderas Negras y Regosoles) y superficiales (Regosoles).Ocupando pequeños valles y zonas cóncavas, se encuentran Vertisoles Haplicos (Grumosoles) de profundidad moderada y profundos. Los suelos son de uso pastoril. La vegetación es de pradera invernal, de tapiz bajo y ralo, a veces algo abierto (en suelos asociados) y cerrados en los valles. Este grupo corresponde con la unidad Cuchilla de Haedo-Paso de los Toros de la carta a escala 1:1.000.000 (D.S.F.).Se distribuye en toda la región basáltica, pudiéndose mencionar como zona típica, sobre Ruta 26, en las inmediaciones de Tambores.

12.12: Este grupo ocupa interfluvios ondulados de forma convexa, donde a veces la rocosidad llega hasta 5%. Los suelos dominantes son Vertisoles Haplicos (Grumosoles) y Brunosoles Eutricos Tipicos (Praderas Negras minimas). Como suelos asociados, ocupando las pendientes más fuertes se encuentran Vertisoles Haplicos (Grumosoles), moderadamente profundos, Brunosoles Eutricos Tipicos, moderadamente profundos (Praderas Negras superficiales) y superficiales (Regosoles) y Litosoles Eutricos Melanicos (Litosoles negros a veces pardo rojizos). El uso actual es pastoril agrícola. En este grupo hay áreas donde se puede incentivar la agricultura, aunque los suelos presentan limitaciones. Se corresponde con la unidad Itapebí - Tres Arboles de la carta a escala 1:1.000.000 (D.S.F).

B03.1: Esta unidad está asociada a las grandes vías de drenaje de la región basáltica. Se trata de un sistema de planicies aluviales de pendiente de 0% donde se distinguen dos tipos de terrenos, unos de forma general plana con vegetación arbórea de galería, vecinos a las vías de drenaje y otros, también de forma general plana, vecinos a los primeros, aunque frecuentemente con meso relieve. La rocosidad y pedregosidad son prácticamente nulas. Los suelos correspondientes al primer tipo de terreno (asociados dentro del grupo) son aluviales, generalmente arcillo limosos, a veces franco limosos en todo el perfil, ricos en materia orgánica. Se trata de Fluvisoles Isotexturales Melanicos. En el segundo tipo de terreno

(dominantes dentro del grupo), los suelos son profundos, de colores negros que se agrisan a los 50 cm y en ocasiones a los 200 cm., de texturas arcillo limosas, por lo general con transición gradual a sedimentos limosos. A veces presentan sobre el perfil material aloctono y actual (deposiciones aluviales). Se trata de Vertisoles Haplicos paracuicos/aerico/no Hidromorficos (Grumosoles). La vegetación es de selva aluvial típica y parque con pradera predominantemente invernal y de tapiz denso, asociada a comunidades hidrófilas uliginosas accesorias. Este grupo se corresponde con la unidad Arapey de la carta a escala 1:1.000.000.