

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**ECOGENICIDAD E HISTOLOGÍA TESTICULAR EN BORREGOS DENTRO Y FUERA DEL PERÍODO REPRODUCTIVO, QUE FUERON GESTADOS COMO MELLIZOS O COMO ÚNICOS, CON O SIN ESQUILA PREPARTO DE SUS MADRES**

**“por”**

**Fabiana Rosina CORREIA HELGUERA  
Tatiana SAPORITI NOGUEIRA**

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

**MODALIDAD TRABAJO EXPERIMENTAL**

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2015**

**PÁGINA DE APROBACIÓN**

**Presidente de Mesa:** .....  
Dra. Raquel Pérez Clariget

**Segundo Miembro (Tutor):** .....  
Dra. Patricia Genovese

**Tercer Miembro:** .....  
Dr. Graciela Pedrana

**Cuarto Miembro:** .....  
Dr. Alejandro Bielli

**Quinto Miembro:** .....  
Dr. Danilo Fila

**Sexto Miembro:** .....  
Dr. Carlos López Mázz

**Fecha:** 18 de Diciembre de 2015.

**Autor:** .....  
Bach. Tatiana Saporiti Nogueira

.....  
Bach. Rosina Correia Helguera

## AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a nuestra tutora Dr. Patricia Genovese, quien nos acompañó a lo largo de este trabajo, dando todo de sí; tiempo, paciencia, su constante disposición y dedicación, compartiendo sus conocimientos, afecto y confianza.

También queremos agradecer a nuestros co-tutores: Dr. Alejandro Bielli, Dr. Danilo Fila y Dr. Carlos López Mázz por sus sugerencias, correcciones brindadas y tiempo dedicado en nuestro trabajo.

Agradecer a INIA “La Estanzuela” por confiar en nosotras y dejarnos trabajar con parte de uno de sus tantos proyectos.

Finalmente queremos agradecer a nuestros compañeros de facultad, principalmente a los del Orientado OPA Sur 2013. Excelente grupo de profesionales y personas con quienes tuvimos el placer de encontrarnos por la vida, especialmente a Vale, Ire, Ine y Pilar que supieron marcar a fuego momentos tan importantes para nosotras.

A todos ellos, MUCHAS GRACIAS.

Quiero en principio agradecerle a mis padres quienes me dieron todas las oportunidades y herramientas que pudieron y más, apoyándome y guiándome incondicionalmente, inculcándome disciplina, valores y por sobretodo dándome su amor. Por otro lado quiero agradecer a mi hermana, principalmente por ser mi impulso en mis momentos de mayor debilidad y poco juicio. Ha sido una gran compañera, marcándome el camino y protegiéndome ante todo. También quiero agradecer a mis cuatro abuelos, que han sido unos segundos padres, cuidándonos y educándonos a mí y a mi hermana con todo el amor y dedicación del mundo. Quiero agradecer a Juan Franceschini quien me ha ayudado con el estudio activamente y me ha acompañado, dándome confianza a cada paso en mi carrera. Quiero agradecer a mi familia, primos y tíos por su apoyo, por compartir momentos de alegría y estar en los momentos difíciles. Particularmente a Lourdes Portas y Gustavo Gretter que han sido un gran apoyo, aconsejándome e impulsándome a seguir. Me es importante agradecerle a Pedro Arotce, Mara Othaix, Cristina Arotce y Andrea Arotce por aceptarme como soy y alentarme siempre. No quiero dejar de agradecer a mis amigos, todos y cada uno de ellos ha estado presente en mi vida ocupando un rol que solo cada uno de ellos podía ocupar dándole ese gusto especial a la vida que solo los amigos de verdad saben darle, aunque estuviéramos a

miles de kilómetros de distancia. Por último quiero agradecer especialmente a Guillermo Arotce. Es el mejor compañero que puedo tener, una excelente persona que jamás dudó de mí, y me apoyo en todas mis decisiones. Me ayudo en todo momento, incluso cuando creí que no necesitaba ayuda. Estuvo siempre presente aunque estuviéramos a miles de kilómetros de distancia. Me aceptó como soy y me hizo sentir una persona especial para él. Me ha cuidado y amado incondicionalmente. Con él pase las cosas más duras de mi vida y logró tornarlas más amenas. Supo compartir los momentos más felices de mi vida y tomar el rol que necesitaba en cada momento. Le agradezco por todo, desde que lo conocí hasta ahora.

Tatiana Saporiti

*“Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado, un esfuerzo total es una victoria completa” M. Gandhi.*

*La victoria ha sido nuestra.*

Quiero agradecer;

A mis padres, pilares fundamentales en todo momento, los cuales supieron enseñarme lo que es realmente valioso en la vida, por su constante apoyo en mis intentos de crecimiento, por haber fomentado en mí el deseo de superación y de triunfo en la vida. A mis hermanas Mari y Anita, que con tierna complicidad supieron acompañar en todo momento, brindando su cariño y apoyo incondicional. A mi Pichu querida, que desde el momento que llegó a mi vida, indudablemente la enriqueció. A mi Abuelo, Tíos y Primos. A las hermanas que la vida permitió que eligiera; Mai, Mari, Fer, Naty, Vero, Fafa, por tantas instancias de risas y llantos. A mis eternas compañeras de vocación, amigas en lo largo de este camino, Vale e Ine.

A Nacho por su compañerismo infinito, que desde un principio de una forma u otra aportó en mí, granitos de arena para que sea la persona q soy hoy. Finalmente a mis mascotas, mis primeros “pacientes”, Sama, Rudy y Rebe.

Rosina Correia Helguera

<b>PAGINA DE APROBACIÓN</b> .....	2
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	3
<b>LISTA DE CUADROS Y FIGURAS</b> .....	6
<b>RESUMEN</b> .....	7
<b>SUMMARY</b> .....	8
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	9
<b>1.1 Importancia de la especie y la raza de ovinos que se utilizó</b> .....	9
<b>2. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS</b> .....	9
<b>2.1. Manejo de los animales</b> .....	9
2.1.1. Esquila preparto y su efecto sobre la descendencia.....	9
<b>2.2. Características del comportamiento reproductivo en el ovino</b> .....	11
2.2.1. Carga fetal.....	11
2.2.2. Estacionalidad reproductiva en ovinos.....	13
2.2.3. Estudios de estacionalidad en nuestro país.....	15
<b>2.3. Gónada masculina</b> .....	16
2.3.1. Características generales e histofisiológicas del testículo.....	16
<b>2.4. Técnicas utilizadas</b> .....	21
2.4.1. Histología cuantitativa.....	21
2.4.2. Ultrasonografía.....	21
<b>2.5. Correlación entre histología cuantitativa y ecogenicidad testicular</b> .....	23
<b>2.6. Marco en el cual se realizó el presente diseño experimental</b> .....	25
<b>3. HIPÓTESIS</b> .....	25
<b>3.1. General</b> .....	25
<b>3.2. Hipótesis particulares</b> .....	25
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	26
<b>4.1. Objetivo General</b> .....	26
<b>4.2. Objetivos particulares</b> .....	26
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	26
5.1 Manejo de animales y descripción de muestreo.....	26
<b>5.2. Procesamientos</b> .....	29
5.2.1. Histológico.....	29
5.2.2. Imágenes obtenidas por ultrasonografía.....	29
<b>5.3. Análisis</b> .....	30
5.3.1. Morfometría de cortes histológicos.....	30
5.3.2. Análisis estadístico.....	30
<b>6.RESULTADOS</b> .....	31
<b>6.1. Efectos e interacciones encontrados para cada variable estudiada</b> .....	31
<b>6.2. Correlaciones</b> .....	34
<b>6.3. Regresiones</b> .....	37
<b>7. DISCUSIÓN</b> .....	37
<b>8. CONCLUSIONES</b> .....	40
<b>9. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	41

## LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

- Figura 1.** Regulación hormonal hipotalámica de la reproducción en machos. (Cunningham, Bradley 2009). Página: 17.
- Figura 2.** Diagrama de la espermatogénesis basado en diagrama de Cunningham y Bradley, 2009. Página: 19.
- Figura 3.** Examen ecográfico del contenido escrotal en carneros (Gouletsou, Fthenakis 2010). Página: 27.
- Figura 4.** Esquema cronológico de actividades. Página: 28.
- Figura 5.** Evaluación de intensidad de píxeles. Página: 29.
- Figura 6.** Grilla de cruces para conteo de volúmenes y medición de diámetros de túbulos seminíferos. Página: 30.
- Figura 7.** Imágenes histológicas y ecográficas de animales CEPP1M (Con esquila parto, hijos únicos, muestreados en Marzo), CEPP2M (Con esquila parto, hijos mellizos, muestreados en Marzo), CEPP1O (con esquila parto, hijos únicos, muestreados en Octubre), CEPP2O (con esquila parto, hijos mellizos, muestreados en Octubre). Página: 35.
- Figura 8.** Imágenes histológicas y ecográficas de animales SEPP1M (Sin esquila parto, hijos únicos, muestreados en Marzo), SEPP1M (Sin esquila parto, hijos únicos, muestreados en Marzo), SEPP1O (Sin esquila parto, hijos únicos, muestreados en octubre), SEPP2O (Sin esquila parto, hijos mellizos, muestreados en octubre). Página: 36
- Tabla 1.** Efectos e interacciones para cada variable. Página: 32.
- Tabla 2.** Tabla 2. Media  $\pm$  sem para cada nivel de cada efecto en las variables estudiadas. Página: 33.
- Tabla 3.** Correlaciones entre las variables estudiadas, en las que  $P \leq 0,05$ . Página: 34.
- Gráfica 1.** Media  $\pm$  sem por variable analizadas en Octubre 2013 y Marzo 2014 Página: 33

## RESUMEN

Se sabe que la esquila pre parto ofrece ventajas sobre la esquila tradicional, que las gestaciones de mellizos o trillizos se acompañan por menos peso placentario y fetal pero que cuando son hijos de madres con esquila pre parto estos parámetros aumentan. Por otra parte se sabe que los ovinos presentan estacionalidad reproductiva. Los objetivos planteados fueron: evaluar si existen diferencias en borregos cuando fueron gestados mellizos o únicos con o sin esquila pre parto de sus madres, dentro o fuera del período de actividad reproductiva; para esto se estudiaron las siguientes variables: peso testicular, peso epididimario, variables histológicas cuantitativas, intensidad de píxeles a la ecografía del parénquima testicular. También se planteó estudiar si existe correlación entre las variables histológicas y ecográficas obtenidas de borregos del experimento dentro y fuera de la estación reproductiva.

Para este ensayo se utilizaron 46 borregos, siendo 24 únicos y 22 mellizos hijos de ovejas a las cuales se les realizó sincronización de celo e inseminación artificial. Posteriormente se esquiló a los 50 días de gestación a la mitad de las madres gestando hijos únicos y a la mitad de las madres gestando mellizos. Se realizó ecografías testiculares (Ecog. Test. Der), al día siguiente se pesó a los animales (PV), se midió circunferencia escrotal (CE), posteriormente se castró, se disecó testículo y epidídimo, se tomaron peso del testículo derecho (PTD) y epidídimo derecho (PED) por separado y se extrajeron muestras para histología, donde se midieron los diámetros de los túbulos seminíferos (D.Túb.Sem.D) y el volumen porcentual de epitelio (%Epit.D) y luz (%Luz D) de los túbulos seminíferos e intersticio testicular (%Inter.D).

Se observaron diferencias entre los animales evaluados dentro y fuera de la estación reproductiva para las variables; CE, PTD, PED, D.Túb.Sem.D y Ecog. Test. Der, siendo mayores los valores para los animales analizados dentro de la estación reproductiva.

Por otro lado se encontraron correlaciones positivas entre PV y CE, PTD, PED y D.Túb.Sem.D, entre CE y PTD, PED y D.Túb.Sem.D, entre PTD y PED, entre PED y D.Túb.Sem.D, y correlaciones negativas entre CE y Ecog. Test. Der, entre D.Túb.Sem.D y Ecog. Test. Der. También se observó regresión negativa entre D.Túb.Sem.D y Ecog. Test. Der y ésta con PTD.

De este ensayo experimental concluimos que la esquila pre parto de ovejas criadas en Uruguay de forma intensiva, y bajo nuestras condiciones de manejo experimental, no afectó el desarrollo testicular de los borregos hijos de las mismas. El número de fetos durante la gestación tampoco afectó el desarrollo testicular postnatal. La estación reproductiva sí afectó el desarrollo testicular. Asimismo encontramos correlación y regresión negativas entre la ecogenicidad testicular y tanto el peso testicular como el diámetro de los túbulos seminíferos.

## SUMMARY

It is well known that mid-pregnancy shearing has a lot of advantages over traditional shearing. Furthermore, twins and triplets gestations are associated with lower fetal and placental weight but when mothers are sheared both pre partum fetal and placental weight increase. It is also well known that ovine reproduction is seasonal. The objectives of this experiment were: to evaluate if differences on hoggets which were gestated as singletons or twins, with or without mid-pregnancy shearing of their mothers, during or out of the reproductive season, exist.

Therefore the next variables were studied: testicular weight (TW), epididymus weight (EW), quantitative histological variables, pixel intensity of their ultrasound pictures.

It was also intended to study if there existed any correlation between the histological and the ultrasound variables obtained from the hoggets studied on the reproductive season and out of the reproductive season.

For this experiment we used 46 hoggets, 22 twins and 24 singletons. Pregnant ewes were synchronized and artificially inseminated. Half of the ewes gestating twins and half of the ewes gestating singletons were sheared at gestation day 50. Ultrasound was performed to right testes of every hogget for later analysis of the pixel intensity of the images taken (Ecog. Right. Test). The following day they were weighed, their testicular circumference was measured. Later they were castrated and testicles as well as epididymus were dissected, and later weighed separately. Samples for histological processing were taken from both, testicles and epididymis. With them we measured the diameter of the seminiferous tubules (D. R.Sem. Tub) and evaluated the percent volume of the lumen of the seminiferous tubules (% Lumen), the epithelium of the seminiferous tubules (%Epith) and the interstice (% Interst). Finally, correlations and regressions analysis between the histological and ultrasound variables were performed.

There were found differences between animals evaluated on the reproductive season and out of the reproductive season for the following variables: SC, RTW, (RED), D. R.Sem. Tub, and Ecog. Right. Test. Whose values were higher in the reproductive season. Positive correlations were found between LW and SC, RTW, REW, D. R.Sem. Tub, between SC and RTW, REW and D. R.Sem. Tub, between RTW and REW, and between REW and D. R.Sem. Tub. Negative correlations were found between SC and Ecog. Right. Test, between D. R.Sem. Tub and Ecog. Right. Test, and between % Lumen and %Epith. We also found a negative regression between D. R.Sem. Tub and Ecog. Right. Test.

We concluded that neither mid-pregnancy shearing, of intensively bred ewes in Uruguay under the present intensive conditions, nor the number of fetuses gestated affected the testicular development of their hoggets. On the other hand, the reproductive season did affect the testicular development. In fact, we found negative correlations and regressions between testicular echogenicity and testicular weight as well as with the diameter of the seminiferous tubules.



## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. Importancia de la especie y la raza de ovinos que se utilizó**

Si bien la cría de ovinos en nuestro país viene cayendo desde hace 5 años, según DICOSE en el 2011 se registraron 7.471.316 ovinos, y en 2013 el stock ovino fue de 7.427.126 animales (DICOSE, 2014). Aunque en la década anterior hubo una disminución marcada del stock ovino uruguayo, vinculada a la caída del precio internacional de la lana, en los últimos años se ha podido ver una alentadora recuperación, posiblemente relacionada al rubro cárnico. A pesar de esta caída nuestro país sigue siendo de los principales productores de carne y lana ovinas del mundo. El rubro ovino constituye un buen aporte de divisas por exportaciones, y como la carne ha cobrado mayor importancia económica, se hace imprescindible mejorar los indicadores reproductivos que históricamente han oscilado alrededor del 74% de señalada (SUL, 2013a).

La raza Ideal fue creada buscando obtener un ovino con mejor aptitud carnicera pero que presentara una lana de excelente calidad en lo que respecta a color, largo de mecha y finura (23 a 26 micrómetros) (SUL., 2013b). Esto se logró cruzando la raza Lincoln con Merino Australiano, obteniendo animales  $\frac{3}{4}$  Merino Australiano y  $\frac{1}{4}$  Lincoln. En Uruguay fue introducida por Jeffries y Urtubey en 1913 (SUL., 2013b); pasó de ser numéricamente la segunda raza a la tercera, con aproximadamente el 10% de la población ovina, debido al incremento relativo del Merino. Actualmente está distribuida por todo el país gracias a su gran adaptación a los distintos sistemas productivos (SUL., 2013b).

## **2. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS**

### **2.1. Manejo de los animales**

#### *2.1.1. Esquila preparto y su efecto sobre la descendencia*

La técnica de esquila a las ovejas antes del parto tuvo su origen en Nueva Zelanda a fines de la década de los cuarenta. Es un componente muy importante de la tecnología de manejo extensivo, y sus efectos refuerzan los del buen manejo del pastoreo y de la hacienda (Borrelli, 2001).

Uno de los efectos que genera la esquila pre parto sobre la oveja es la disminución del aislamiento térmico, lo cual provoca un aumento en la pérdida de calor y por lo tanto mayores requerimientos energéticos (Ólafur, 1991; Borrelli, 2001). Otro efecto es la disminución inmediata del peso de la oveja, lo cual aumenta su movilidad (Borrelli, 2001). Todo esto lleva a un aumento del consumo diario de forraje, principalmente en la primeras 3 a 4 semanas pos esquila, siendo este aumento de un 10% al 20% generalmente, pudiendo llegar a un 60% (Vipond y col., 1987; Borrelli, 2001).

También se sabe que hay una mejor utilización de la proteína de la dieta por parte de las ovejas que tienen esquila preparto, lo cual se cree que estimularía el crecimiento fetal (Ólafur., 1991). Resulta interesante que todos estos efectos se dan en el final de la

gestación y en la lactancia (Borelli, 2001; Montossi y col., 2005). A su vez, la gestación de ovejas que han sido esquiladas preparto dura 2 días más que la de las ovejas que no presentan esquila preparto (Black y Chestnut, 1990; Sphor y col., 2011). Estudios demuestran que los corderos hijos de ovejas con esquila pre parto tienen mayor peso al nacer (Ólafur., 1991; Marques, 2013), manteniéndose hasta el destete, más alto que el de corderos hijos de ovejas sin esquila pre parto (Morris y col., 1999; Marques, 2013). En este sentido se destaca también que los corderos hijos de ovejas con esquila preparto son más largos, bajos y con esqueletos de mayor peso (Jopson y col., 2002; Montossi y col., 2005). Se ha estudiado que esquilar ovinos genera cambios metabólicos que pueden ser evidenciables a nivel sanguíneo (Piccione y col., 2008), particularmente en ovejas esquiladas preparto se sugiere que el estrés debido al frío inhibe la secreción de insulina, resultando en concentraciones altas de glucosa en sangre (Symonds y col., 1986), permitiendo una mayor disponibilidad de glucosa al feto (Ólafur, 1991).

Por otro lado, esquilas entre los 60 y 90 días pre parto podrían provocar un cambio hormonal y metabólico en la oveja, aumentando la oferta de ácidos grasos no esterificados a la placenta (Sherlock y col., 2003). Esto implicaría una mejor nutrición de la misma, sugiriendo así el mayor peso en la placenta de ovejas con esquila preparto (Banchero y col., 2010; Marques, 2013), aumento del número y diámetro de cotiledones (Montossi y col., 2005) y la masa cotiledoneana (número de cotiledones multiplicado por el peso de cada cotiledón) (Montossi y col., 2005). De esta forma se podría explicar el mayor peso al nacer los corderos hijos de madres con esquila preparto (Sherlock y col., 2003). Este aumento del peso de los corderos también podría deberse a un aumento en el sistema de captación no insulino dependiente de la unidad feto-placenta (Revell y col., 2000). En cuanto a las variables hematológicas como hematocrito y hemoglobina se observó que corderos nacidos de ovejas con esquila preparto presentan valores menores que corderos hijos de madres sin esquila pre parto (Marques, 2013).

También se sabe que el peso de la placenta en mellizos hijos de ovejas con esquila pre parto es mayor que en hijos de ovejas sin esquila pre parto, presentando la de estos últimos un mayor número de cotiledones (Banchero y col., 2010), del mismo modo que los mellizos hijos de ovejas con esquila pre parto presentan mayores medidas corporales que aquellos mellizos de madres sin esquila pre parto (Banchero y col., 2010). También se observó que un mayor número de mellizos hijos de madres a las que se les realizó esquila pre parto tuvieron más intentos precoces de amamantar con mayor éxito (Banchero y col., 2010).

Desde el punto de vista productivo, la esquila preparto mejora el estado de las ovejas principalmente luego del parto (entre setiembre y abril), llegando a la época reproductiva con mayor peso y obteniendo una mayor tasa de preñez (Borrelli., 2001). Además, las ovejas con esquila preparto se encuentran en mejores condiciones en el período de lactancia, logrando una mejor producción de leche sin observarse cambios en la composición de la misma (Borrelli, 2001; Marques, 2013). Esto se cree que podría ser debido a que los corderos nacidos de ovejas con esquila preparto presentan mayor vigor y maman más frecuentemente (Banchero y col., 2010) o debido a que la esquila preparto genera cambios a nivel metabólico y hormonal en las ovejas, causando un aumento en el tamaño de la glándula mamaria (Cam y Kuran, 2004). Por otro lado se observa un mayor crecimiento y sobrevida de los corderos debido a que la oveja tiende a parir en

lugares más resguardados (Ólafur, 1991; Montossi y col., 2005), el cordero nacido de ovejas con esquila preparto tiene un mayor vigor (Cam y Kuran, 2004; Banchero y col., 2010; Marques, 2013) y un mayor peso al nacimiento (Ólafur, 1991) y encuentra más fácilmente la ubre de la oveja ya esquilada (Ólafur, 1991; Borrelli, 2001).

A su vez, este tipo de manejo tiene otras ventajas por ejemplo la reducción de problemas sanitarios de las ovejas principalmente las miasis, ya que la esquila pre parto se desarrolla en los meses de invierno, época en la que la prevalencia de las miasis es muy baja (Petraccia, 1994). También brinda una gran ventaja a nivel de manejo ya que requiere de menor mano de obra en el periparto, debido a un mejor estado de las ovejas y de los corderos (Borrelli, 2001). Con respecto a la lana, da un mayor rendimiento al lavado y al peinado (Borrelli., 2001; Montossi y col., 2005), y una mayor resistencia a la tracción (Borrelli, 2001; Montossi y col., 2005), y a su vez el beneficio económico es mayor, por contar con un producto en el mercado, que está disponible antes y con mejor calidad (Borrelli, 2001).

Por otro lado, se sabe que hay diferencias entre la esquila preparto temprana (70 días de gestación) y la esquila pre parto tardía (120 días de gestación). Por ejemplo, el peso al nacimiento de los borregos hijos de madres con esquila preparto temprana es mayor que el de aquellos hijos de madres con esquila pre parto tardía. A su vez, el peso placentario de las ovejas con esquila preparto temprana es también mayor que el de las ovejas con esquila pre parto tardía (Banchero y col., 2010). Igualmente, las esquilas preparto temprana y tardía generan mayores pesos al nacimiento y mayor vigor de los corderos hijos de las mismas, y mayor peso placentario que el de ovejas que no presentaron esquila pre parto (Kenyon y col., 1999; De Barbieri y col., 2014).

## **2.2. Características del comportamiento reproductivo en el ovino**

### *2.2.1. Carga fetal*

Por otro lado, la gestación de múltiples fetos conlleva una exigencia metabólica mayor para la madre. Se demostró que las ovejas que están gestando mellizos están más predispuestas a sufrir toxemia de la preñez que aquellas que están gestando fetos únicos (Schlumbohm y Harmeyer, 2008). El sistema homeostático de la glucosa en ovejas gestando mellizos es más susceptible a estrés hipoglicémico, generando así una disminución en los niveles de glucemia (Schlumbohm y Harmeyer, 2008). Una de las razones por la cual las ovejas gestando mellizos sufren hipoglicemia al final de la gestación se debe a una gran susceptibilidad al estrés, generando una reducción en la producción de glucosa (Schlumbohm y Harmeyer, 2008).

Esta exigencia que sufren las madres termina repercutiendo sobre los fetos, observándose fetos mellizos más pequeños y livianos que los fetos únicos (McCoard y col., 2000; Pacheco y col., 2010) más allá de la nutrición de la madre (Edwards y col., 2005), llevando esto a que presenten mayor mortalidad neonatal (Pacheco y col., 2010). El menor tamaño al nacimiento de mellizos, podría ser principalmente debido a menor desarrollo muscular, podría deberse también a una menor concentración de ciertos aminoácidos libres intracelulares como arginina, valina, leucina y glutamina (conocidos

por su influencia en mecanismos que regulan la síntesis de proteína) (Pacheco y col., 2010; Sales y col., 2013).

La concentración de leptina en ovejas preñadas y con subnutrición es diferente según estén gestando mellizos o únicos, donde los niveles de leptina en ovejas gestando mellizos disminuyen de acuerdo a las pérdidas de peso que éstas experimenten (Edwards y col., 2005). Además, el desarrollo muscular de los mellizos es más sensible a restricciones nutricionales maternas que los corderos únicos (Sales y col., 2013). Aunque los hijos mellizos de ovejas que sufren subnutrición durante la gestación tienen un mayor nivel de adiposidad, no se observan niveles altos de leptina circulantes que acompañen este efecto (Edwards y col., 2005).

Cada feto mellizo dispone de un menor flujo uterino de sangre y vascularización total placentaria, menor número de placentomas (unión materno-fetal), menor peso total de placentomas y de placenta, en ovejas gestando múltiples fetos, lo cual determina menor peso al nacer de los corderos mellizos (McCoard y col., 2000; Vonnahme y col., 2008).

En definitiva, la gestación múltiple implica un ambiente menos favorable y puede provocar consecuencias negativas duraderas. Esto es un caso particular de “programación fetal”, que es un fenómeno por el cual las influencias ambientales negativas sufridas por un animal durante su vida temprana se manifiestan en etapas vitales posteriores (Barker, 1993).

Una de las adaptaciones del feto mamífero a la falta de nutrientes es la disminución de la tasa mitótica (Sayer y Cooper, 2002). La célula de Sertoli del testículo adulto tiene un papel fundamental para la producción de espermatozoides. El número de células de Sertoli está correlacionado con el tamaño testicular y con la producción máxima de células germinales en gran variedad de mamíferos, así como también con la producción diaria de espermatozoides (Hochereau-de Reviers y col., 1987). Las células de Sertoli sólo se reproducen normalmente durante la vida fetal y postnatal y hasta poco antes de iniciarse la pubertad, lo cual ha sido fehacientemente comprobado en carneros y toros (Hochereau-de Reviers y col., 1987). Por lo tanto, las células de Sertoli aparecen como un muy probable candidato a mediar posibles efectos de programación fetal a nivel del aparato reproductor masculino.

Bielli y col., (2001) sugieren que corderos Corriedale a campo, suplementados durante la etapa fetal y postnatal tendrán mayor desarrollo testicular y producción espermática diaria durante su vida adulta, lo que fue confirmado por Kotsampasi y col. (2009). En condiciones controladas en Merino Australiano, se encontró un efecto de la subnutrición durante la vida uterina sobre la población de células de Sertoli y, por lo tanto, sobre la capacidad máxima de producción espermática diaria, en caso de mantenerse dicho efecto hasta la vida adulta (revisión: Bielli y col., 2002).

En el estudio experimental Genovese y col., (2009) se demuestra en ratas que la programación fetal por subnutrición afecta el número de células de Sertoli hasta la vida adulta en un mamífero.

Por lo tanto, la esquila preparto de las madres podría atenuar de cierta forma los efectos negativos de la programación fetal por gestaciones múltiples.

### 2.2.2. Estacionalidad reproductiva en ovinos

El sistema nervioso central (SNC), la hipófisis y las gónadas forman parte del sistema reproductivo. El control endócrino de dicho sistema implica fundamentalmente sistemas de retroalimentación negativa sobre el hipotálamo regulando así la liberación de GnRH, y por lo tanto la secreción de gonadotrofinas por parte de la hipófisis. Los factores ambientales complementan este sistema de control incidiendo sobre la función reproductiva. Algunos de éstos son: la duración del día, la temperatura, la lluvia, la disponibilidad de alimentos, así como la densidad poblacional o los estímulos olfativos. El éxito reproductivo depende de la habilidad del animal para adaptarse a estos factores ambientales, y esto ha llevado al desarrollo de gran variedad de estrategias reproductivas (Forsberg, 2002). Por lo tanto, la estacionalidad reproductiva es una estrategia evolutiva de las especies para que los partos ocurran en el momento más propicio para la supervivencia de sus crías. En climas templados ocurre generalmente en primavera (Bronson, 1989) ya que favorece la supervivencia de la cría (Forsberg, 2002).

La reproducción de algunas especies ocurre sólo durante parte del año, por lo que son denominadas reproductoras estacionales (Lincoln y Short, 1980). Para ello, las hembras de estas especies presentan actividad ovárica durante un período del año, conociéndose el período de inactividad ovárica como anestro estacional. Antes y durante la estación reproductiva ocurren cambios fisiológicos, comportamentales y morfológicos tanto en machos como en hembras, los que son indispensables para que ocurra eficientemente la reproducción (Bronson., 1989; Neill, 2006).

Si bien existe un ritmo endógeno que determina la estacionalidad reproductiva y que es independiente de señales ambientales, el fotoperíodo es la principal señal que ajusta la estación reproductiva en cada especie (Neill, 2006). En el caso de los ovinos, la estación reproductiva se manifiesta cuando los animales perciben el pasaje del fotoperíodo creciente a decreciente, lo que en la naturaleza se correspondería al inicio del verano astronómico (Malpoux y col, 1988). Esta integración de la información lumínica a lo largo del año es llamada “historia del fotoperíodo” (Goldman, 2001; Neill, 2006). Por lo tanto, la estacionalidad reproductiva de las especies se define según qué información los animales estén utilizando para determinar el comienzo de la estación, siendo *reproductores estacionales de día corto* (otoño, ej. ovinos) o *día largo* (primavera, ej. equinos) (Neill, 2006).

En muchas especies de mamíferos, tanto en las regiones templadas como en las polares, la estacionalidad reproductiva está influida por la variación anual en la duración del día. La glándula pineal es quien procesa la información relativa al fotoperíodo. La misma es un pequeño cuerpo situado en el cerebro de los vertebrados. Se encarga de medir las respuestas a la luz y oscuridad ambientales, y en algunas especies actúa como reloj biológico para los ciclos diarios (Forsberg, 2002). La glándula sincroniza los ciclos fisiológicos con el momento del día y del año. Las señales son percibidas desde el ambiente de forma directa por la glándula pineal e indirectamente por los ojos, siendo la luz ambiental percibida por receptores localizados en la retina que envían la

información a través del nervio óptico al núcleo supraquiasmático (NSQ), localizado en el hipotálamo anterior. Éste es el principal generador de ritmos circadianos en mamíferos. Luego la información viaja por el núcleo paraventricular y el ganglio cervical superior hacia la glándula pineal, la que responde secretando melatonina durante las horas de oscuridad (Goldman., 2001; Neill, 2006). La melatonina es a su vez una hormona que tiene como función primordial brindar información al SNC sobre el ritmo diario luz/oscuridad. Dicha información es importante para todas las funciones biológicas circadianas o circanuales (Malpaux y col., 2001). Por esta razón la melatonina tiene diversos sitios de acción y funciones, además de la reproductiva, influyendo sobre la termorregulación, la hibernación, las mudas y el crecimiento de pelaje (Lincoln y col., 2003). El principal sitio de acción de la melatonina en mamíferos es la *Pars Tuberalis (PT)* de la hipófisis (Neill, 2006). La función de la melatonina en la PT en ovinos se encuentra más vinculada a la secreción estacional de prolactina (Lincoln y Clarke, 1994; Malpaux y col., 1995) que a la regulación directa de la reproducción. Lincoln (2002) planteó que la melatonina actúa controlando la estacionalidad reproductiva a nivel cerebral, no en la hipófisis. Hasta el momento no es claro el mecanismo de acción de la melatonina en la regulación de la secreción de GnRH en las diferentes especies, ya sean especies de día corto o largo. La prolactina es otra hormona relacionada a los cambios estacionales en mamíferos.

En carneros Soay el pasaje de horas luz crecientes a decrecientes ya sean naturales o artificiales, generan aumentos en la pulsatilidad de LH y las concentraciones de FSH (Lincoln y Davison, 1977). Estas respuestas se han observado tanto en carneros domésticos como salvajes (Lincoln y Short, 1980; Lincoln y col., 1981). En los machos el aumento en la frecuencia de pulsos de LH estimula la síntesis y secreción de testosterona por parte de las células de Leydig del testículo (Neill, 2006). El aumento de testosterona sérica estimula cambios morfológicos y comportamentales que caracterizan a la estación reproductiva (Lincoln y Short, 1980). Los principales cambios durante la misma son: hiperemia inguinal (“sexual flush”), mayor crecimiento y largo de vellón, aumento de frecuencia de los comportamientos sexuales y agresivos (Lincoln y Davidson, 1977), aumento en el peso y tamaño testicular (Lincoln y col., 1981), aumento en el diámetro de los túbulos seminíferos y la altura del epitelio germinal, así como en el olor emitido (Lincoln y Short, 1980). Todos estos cambios tienen una alta correlación positiva con las concentraciones de testosterona circulantes (Hochereau-de Reviers y Lincoln, 1978; Lincoln, 1990).

Los otros efectos observados, incluyen una adaptación a los nuevos ambientes lumínicos cuando no es tan marcada la dependencia del fotoperíodo; por ejemplo, en una experiencia con ovejas de la raza Rambouillet que fueron llevadas de una latitud alta (Idaho) a una baja (Texas) y viceversa, se encontró que en las trasladadas a la latitud baja, se presentaba mayor reconocimiento de la época de apareamiento, es decir que tendían a iniciar y terminar antes el periodo reproductivo que las ubicadas en la latitud alta (Hulet y col., 1974). Estudios en Nueva Zelanda con ovejas Romney Marsh, indican resultados similares al estudio previo (Kelly y col., 1976).

Los animales tienden a reproducirse estacionalmente en ambientes en que la disponibilidad de alimentos cambia con la estación. La reproducción es un proceso que consume nutrientes, e implica un brusco incremento en la demanda de energía,

calculado como 20 a 70 % por sobre lo normal (Bronson., 1988). Los cambios en la nutrición de los carneros y machos cabríos conducen a respuestas profundas en el tamaño testicular y por lo tanto la tasa de producción de espermatozoides. Estos efectos son en gran parte debidos a cambios en el tamaño de los túbulos seminíferos y en la eficiencia de la espermatogénesis (Martin y Walkden-Brown, 1995). Los efectos sobre la función espermatogénica no son acompañados por cambios similares en la función endócrina del testículo, medida por la producción de testosterona o inhibina, excepto en la desnutrición severa. En carneros, cambios moderados en la nutrición afectan la secreción de gonadotropinas sólo por un par de semanas, mientras que el crecimiento testicular se ve afectado por varios meses. Los componentes energéticos de la dieta parecen afectar más la secreción de gonadotropinas en el carnero que el contenido de proteína. Los ácidos grasos volátiles, parecerían ser uno de los factores activos más importantes, aunque la insulina intracerebral también puede desempeñar un determinado rol.

En conclusión, las señales nutricionales ejercen poderosos efectos sobre el sistema reproductivo de los rumiantes machos, y las respuestas son en parte independientes de los cambios en la secreción de gonadotropina. Las variaciones en la expresión de las respuestas nutricionales entre sexos, razas y especies probablemente reflejan variaciones en el papel del factor ambiental como un modulador de la función reproductiva. Interesantemente, la sensibilidad de un carnero a las influencias nutricionales depende en buena medida de su genotipo (Martin y Walkden-Brown, 1995). A modo de ejemplo, carneros Merino adaptados al clima mediterráneo (Australia) responden a un aumento en la oferta nutricional con un aumento rápido y transitorio (durante unas pocas semanas) en concentraciones plasmáticas de LH y testosterona, y un aumento más tardío pero más prolongado (un par de meses) en las concentraciones plasmáticas de FSH, la circunferencia escrotal y la producción de espermatozoides (Martin y col., 1995).

### *2.2.3. Estudios de estacionalidad en nuestro país*

En Uruguay hay trabajos que demuestran estacionalidad en esta especie. En la raza Corriedale se observó que los carneros aumentaron el peso vivo un 18% (50% del peso vivo inicial) en el período reproductivo. En los mismos carneros se observó que alcanzaron el máximo en circunferencia escrotal, en el comienzo del mismo período. Por lo tanto, los resultados demostraron que los carneros Corriedale sometidos a un sistema uruguayo de manejo extensivo presentan estacionalidad reproductiva que coincide con variaciones fotoperiódicas, en los meses de enero a junio (Pérez y col., 1997).

A lo largo de los últimos años se ha estudiado la estacionalidad reproductiva del carnero Corriedale en el Uruguay y la influencia de la nutrición en la expresión de dicha estacionalidad. El carnero Corriedale presenta un grado moderado de estacionalidad reproductiva (Gastel y col., 1996). Estos carneros producen espermatozoides normales a lo largo de todo el año, pero el tamaño testicular (y por lo tanto, la producción espermática diaria) presenta variaciones, con máximos a principios del otoño y menores valores al inicio del invierno (revisión: Bielli., 2012).

En otro ensayo desarrollado en Uruguay se determinó que aunque la actividad reproductiva de los carneros Corriedale es moderadamente estacional, la restricción del pastoreo y suplementación de granos puede modificarla hasta cierto límite (Bielli y col., 1999).

Se sabe que al someter a dos razas distintas como Merino y Suffolk a un mismo fotoperíodo, éstas se adaptan y presentan diferencias en su período reproductivo (Martin y col., 1999).

En un estudio realizado por Fernández Abella y col. (1993) se estudió las variaciones estacionales en la producción espermática de las cuatro razas ovinas más utilizadas en Uruguay (Corriedale, Ideal, Merilin y Merino). En la raza Ideal se registraron cambios en el eyaculado que acompañaron las variaciones del fotoperíodo. Bajo fotoperíodo decreciente, la concentración espermática y la producción de semen aumentó, mientras que el volumen del eyaculado no presentó diferencias. También se registró un aumento de la libido durante el mismo período. Esto evidenciaría que la raza Ideal en las condiciones de nuestro país presenta estación reproductiva (octubre-noviembre a junio-julio).

Es importante tener en cuenta que cada combinación de genotipo, latitud (debido a la variación anual en fotoperíodo), clima y oferta nutricional determinan una ecuación particular de estacionalidad reproductiva (revisión: Bielli., 2012).

### **2.3. Gónada masculina**

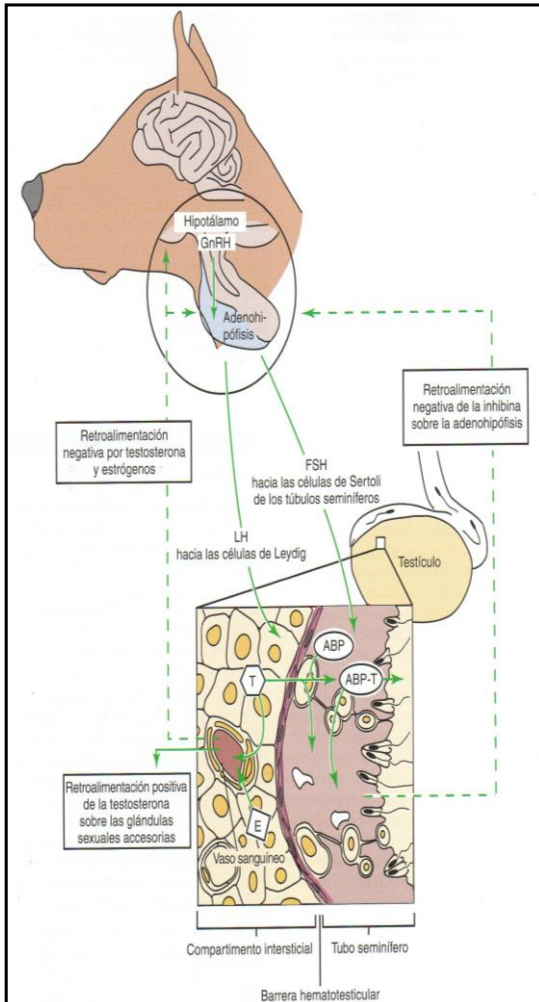
#### *2.3.1. Características generales e histofisiológicas del testículo*

Cuando el testículo es extraído del escroto, la capa parietal de la túnica vaginal permanece adherida al escroto, mientras que la visceral, permanece asociada a la cápsula subyacente del testículo, la túnica albugínea. La cápsula albugínea es una cápsula sólida de tejido conectivo denso e irregular. Ramificaciones de la arteria testicular y una red de venas anastomosantes constituyen la capa vascular de la túnica albugínea (Dellman y Wrobel, 1993).

Los espacios intertubulares (tejido intersticial) contienen tejido conjuntivo laxo, vasos sanguíneos y linfáticos, fibrocitos, células mononucleares libres y células intersticiales endócrinas (células de Leydig). Entonces el parénquima testicular que es blando, de apariencia amarillenta o pardusca, está constituido por los túbulos seminíferos y tejido intersticial (Dyce., 2012).

La túnica albugínea se continúa con trabéculas de tejido conectivo llamadas *séptula testis*, que convergen hacia el mediastinum testis. Los séptula testis dividen el parénquima testicular en un número variable de lobulillos testiculares, conteniendo cada uno de ellos, de uno a cuatro túbulos seminíferos contorneados.





**Figura 1. Regulación hormonal hipotalámica de la reproducción en machos.** El aparato reproductor de los mamíferos machos está regulado por mecanismos de retroalimentación que comprenden el hipotálamo, la adenohipofisis y los testículos. GnRH Hormona liberadora de gonadotropina, FSH Hormona estimuladora de folículos, LH Hormona luteinizante, ABP Proteína fijadora de andrógeno, ABP-T Proteína de testosterona fijadora de andrógeno, E estrógeno, T Testosterona. (Cunningham y Bradley 2009)

El mediastinum testis es un área de tejido conjuntivo que contiene los conductos de la rete testis, grandes vasos sanguíneos y linfáticos. En rumiantes ocupa una posición central a lo largo del eje longitudinal de la gónada.

La gónada masculina tiene dos funciones principales: la primera, producir las células germinales llamadas espermatozoides de forma exócrina, que transmiten los genes del macho a la descendencia y la segunda, producir andrógenos de forma endócrina, que dan las características principales del macho (Stabenfeldt y Edqvist, 1999).

A su vez, la secreción de LH está controlada por la liberación pulsátil de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH). La liberación pulsátil de LH por encima de una frecuencia mínima es un hecho fisiológico esencial para la secreción de testosterona. La disminución en la secreción de LH lleva al descenso en la producción y secreción de testosterona y a una gran reducción en el tamaño de las células de Leydig (Courrot, 1971). (Figura 1).

La testosterona es el principal andrógeno sintetizado a partir del colesterol por las células de Leydig, localizadas en el tejido intersticial del testículo (Ewing y Brown, 1977; Stabenfeldt y Edqvist, 1999). La secreción de testosterona está bajo el control de la LH (Hormona

Luteinizante) (Courot, 1971).

La testosterona abandona el intersticio testicular que rodea a la célula de Sertoli y se dirige hacia tres áreas: los vasos sanguíneos, los vasos linfáticos y los túbulos seminíferos (Rhim y col., 1993) (Figura 1).

Entre las principales funciones de la testosterona se destacan: promover el comportamiento sexual normal, estimular el crecimiento y mantenimiento de la función de las glándulas accesorias masculinas y de los caracteres sexuales secundarios, control de la espermatogénesis (junto a la FSH), acción de retroalimentación negativa sobre la hipófisis y el hipotálamo, efectos anabólicos generales y mantenimiento prenatal del conducto de Wolff y su diferenciación en conducto deferente y epidídimo (Dellman y Wrobel, 1993).

Los túbulos seminíferos son lazos contorneados, de un diámetro de 150 y 300  $\mu\text{m}$ , están revestidos por un epitelio germinal estratificado, rodeado por una lámina propia (Fawcett, 1995). Histológicamente los túbulos seminíferos tienen tres componentes: tejido limitante, células espermatogénicas y células somáticas (de sostén, soporte o células de Sertoli). Estas últimas son células elongadas y de perfil irregular (Dellman y Wrobel, 1993). Proporcionan un soporte nutricional y mecánico. Gracias a las modificaciones que presentan en su configuración, participan activamente en el movimiento ascendente de las células germinales en fase de diferenciación y en la liberación de los espermatozoides hacia la superficie libre del epitelio. También producen proteína fijadora de andrógenos (ABP), transferrina e inhibina (Fawcett, 1995), ésta última suprime la secreción de hormona estimulante del folículo (FSH) a nivel hipofisario, disminuyendo así el estímulo sobre la célula de Sertoli (Stabenfeldt y Edqvist, 1999).

Se llama espermatogénesis al proceso por el cual las espermatogonias sufren cambios hasta convertirse en espermatozoides (Hochereau-de Reviers y col., 1990). En el mismo, a partir de células germinales masculinas diploides se obtienen espermatozoides por meiosis.

Durante el desarrollo embrionario, las células germinales primordiales pasan por diversas fases de multiplicación y se diferencian en espermatogonias. Mientras tanto permanece el bloqueo de la meiosis, lo cual impide que las espermatogonias entren en meiosis y alcancen posteriormente la madurez sexual. Con el inicio de la pubertad se activa el eje hipotálamo-hipófisis-gónadal para darse la espermatogénesis que es un proceso estimulado por la adenohipófisis, que por influencia de factores liberados desde el hipotálamo, secreta dos hormonas: la FSH y la LH. La FSH es la que comienza el proceso de espermatogénesis en todos los machos y la LH es la que lo mantiene (Aguera, 2005).

La espermatogénesis se divide en tres procesos principales: espermatocitogénesis o proliferación, meiosis y espermiogénesis (Figura 2).

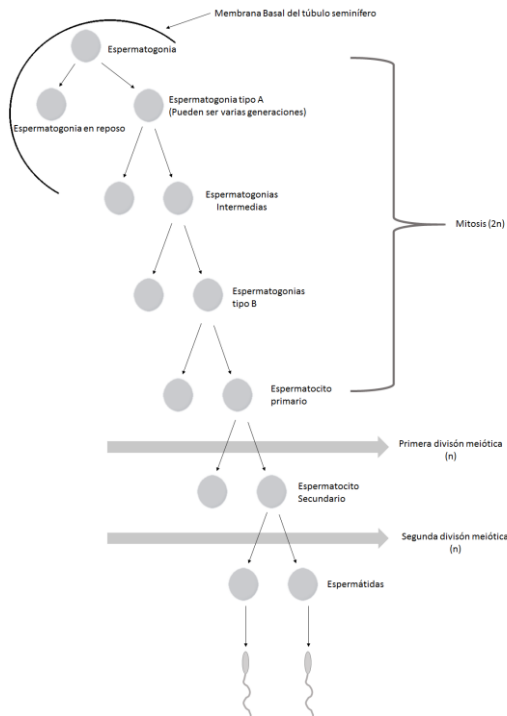


Figura 2. Diagrama de la espermatogénesis basado en diagrama de Cunningham y Bradley, 2009.

1. Espermatocitogénesis: En esta fase las espermatogonias inician un período de divisiones mitóticas, pasan de espermatogonias tipo A a espermatogonias tipo B (revisión: Bielli, 2002).

2. Meiosis: La meiosis es una división reduccional del material genético a partir de dos divisiones celulares sucesivas, formándose las espermátidas, que cada una de ellas lleva únicamente la mitad de los genes de la espermatogonia original.

3. Espermiogénesis: Esta fase ocurre justo antes de que las espermátidas se liberen a la superficie luminal de los túbulos seminíferos como espermatozoides (espermiación) (Cunningham y Bradley, 2009) (Figura 2).

Comentado [gp1]: Buen esquema, pero sería mejor que lo adaptar el esquema en ppt

Cada espermátida permanece junto a una célula de Sertoli nutriéndose y cambiando de forma, convirtiéndose

lentamente en un espermatozoide (Aguera., 2005). Cada célula de Sertoli puede apoyar metabólicamente un número limitado de células germinales para que completen su diferenciación en espermatozoides testiculares, y se considera que cada célula de Sertoli ofrece un nicho para las células germinales, con un microambiente adecuado (Meachem y col., 2001), por lo que el número de espermatogonias de un animal (células madres con gran capacidad de multiplicación) depende del número de células de Sertoli que tenga dicho individuo. Esto es debido a que estas células son incapaces de multiplicarse una vez que se llega a la pubertad (Neill, 2006).

Una vez formados los espermatozoides ocurre la espermiación, que es el proceso por el cual la célula de Sertoli libera a los espermatozoides a la luz del túbulo seminífero (revisión: Bielli, 2002; Aguera, 2005).

Para que un macho tenga una espermatogénesis normal, no solo es importante que produzca espermatozoides normales, sino también que los produzca en cantidades adecuadas. El tamaño testicular de un animal es dependiente del número de células de Sertoli que contenga (Hochereau-de Reviere y col., 1987).

Hay factores que afectan la espermatogénesis, entre ellos pubertad, variaciones estacionales, posición escrotal, temperatura y agentes nocivos (Aguera, 2005).

La pubertad ha sido definida de diversas maneras. Bellows y col., (1964) la caracterizaron por el desarrollo de caracteres sexuales secundarios, capacidad de copular, y presencia de espermatozoides viables en el eyaculado.

Durante este período se observan diversos cambios desde que el animal nace hasta la pubertad: aumento en el peso vivo y en la circunferencia escrotal hasta las 36 semanas de edad, aumento en los espermatozoides móviles, lo cual se vería incrementado posteriormente a las 23 semanas de edad, con cambios significativos respecto a la motilidad progresiva después de las 25 semanas (Bellows y col., 1964).

Por otro lado, las anomalías espermáticas descenderían a medida que aumenta la edad, mientras que las concentraciones espermáticas aumentarían significativamente de la semana 38 a la 44 (Bellows y col., 1964).

En cuanto a la concentración de testosterona, esta aumentaría alcanzando las concentraciones máximas cuando los animales tengan 42 semanas de edad, y posteriormente descenderían (Souza y col., 2010).

A su vez hay factores que inciden en el desarrollo de la pubertad que pueden ser hormonales como la testosterona, que se observa que aumenta desde el nacimiento mostrando un marcado aumento de la misma a las 26 semanas, lo cual coincidiría con la pubertad (Illius y col., 1976). En cuanto a las hormonas tiroideas, un estudio observó que animales de 16 semanas que fueron estimulados por 8 semanas con altas dosis subcutáneas de tiroxina tuvieron menores pesos vivos, menor crecimiento testicular y menor frecuencia de pulsos de LH (Chandrasekhar y col., 1986). Otros factores que podrían incidir en el desarrollo de la pubertad serían la raza (Glatzel, 1988), la nutrición (Mukasa-Mugerwa y Ezaz, 1992). Hay también un efecto del entorno social incidiendo sobre la pubertad, como es la dominancia (animales más dominantes desarrollarían diversos aspectos reproductivos antes que aquellos menos dominantes) (Ungerfeld y González-Pensado, 2008), la presencia y el vínculo con la madre (Rodríguez, 2013) el contacto o no con hembras (Casteilla y col., 1987), y la exposición o no a hembras en celo (Price y col., 1996)

Se cree que la maduración sexual en el cordero macho estaría compuesta por 2 fases, una independiente del fotoperiodo y otra dependiente (Wood y col., 1991). El aumento precoz de gonadotropinas en el cordero joven, que deriva en un aumento en la concentración de testosterona y en el comienzo de la actividad espermatogénica, se considera que es menos dependiente del fotoperiodo. Una vez que la función testicular del cordero se aproxima a la del adulto, la posterior maduración sexual para alcanzar la plena fertilidad es más fotoperiodo dependiente (Howles y col., 1980). Esta sensibilidad al fotoperiodo del cordero macho parece desarrollarse entre los 4 y 6 meses de edad (Olster y Foster, 1986).

Por lo tanto, el desarrollo adecuado del aparato reproductor masculino y la histofisiología testicular normal del mismo, son indispensables para que el macho tenga

un desempeño reproductivo acorde a su edad, a su raza, a su alimentación, a su fenotipo y genotipo.

## **2.4. Técnicas utilizadas**

### *2.4.1. Histología cuantitativa*

Se denomina técnica histológica al conjunto de procedimientos aplicados a un material biológico (animal o vegetal) con la finalidad de prepararlo y conferirle las condiciones óptimas para poder observar, examinar y analizar sus componentes morfológicos a través de los microscopios fotónicos y electrónicos (Minkoff, 2015).

La técnica histológica tiene por finalidad preparar células, tejidos y órganos procedentes de seres en los que los procesos vitales se han detenido y es necesario conservar la estructura que tenían en vida. De manera general, para alcanzar este objetivo es necesario realizar los siguientes pasos:

Procedimientos a seguir:

- Toma de la muestra
- Fijación
- Deshidratación
- Inclusión y montaje
- Microtomía
- Coloración
- Observación al microscopio óptico

La histología cuantitativa permite medir con precisión y evaluar estadísticamente eventuales diferencias entre tejidos pertenecientes a distintos grupos experimentales (Russell, 1995).

La principal desventaja de utilizar histología cuantitativa es la gran cantidad de horas de trabajo que esto insume. Sin embargo, actualmente existen paquetes informáticos que automatizan gran parte del trabajo, y reducen significativamente el costo en horas-hombre de esta actividad (Limanowski y col., 2000).

### *2.4.2. Ultrasonografía*

La ultrasonografía es una técnica que utiliza ondas de sonido de alta frecuencia para producir imágenes de órganos internos. Los ecógrafos utilizados actualmente en veterinaria se denominan de modo B y tiempo real (Griffin y Ginter, 1992; Bo y Caccia, 2000).

Una imagen ecográfica se compone de una matriz de píxeles, o elementos de imagen, representada en una pantalla de video. Cada píxel representa un discreto tejido reflector que manifiesta la reflexión de los rayos de ultrasonido y está representado por una gama de 256 tonos de gris que van del negro al blanco (Pierson y Adams., 1995). Los

impulsos eléctricos se traducirán en imágenes con distintos tonos de gris, dependiendo de la capacidad del tejido para reflejar las ondas de altas frecuencias; los tejidos que se observan en la pantalla de *color negro* se denominan *anecogénicos*, debido que no reflejan ondas, mientras que los tejidos densos capaces de reflejar gran cantidad de ondas de alta frecuencia, pueden ir desde diferentes grados de *grises (ecogénicos)* hasta *blancos (hiperecogénicos)*; así, los tejidos tendrán una ecotextura, dependiendo de su densidad o ecogenicidad (Fricke., 2002).

La magnitud de las ondas de sonido de alta frecuencia es medida en MHz (1 MHz es igual a 1.000.000 de ondas de sonido por segundo); normalmente, los ecógrafos tienen transductores lineales, sectoriales o convexos de 3 a 8 MHz. Para el estudio reproductivo en carneros se prefiere el uso de un transductor sectorial, porque proporciona un buen contacto con la superficie del escroto y ofrece la ventaja de la formación de imágenes de ambos testículos al mismo sonograma, pero un transductor de matriz lineal también se puede utilizar (Gouletsou y Fthenakis., 2010).

A mayor frecuencia, mejor resolución, pero menor penetración; por ejemplo, los transductores de 5 MHz tienen una penetración de 8-10 cm, mientras que la penetración de un transductor de 7,5 MHz es de solo 4 ó 5 cm, permite examinar con claridad estructuras más pequeñas pero muy cercanas (Griffin y Ginter., 1992)

Los transductores de 5 MHz o 7,5 MHz son los de elección en el examen del aparato reproductor de pequeños rumiantes (Pierson y Adams., 1995; Gouletsou y col., 2003).

El parénquima testicular de carneros se observa homogéneo con un eco-patrón medio-grioso. La única estructura observada dentro de los testículos sanos debe ser el mediastino testicular. En planos sagital y transversal, esto se observa como una estructura hiperecogénica lineal central de ecogenicidad variable, que se extiende hasta tres cuartas partes de la longitud testicular. En planos caudal a craneal dorsales, se observa como una estructura lineal central, que se extiende hasta a un quinto de la anchura testicular. La cabeza y la cola del epidídimo son claramente visibles, a menos que el parénquima testicular sea ecoico y más heterogéneo (Gouletsou y col., 2003).

La ecotextura testicular obtenida por ecografía ha sido asociada al área de túbulos seminíferos y a la producción de espermatozoides, ya que tuvo una correlación lineal positiva con la producción diaria de espermatozoides (la imagen se hizo más blanca y, por lo tanto, aumentó, fue más densa, lo cual se traduce con mayor producción de esperma) y calidad de semen en toros (Kastelic y col., 2001).

Pechman y Eilts (1987) concluyeron que la ultrasonografía permite una evaluación no invasiva de la estructura interna del escroto y testículo, y además podría colaborar en el diagnóstico de enfermedades focales y multifocales como fibrosis, neoplasia y abscesos.

Wu y col. (2010) demostraron que la intensidad de píxeles está estrechamente correlacionada con la concentración de testosterona en suero y con el estado reproductivo, y de acuerdo con Ülker y col. (2005), los cambios en los testículos observados por ecografía se relacionan con la apariencia histológica. La ecotextura del testículo está altamente correlacionada con el área de los túbulos seminíferos. Para

estimar el tamaño testicular, se usó la imagen ecográfica de los testículos, y se concluye que la misma tiene un potencial considerable para la evaluación de la función testicular en los toros (Gabor y col., 1998).

Evans y col. (1996) demuestran que la ecogenicidad testicular aumentó durante la fase más activa de crecimiento de los túbulos seminíferos, ya que se produjeron más células germinales. Durante el período de maduración sexual, el contenido celular de los túbulos seminíferos cambia y aparece la luz en los mismos con el comienzo de la secreción de fluido. El desarrollo testicular durante la maduración sexual está asociado con un incremento en la altura epitelial de los túbulos seminíferos, en el número de túbulos con luz y en el tamaño de esta luz, con lo que se esperaría un aumento de fluido en el tejido (Evans y col., 1996). La ultrasonografía permite caracterizar los cambios testiculares que se producen en esta etapa. De un modo simplista, cuanto más contenido líquido exista, menos ecogénico es el tejido.

Por otra parte, aunque las cantidades de fluidos no se pueden medir con ultrasonido, las diferencias observadas entre carneros tratados con GnRH y no tratados, sugieren que los primeros presentan tejidos más irrigados que los machos no tratados, lo cual se infiere pero no se demuestra (Ungerfeld y Fila, 2011). Aunque no está claro el significado funcional de este aumento en la secreción de fluido, es interesante especular con los posibles efectos positivos de la permeabilidad vascular sobre la actividad testicular. En estudios posteriores los autores sugieren que el estímulo con ovejas en estro determina un aumento en la secreción de testosterona, que se podría asociar con un aumento en el contenido de fluido testicular. El contacto con ovejas en estro desencadenaría un aumento en el líquido testicular. (Ungerfeld y Fila, 2012).

Por lo tanto, se plantea la utilización de la ultrasonografía para evaluar los testículos de los reproductores como otro método de determinar la capacidad espermatogénica del testículo. La anatomía pendular de los genitales masculinos de ovinos los hace fácilmente accesibles para la exploración por medio de ecografía. Los testículos de carneros son de fácil acceso, no tienen ningún otro órgano cerca de ellos, son simétricos y de fácil comparación entre sí (Gouletsou y Fthenakis., 2010).

La evaluación de la densidad de píxeles de las imágenes ecográficas digitalizadas se plantea como el método objetivo para evaluar la ecotextura del testículo. El análisis de intensidad de píxeles de las ecografías podría proveer más información acerca del cambio sufrido por los tejidos, incluyendo los testículos (Pierson y Adams, 1995).

La ultrasonografía ha demostrado ser importante para estudiar y comprender los eventos anatómo-fisiológicos en tiempo real que suceden. La ecografía aplicada al estudio de la reproducción es una herramienta complementaria y de la cual se observan cada vez mayores alcances.

## **2.5. Correlación entre histología cuantitativa y ecogenicidad testicular**

La evaluación de la histomorfología de los túbulos seminíferos, incluyendo criterios morfométricos, como diámetros, zona de los túbulos seminíferos y lumen, se puede utilizar para evaluar el estado gonadal (Giffin y col., 2009; Ahmadi y col., 2012). Durante el desarrollo testicular prepuberal, hay un notable aumento en el número y la diversidad celular dentro de los túbulos seminíferos, debido principalmente a la aparición de la espermatogénesis (Kolasa, 2012). La formación del lumen indica el

**Comentado [gp2]:** Es una de las correlaciones más interesantes a destacar

inicio de la pubertad y la meiosis, y cambios en la composición celular de los túbulos seminíferos están relacionados con la producción de esperma (Giffin y col., 2009; Ahmadi y col., 2012). La ecografía puede emplearse para detectar cambios importantes en la densidad del tejido y la composición molecular (Hassani, 1974). Tales propiedades de los tejidos se reflejan en la intensidad diferencial de píxeles, dependiendo de la reflexión de una alta frecuencia de haz de sonido (Hassani., 1974).

Estudios en toros y carneros pre y peripuberales han demostrado que los cambios en los atributos ecográficos del parénquima del testículo están estrechamente relacionados con la histomorfología, tales como características de los túbulos seminíferos (Evans y col., 1996) y el comienzo y la eficiencia de la espermatogénesis (Evans y col., 1996; Arteaga y col., 2005). Además, existen correlaciones positivas entre los valores medios numéricos de píxeles, el área de los túbulos seminíferos y el área de la luz de los túbulos seminíferos (Giffin y col., 2014). De hecho, el tamaño de los túbulos seminíferos, que ocupan 80% aproximadamente de los testículos de carneros, puede ser el principal responsable de los cambios en ecogenicidad testicular (Giffin y col., 2009). Estos cambios pueden deberse a los tejidos proteicos que presentan gran ecogenicidad, al fluido en el lumen y/o la presencia y acumulación de espermatozoides, en compartimentos tubulares y lumbales (Giffin y col., 2009).

Estudios posteriores demostraron que existen correlaciones significativas entre los atributos cuantitativos de imágenes obtenidas a través de ultrasonografía y resonancia magnética y los parámetros de histomorfología de los testículos de carneros (Omer y col., 2012). Debido a su mayor versatilidad y su costo más bajo comparando resonancia magnética y ecografía, esta última es una herramienta más valiosa, práctica en el monitoreo del estado testicular y la predicción de la fertilidad futura (Ahmadi y col., 2012).

Se evidencia que los parámetros histológicos del parénquima testicular pueden ser determinados a partir de atributos de imágenes cuantitativas de testículos, obtenidas a través de análisis asistido por ordenador de ultrasonografía y de resonancia magnética (Omer y col., 2012). Sin embargo, existen varios factores *in vivo*, tales como la vasculatura y la inervación, que pueden tener un efecto sobre el resultado de la ultrasonografía y la resonancia magnética, de forma que varía la sensibilidad de estas técnicas para la detección de cambios en la histomorfología testicular (Omer y col., 2012).

Estudios recientes comparan ecotextura y atributos microscópicos de testículos de corderos prepúberes durante la primera ola de la espermatogénesis (Giffin y col., 2014). El inicio de la espermatogénesis durante el desarrollo prepuberal se acompaña de cambios dinámicos en la microestructura testicular que afectan la ecotextura testicular (Giffin y col., 2014).

La ecogenicidad testicular en corderos es muy variable con la edad (Brito y col., 2012). Sin embargo, se demostró que los atributos ecográficos testiculares en terneros están más directamente asociados con el desarrollo de la espermatogénesis que con la edad cronológica de los animales (Brito y col., 2012).

La histomorfología se puede utilizar para evaluar el estado gonadal y los cambios que suceden en los diferentes procesos fisiológicos. Por otro lado, la ecografía puede



emplearse para detectar cambios importantes en la densidad del tejido y la composición molecular. Por lo tanto, la combinación de ambas proporciona información relevante para el estudio y comprensión del aparato reproductor.

**De lo expuesto en los antecedentes, se desprende que la carga fetal afecta el desarrollo gonadal cuando las madres no reciben el alimento suficiente y no se realiza el manejo adecuado. Este efecto podría impactar en etapas posteriores de la vida e incluso quedar en evidencia recién cuando el animal es adulto. Por esta razón, herramientas como la esquila pre parto podría tener ciertos efectos beneficiosos tanto en la madre como en la cría, y de esta forma minimizaría las posibles desventajas que se observan en los casos de gestaciones múltiples. Por lo tanto nos planteamos si tiene alguna capacidad de incidir positiva o negativamente en el desarrollo testicular post natal.**

### **2.6. Marco en el cual se realizó el presente diseño experimental**

El diseño correspondiente a la presente Tesis de grado forma parte de un diseño mucho más complejo, correspondiente a la Tesis de Doctorado del Dr. Carlos López Mázz, orientado por la Dra. Georggett Banchemo, Programa de Posgrados de la Facultad de Agronomía. Los datos estudiados en la presente Tesis de grado corresponden a parte de los datos obtenidos en las dos fechas de castración que contempla el antedicho proyecto de Doctorado.

## **3. HIPÓTESIS**

### **3.1. General:**

La esquila pre parto, el número de fetos durante la gestación y la fecha de muestreo (en la 2da primavera y el 2do otoño de vida) afectan el desarrollo gonadal de los hijos machos cuando llegan a borregos.

### **3.2. Hipótesis particulares**

3.2.1. Al 2do otoño de vida el desarrollo testicular (histología cuantitativa y ecogenicidad testiculares) de borregos Ideal manejados en forma intensiva es mayor que a la 2da primavera (6 meses antes).

3.2.2. La esquila pre parto de ovejas Ideal criadas en Uruguay de forma intensiva afecta favorablemente el desarrollo testicular (histología cuantitativa y ecogenicidad testiculares) de sus borregos hijos.

3.2.3. Los borregos Ideal manejados de forma intensiva nacidos de gestación única tienen mayor desarrollo testicular (histología cuantitativa y ecogenicidad testiculares) que borregos mellizos en condiciones comparables.

3.2.4. Existen correlaciones y regresiones significativas entre la ecogenicidad y la histología cuantitativa testiculares en borregos Ideal criados en forma intensiva.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo General:**

Generar conocimiento sobre el impacto de la esquila pre parto y su interacción con el número de fetos durante la gestación sobre su desarrollo gonadal cuando los machos llegan a borregos.

### **4.2. Objetivos particulares:**

4.2.1. Evaluar si existen diferencias en borregos Ideal cuando fueron gestados mellizos o únicos, con o sin esquila pre parto de sus madres, en la 2da primavera y en el 2do otoño de vida en las siguientes variables:

4.2.1.1. Peso testicular

4.2.1.2. Peso epididimario

4.2.1.3. Variables histológicas cuantitativas

4.2.1.4. Intensidad de píxeles en el parénquima testicular

4.2.2. Estudiar si existen correlaciones y regresiones significativas entre las variables histológicas y ecográficas obtenidas de los borregos del experimento.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1 Manejo de animales y descripción de muestreo**

Se utilizaron 46 borregos de dos dientes de raza Ideal puros, que se encontraban en la Estación Experimental del INIA “La Estanzuela”, departamento de Colonia, ruta 50, km 11. De estos 46 borregos, 24 eran hijos únicos y 22 eran mellizos (Latitud: 34° 20’ 23.72” S – 57° 41’ 39.48” O).

Se tuvo en cuenta que los mellizos tanto ambos machos como un macho y una hembra hubieran sobrevivido ambos. Estos borregos eran hijos de ovejas ubicadas en el mismo establecimiento, a las cuales se les sincronizó el celo en otoño de 2012, con una doble dosis de prostaglandina separada por 11 días (Menchaca y col., 2004), (se logró obtener una diferencia máxima de edad en los borregos de 20 días). A las 24 horas de la última dosis se detectó celo y posteriormente fueron inseminadas, realizando un repaso a las hembras repetidoras.

A los 45 días de la inseminación mediante ecografía se detectaron las hembras preñadas y vacías y la carga fetal de dichas hembras (Scott., 2012). Posteriormente se realizó esquila preparto a los 50 días de gestación (en el invierno) a la mitad de las madres gestando mellizos y a la mitad de las madres gestando crías únicas. La esquila aplicada fue Tally Hi con peine R 13, dejando un remanente de 1cm de lana sobre el cuerpo del animal (Montossi y col., 2005). Ambos grupos, ovejas con o sin esquila preparto, tenían similar peso vivo, condición corporal (siendo esta en promedio 2 de la escala Russel) y edad.

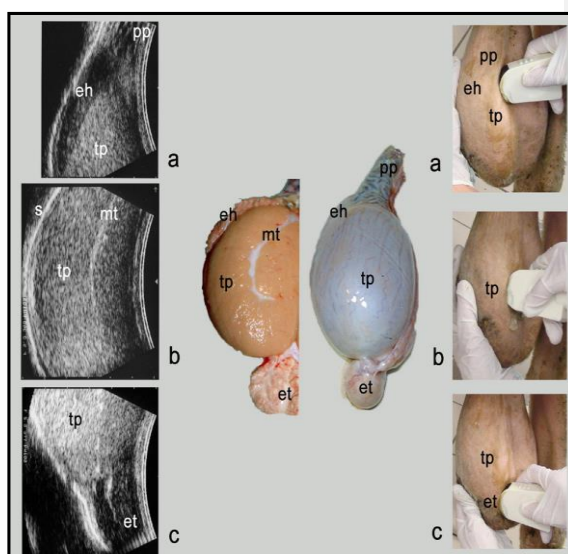
Las ovejas preñadas se encontraban en pasturas mejoradas de alfalfa y trébol rojo y en el último tercio de la gestación sobre ray grass. El manejo sanitario realizado a las ovejas preñadas fue preventivo, enfocado a controlar enfermedades comunes que podrían comprometer la productividad. Principalmente se trató contra enfermedades producidas por parásitos gastrointestinales y enfermedades podales (pietín) y se vacunaron preparto contra Clostridios. Las pariciones se desarrollaron desde el 7 de Setiembre al 1 de Octubre, con el pico de parición del 17 al 20 de Setiembre.

Durante el período de lactación se esquiló a las madres que no fueron esquiladas preparto, el día 7 de diciembre de 2012, teniendo los corderos entre dos y tres meses.

La lactancia duró 104 días promedio, con un máximo de 112 días y mínimo 83 días,

siendo el destete el 26 de Diciembre de 2012. Al destete se vacunó a los corderos contra clostridios. De corderos hasta borregos los animales estuvieron sobre pasturas mejoradas, se manejaron todos juntos durante el período experimental, en un sistema rotativo, y cuando las pasturas tenían una altura de 5 cm los animales se cambiaron a otra parcela. Se puede decir que era casi una alimentación "ad libitum".

Se realizaron las ecografías testiculares un día previo a las castraciones, siendo realizadas los días 30 de Setiembre de 2013 (en contraestación) y 16 de Marzo (en estación reproductiva) de 2014 (Figura 4). Para la realización de las ecografías, se utilizó un equipo de ultrasonografía modelo Weld 9618V (Weld, China) con transductor lineal de 7,5 Mhz. Los valores de ganancia total, cercana y lejana, fueron estandarizados en valores predeterminados a los efectos de normalizar los atributos de imagen para evitar que incidieran en el análisis de imagen. Los testículos fueron llevados hacia abajo dentro del escroto y mantenidos en esa posición. Los testículos no fueron aferrados, sino que quedaron pendientes; sin embargo, la mano izquierda del examinador fue colocada en la superficie opuesta a aquella en la que el transductor se aplicó, con el fin de estabilizar el órgano (Figura 3).



**Figura 3. Examen ecográfico del contenido escrotal en carneros:** (a) examen de la cabeza de epidídimo, plexo pampiniforme y polo superior del testículo, (b) examen de los testículos y (c) examen de la cola del epidídimo y polo inferior del testículo.

**eh:** cabeza del epidídimo, **et:** cola del epidídimo, **tp:** parénquima testicular, **pp:** plexo pampiniforme, **s:** escroto.

Tomada de: "Clinical evaluation of reproductive ability of rams" Gouletsou PG y Fthenakis GC, 2010.

Se aplicó gel de carboximetilcelulosa de consistencia semilíquida sobre la piel del escroto para posibilitar el contacto con el transductor y excluir el aire. Se esquiló el escroto de todos los carneros a los efectos de estandarizar la cantidad de lana del escroto a 5 mm. Se eligieron 3 zonas de escaneado para obtener dos cortes transversales (polos dorsal y ventral) y uno longitudinal (mediastínico) (Figura 3).

Las imágenes obtenidas fueron digitalizadas y almacenadas en formato digital. En los días 1 de Octubre del 2013 y 17 de Marzo del 2014 se realizaron las orquiectomías a los borregos, encerrándolos 12 horas antes de realizar la cirugía. Para la castración los animales se sedaron con Xilacina 2% (5ml 0,1mg/kg de peso vivo intramuscular) y posteriormente (15 minutos) se administró lidocaína al 2% en el lugar de incisión (5ml) y en el cordón espermático (10ml). Se incidió piel, subcutáneo y túnica vaginal, se exteriorizó el testículo y se seccionó el cordón espermático habiendo realizado una ligadura a proximal de la sección, luego de retirado el testículo se lavó con antiséptico, se colocó cicatrizante y se administró un antibiótico de larga acción (oxitetraciclina 20%, dosis 20 mg/kg, 5ml, intramuscular). Finalmente los animales se alojaron en un lugar limpio, con sombra, comida y agua *ad libitum* para su recuperación. Una vez realizadas las orquiectomías se disecaron los epidídimos y se pesaron testículos y epidídimos por separado en una balanza. Por último se extrajeron muestras testiculares realizando cortes transversales al eje longitudinal del testículo en la región proximal y distal, de un grosor de medio centímetro y se fijaron por inmersión en solución fijadora de Bouin (Figura 4).

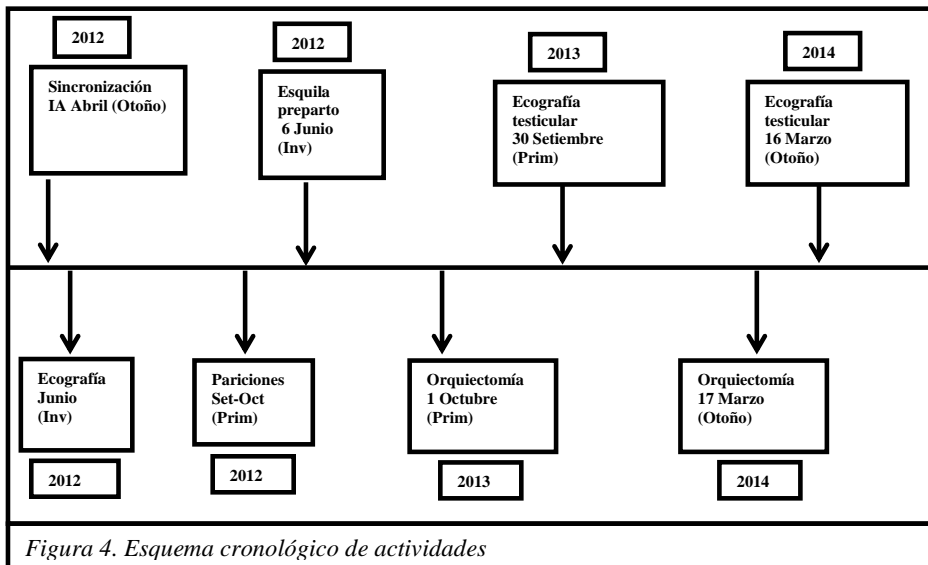


Figura 4. Esquema cronológico de actividades

## 5.2. Procesamientos

### 5.2.1. Histológico

Las muestras se fijaron por inmersión en solución de Bouin, fueron deshidratadas en concentraciones crecientes de etanol (70°, 95° y 100°, 40 minutos en cada una), luego se sumergieron en cloroformo durante 24 horas y finalmente se incluyeron en parafina (3 pasajes de 30 minutos), donde se obtuvieron bloques montados en cassetes plásticos. Las mismas se cortaron, posteriormente se montaron en vidrios porta objetos, se colorearon con hematoxilina-eosina y fueron cubiertas con vidrio cubreobjeto.

### 5.2.2. Imágenes obtenidas por ultrasonografía

En cada imagen se seleccionaron cuatro círculos de aproximadamente 1cm de diámetro del parénquima testicular. Estos fueron analizados, midiéndose la intensidad de píxeles, cuantificando los valores desde 0 (negro) a 255 (blanco). Para la evaluación de la densidad de píxeles, se utilizó el software Image Pro Plus 4.1 (Media Cybernetics, USA) (Figura 5).

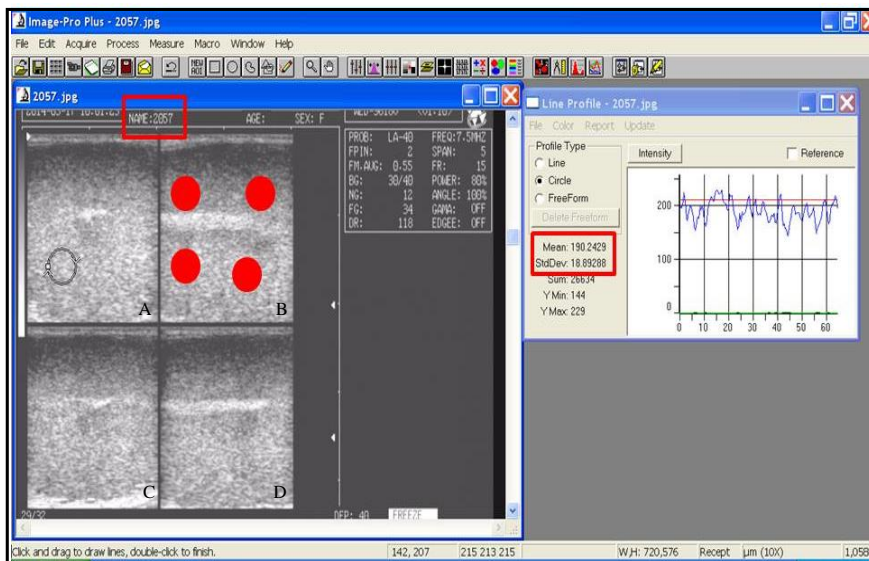


Fig. 5. Evaluación de Intensidad de píxeles.

A: corte transversal de testículo derecho, B: corte longitudinal de testículo derecho, C: corte transversal de testículo izquierdo, D: corte longitudinal de testículo izq. Las áreas circulares rojas son los puntos de evaluación de intensidad de píxeles en cada imagen testicular. En los recuadros rojos se observa el nombre de la imagen, su media y desvío estándar.

### 5.3. Análisis

#### 5.3.1. Morfometría de cortes histológicos

Se midió, en los mismos preparados, el diámetro de los túbulos seminíferos y el volumen porcentual de las estructuras que componen el parénquima testicular. Los diámetros fueron determinados midiendo treinta cortes transversales de túbulos seminíferos/testículo/animal (considerando corte transversal aquél en el cual la medición de dos diámetros mayores, arroje menos de 10% de diferencia).

El volumen porcentual de epitelio seminífero, volumen de luz del túbulo seminífero y volumen del intersticio testicular fue calculado a partir de treinta imágenes/testículo, tomadas al azar, donde se observaron 2400 puntos/testículo (Figuras 6 y 7). Las variables histológicas medidas fueron: diámetro de túbulos seminíferos (DTS), volúmenes porcentuales de epitelio seminífero (VES), intersticio testicular (VIT) y luz del túbulo seminífero (VLT).

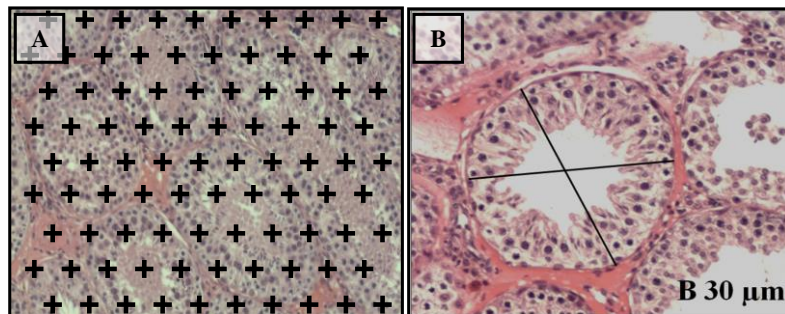


Figura 6. A- Grilla de cruces para conteo de volúmenes porcentuales.  
B- Medición de diámetro de los túbulos seminíferos

#### 5.3.2. Análisis estadístico

Todas las variables se presentan como  $\text{media} \pm \text{SEM}$ . El peso vivo y la circunferencia escrotal, los pesos testicular y epididimario, y las variables histológicas y ecográficas son analizadas por ANOVA ( $P \leq 0,05$ ). El modelo estadístico utilizado para este diseño es:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \epsilon_{ijk}$$

donde

Y = es la variable de respuesta de interés.

$\mu$  = es el promedio general de la población

$\alpha_i$  = es la variación que se atribuye a los niveles del factor esquila (con o sin esquila)

$\beta_j$  = es la variación que se atribuye a los niveles del factor número de crías (únicos o mellizos)

$\gamma_k$  = es la variación que se atribuye a los niveles del factor fecha de muestreo (primavera u otoño)

$(\alpha\beta)_{ij}$  = es la interacción entre los factores esquila y número de crías

$(\alpha\gamma)_{ik}$  = es la interacción entre los factores esquila y fecha de muestreo

$(\beta\gamma)_{jk}$  = es la interacción entre los factores número de crías y fecha de muestreo

$(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$  = es la interacción entre los factores esquila, número de crías y fecha de muestreo

$\epsilon$  = es el error experimental

Posteriormente, se realiza un análisis similar, pero considerando al peso vivo como covariable, para las demás variables analizadas.

Las diferencias de medias entre grupos fueron determinadas por tests de las menores diferencias cuadráticas. Se calculan correlaciones de Pearson entre peso vivo, circunferencia escrotal, peso testicular derecho, peso epididimario derecho y diámetro de los túbulos seminíferos de los testículos derechos, entre circunferencia escrotal, peso testicular derecho, peso epididimario derecho y diámetro de los túbulos seminíferos. También entre peso testicular, peso epididimario y diámetro de los túbulos seminíferos de los testículos derechos, entre peso epididimario derecho y diámetro de los túbulos seminíferos de los testículos derechos y finalmente entre ecogenicidad testicular derecha, peso testicular derecho y diámetro de los túbulos seminíferos de los testículos derechos. Se realiza un análisis de regresión restringido entre la intensidad de píxeles del testículo derecho y el peso testicular, a su vez también se estudia entre la intensidad de píxeles del testículo derecho y el diámetro de túbulos seminíferos. Todas las diferencias fueron consideradas significativas a  $P \leq 0,05$ .

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Efectos e interacciones encontrados para cada variable estudiada

La fecha de muestreo (FM) influyó sobre las variables estudiadas (excepto sobre los volúmenes porcentuales de los compartimientos histológicos). No hubo efectos ni de esquila (excepto en volumen porcentual de luz de túbulos seminíferos derechos (%L D) y en volumen porcentual de epitelio testículos derechos (%E D)) ni del número de crías. En términos generales, no hubo interacciones significativas entre los efectos estudiados, si se exceptúa la interacción entre la esquila y la fecha de muestreo para el peso testicular. Esta interacción presentó una tendencia para la circunferencia escrotal, y la interacción entre esquila, fecha de muestreo y número de crías, presentó una tendencia para el volumen porcentual del epitelio seminífero.

**Comentado [gp3]:** Agregar un a imagen histológica del parénquima testicular, a pesar de no encontrar diferencias.

En la Tabla 1 se presentan los valores de P (considerando diferencias significativas con  $P \leq 0,05$ ), de los efectos y de las interacciones de los efectos para cada variable.

Filas en negrita: anova de los efectos y sus interacciones

Filas sin negrita: similar análisis pero con el peso vivo incluido como covariable

<b>Tabla 1. Efectos e interacciones para cada variable</b>									
<b>Efecto/ interacción</b>	<b>PV (g)</b>	<b>CE (cm)</b>	<b>PTD (Kg)</b>	<b>PED (Kg)</b>	<b>DTSD (<math>\mu</math>m)</b>	<b>%L D (%)</b>	<b>%I D (%)</b>	<b>%E D (%)</b>	<b>IP TD</b>
<b>Esquila</b>	<b>0,737</b>	<b>0,333</b>	<b>0,644</b>	<b>0,255</b>	<b>0,427</b>	<b>0,014</b>	<b>0,854</b>	<b>0,010</b>	<b>0,337</b>
Esquila, PV covar		0,349	0,360	0,131	0,478	0,015	0,783	0,008	0,320
<b>FM</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,002</b>	<b>0,254</b>	<b>0,533</b>	<b>0,457</b>	<b>0,000</b>
FM, PV covar		0,000	0,000	0,000	0,384	0,351	0,599	0,167	0,000
<b>N crías</b>	<b>0,733</b>	<b>0,440</b>	<b>0,434</b>	<b>0,212</b>	<b>0,845</b>	<b>0,713</b>	<b>0,181</b>	<b>0,573</b>	<b>0,746</b>
N crías, PV covar		0,488	0,460	0,225	0,694	0,723	0,148	0,522	0,783
<b>Esquila* FM</b>	<b>0,312</b>	<b>0,063</b>	<b>0,040</b>	<b>0,011</b>	<b>0,302</b>	<b>0,829</b>	<b>0,853</b>	<b>0,655</b>	<b>0,158</b>
Esquila*fecha muestreo,PVcovar		0,124	0,071	0,019	0,104	0,850	0,938	0,820	0,204
<b>Esquila*n crías</b>	<b>0,597</b>	<b>0,573</b>	<b>0,952</b>	<b>0,783</b>	<b>0,917</b>	<b>0,543</b>	<b>0,604</b>	<b>0,767</b>	<b>0,672</b>
Esquila*n crías, PV covar		0,308	0,690	0,523	0,874	0,557	0,506	0,854	0,719
<b>FM *n crías</b>	<b>0,537</b>	<b>0,605</b>	<b>0,457</b>	<b>0,371</b>	<b>0,327</b>	<b>0,839</b>	<b>0,123</b>	<b>0,271</b>	<b>0,359</b>
FM *n crías, PV covar		0,841	0,128	0,163	0,441	0,852	0,086	0,218	0,329
<b>Esquila* FM *n crías</b>	<b>0,776</b>	<b>0,356</b>	<b>0,449</b>	<b>0,912</b>	<b>0,922</b>	<b>0,216</b>	<b>0,312</b>	<b>0,068</b>	<b>0,959</b>
Esquila*FM *n crías, PV covar		0,363	0,450	0,964	0,798	0,222	0,270	0,058	0,935

PV: peso vivo, CE: circunferencia escrotal, PTD: peso testicular derecho, PED: peso epididimario derecho, DTSD: diámetro túbulos seminíferos derechos, %L D: porcentaje de luz de túbulos seminíferos derechos, %I D: porcentaje intersticio testículos derechos, %E D: porcentaje epitelio testículos derechos, IP TD: intensidad de píxeles al análisis ecográfico, testículo derecho, FM: fecha de muestreo, n crías: número de crías, PV covar: peso vivo como covariable.



En la Tabla 2 se presenta media  $\pm$  sem para cada nivel de cada efecto en las variables estudiadas, considerando diferencias significativas con  $P \leq 0,05$ .

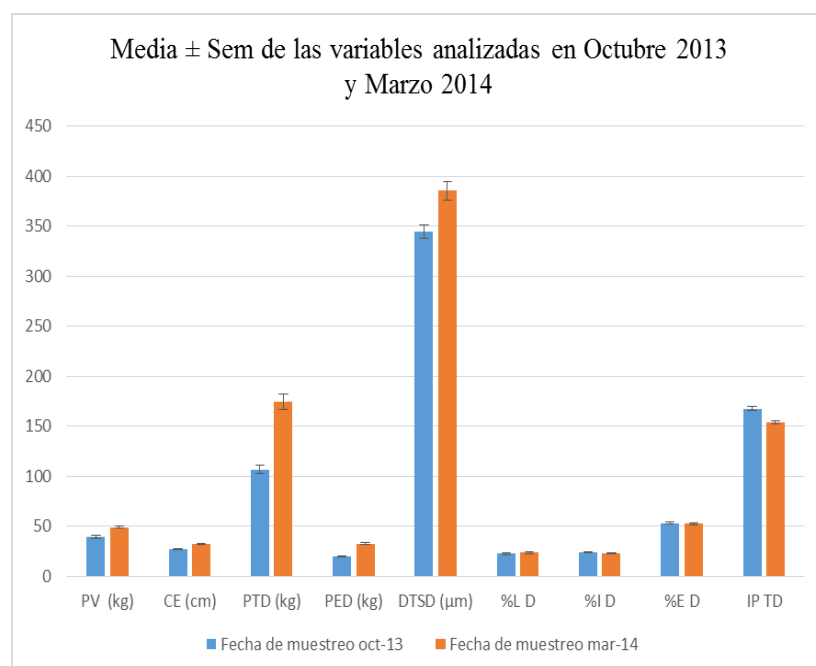
**Comentado [gp4]:** Agregar una gráfica que permita visualizar y resaltar los resultados más destacados

**Tabla 2. Media  $\pm$  sem para cada nivel de cada efecto en las variables estudiadas**

Efecto	Niveles de cada factor	PV	CE	PTD	PED	DTSD	%L D	%I D	%E D	IP TD
Esquila	Con esquila	<b>44,70<math>\pm</math>1,25</b>	<b>29,82<math>\pm</math>0,53</b>	<b>135,68<math>\pm</math>6,83</b>	<b>25,29<math>\pm</math>1,12</b>					
	Sin esquila	44,05 $\pm$ 1,49	29,81 $\pm$ 0,80	145,58 $\pm$ 12,63	27,71 $\pm$ 2,13					
Fecha de muestreo	Octubre 2013	<b>39,47<math>\pm</math>1,37<sup>a</sup></b>	<b>27,30<math>\pm</math>0,32</b>	<b>106,80<math>\pm</math>4,37</b>	<b>20,27<math>\pm</math>0,63</b>					
	Marzo 2014	49,28 $\pm$ 1,34 <sup>b</sup>	32,43 $\pm$ 0,32	174,88 $\pm$ 7,79	32,73 $\pm$ 1,05					
Número de crías	Un cordero	<b>44,71<math>\pm</math>1,27</b>	<b>29,85<math>\pm</math>0,60</b>	<b>142,47<math>\pm</math>10,16</b>	<b>26,93<math>\pm</math>1,65</b>					
	Mellizos	44,05 $\pm$ 1,44	29,77 $\pm$ 0,70	137,27 $\pm$ 9,12	25,69 $\pm$ 1,55					
Esquila	Con esquila		<b>367,60<math>\pm</math>9,77</b>	<b>24,90<math>\pm</math>0,83</b>	<b>23,53<math>\pm</math>0,58</b>	<b>51,42<math>\pm</math>0,89</b>	<b>159,54<math>\pm</math>1,63</b>			
	Sin esquila		360,81 $\pm$ 7,33	21,50 $\pm$ 1,00	23,56 $\pm$ 0,94	54,94 $\pm$ 1,06	161,87 $\pm$ 1,85			
Fecha de muestreo	Octubre 2013		<b>344,75<math>\pm</math>6,53</b>	<b>22,85<math>\pm</math>0,85</b>	<b>24,03<math>\pm</math>0,72</b>	<b>53,13<math>\pm</math>0,94</b>	<b>167,66<math>\pm</math>1,76</b>			
	Marzo 2014		385,40 $\pm$ 9,01	23,97 $\pm$ 1,09	23,04 $\pm$ 0,75	52,81 $\pm$ 1,14	153,75 $\pm$ 1,7			
Número de crías	Un cordero		<b>362,75<math>\pm</math>6,90</b>	<b>22,75<math>\pm</math>0,93</b>	<b>24,24<math>\pm</math>0,83</b>	<b>53,01<math>\pm</math>1,04</b>	<b>161,09<math>\pm</math>1,67</b>			
	Mellizos		366,74 $\pm$ 11,15	24,13 $\pm$ 1,02	22,75 $\pm$ 0,56	52,93 $\pm$ 1,03	160,32 $\pm$ 1,81			

PV: peso vivo, CE: circunferencia escrotal, PTD: peso testicular derecho, PED: peso epididimario derecho, DTSD: diámetro túbulos seminíferos derechos, %L D: porcentaje de luz de túbulos seminíferos derechos, %I D: porcentaje intersticio testículos derechos, %E D: porcentaje epitelio testículos derechos, IP TD: intensidad de píxeles al análisis ecográfico, testículo derecho.

**Gráfica 1. Media  $\pm$  sem por variable analizadas en Octubre 2013 y Marzo 2014**



## 6.2. Correlaciones

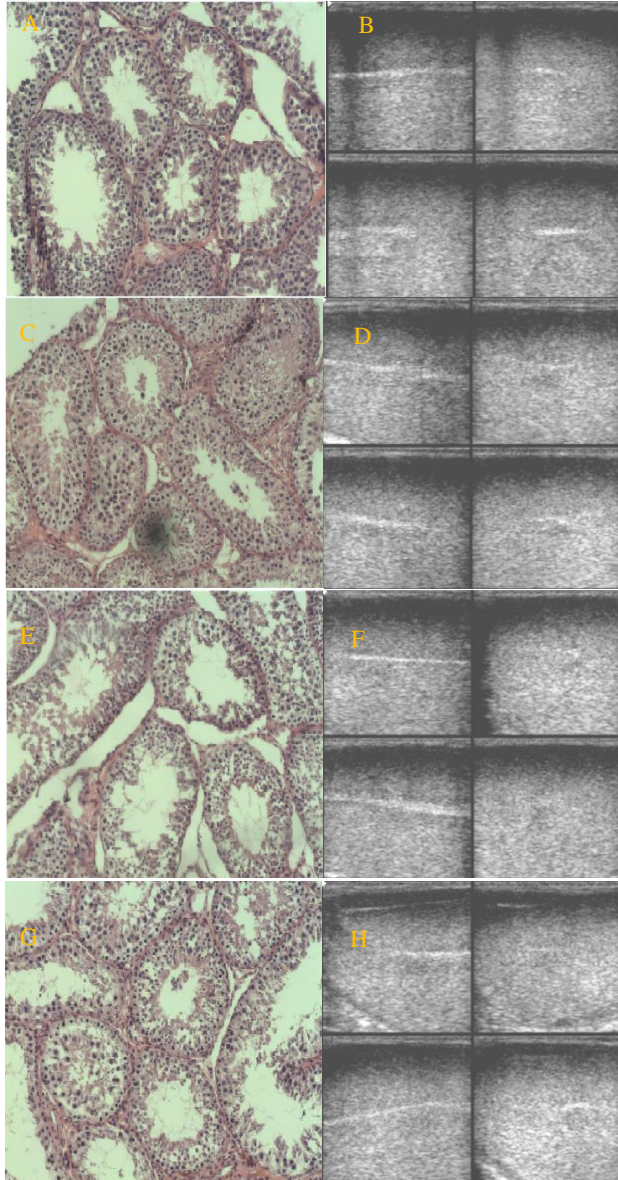
En la Tabla 3 se observan las correlaciones positivas entre peso vivo, circunferencia escrotal, peso testicular derecho, peso epididimario derecho y diámetro de túbulos seminíferos. La correlación entre circunferencia escrotal, peso testicular derecho, peso epididimario y diámetro de túbulos seminíferos también fue positiva. Entre peso testicular derecho, peso epididimario y diámetro de túbulos seminíferos también fue positiva. Con respecto al peso epididimario derecho y el diámetro de túbulos seminíferos se observa que también la correlación fue positiva. Finalmente, hubo correlación negativa entre circunferencia escrotal y ecografía testicular, y ésta con diámetro de túbulos seminíferos.

**Comentado [gp5]:** Sería interesante agregar imágenes de las ecografías en la sección resultados

**Tabla 3. Correlaciones entre las variables estudiadas, en las que  $P \leq 0,05$ .**

	<b>Pvivo</b>	<b>CE</b>	<b>PTD</b>	<b>PED</b>	<b>DTSD</b>
<b>CE</b>	0,7725 p=0,000				
<b>PTD</b>	0,8097 p=0,000	0,9222 p=0,000			
<b>PED</b>	0,7404 p=0,000	0,877 p=0,000	0,8799 p=0,000		
<b>DTSD</b>	0,6025 p=0,000	0,6275 p=0,000	0,5983 p=0,000	0,4675 p=0,002	
<b>IP TD</b>			-0,5334 p=0,000		-0,5826 p=0,000

PV: peso vivo, CE: circunferencia escrotal, PTD: peso testicular derecho, PED: peso epididimario derecho, DTSD: diámetro túbulos seminíferos derechos, IP TD: intensidad de píxeles al análisis ecográfico, testículo derecho.



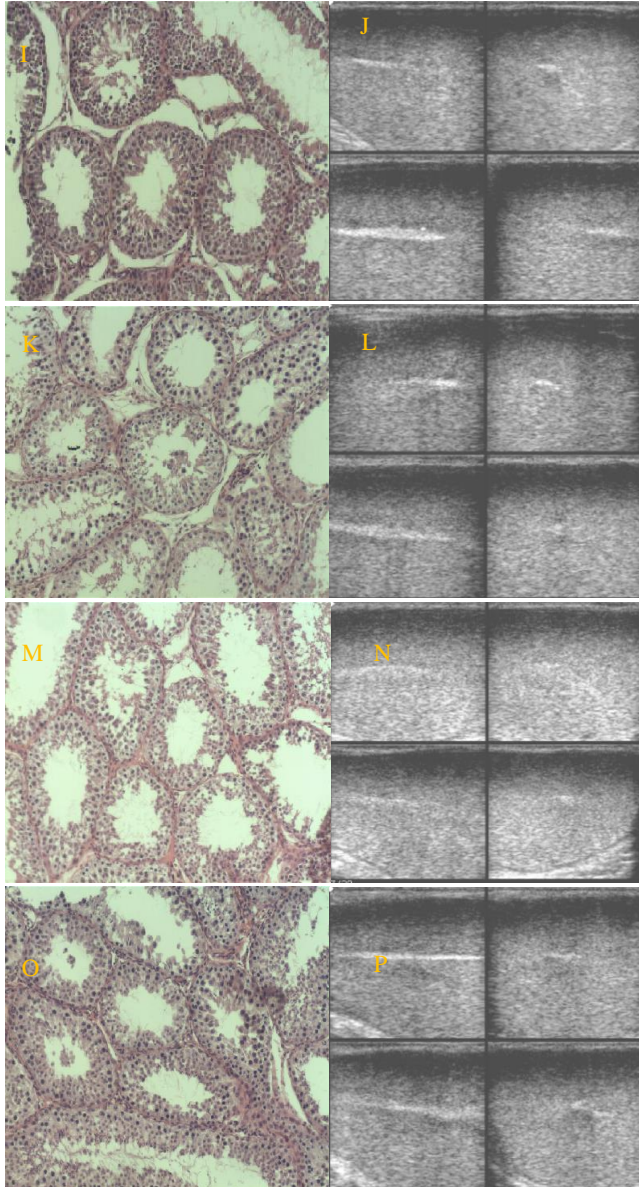
A corresponde a un corte histológico de un animal CEPP1M.  
B corresponde a una imagen ecográfica de un animal CEPP1M.

C corresponde a un corte histológico de un animal CEPP1O.  
D corresponde a una imagen ecográfica de un animal CEPP1O.

E corresponde a un corte histológico de un animal CEPP2M.  
F corresponde a una imagen ecográfica de un animal CEPP2M.

G corresponde a un corte histológico de un animal CEPP2O.  
H corresponde a una imagen ecográfica de un animal CEPP2O.

*Figura 7. Imágenes histológicas y ecográficas de animales CEPP1M (Con esquila preparto, hijos únicos, muestreados en Marzo), CEPP2M (Con esquila preparto, hijos mellizos, muestreados en Marzo), CEPP1O (con esquila preparto, hijos únicos, muestreados en Octubre), CEPP2O (con esquila preparto, hijos mellizos, muestreados en Octubre).*



I corresponde a un corte histológico de un animal SEPP1M.  
 J corresponde a una imagen ecográfica de un animal SEPP1M.

K corresponde a un corte histológico de un animal SEPP1O.  
 L corresponde a una imagen ecográfica de un animal SEPP1O.

M corresponde a un corte histológico de un animal SEPP2M.  
 N corresponde a una imagen ecográfica de un animal SEPP2M.

O corresponde a un corte histológico de un animal SEPP2O.  
 P corresponde a una imagen ecográfica de un animal SEPP2O.

*Figura 8. Imágenes histológicas y escográficas de animales SEPP1M (Sin esquila parto, hijos únicos, muestreados en Marzo), SEPP1M (Sin esquila parto, hijos ñunicos, muestreados en Marzo), SEPP1O (Sin esquila parto, hijos únicos, muestreados en octubre), SEPP2O (Sin esquila parto, hijos mellizos, muestreados en octubre).*

### 6.3. Regresiones

El análisis de regresión entre intensidad de píxeles del testículo derecho (variable dependiente) y su peso testicular (variable independiente) tuvo  $R^2=0,15$ ,  $P=0,00480$ ,  $\beta=-0,41$ . El análisis de regresión entre la intensidad de píxeles del testículo derecho (variable dependiente) y el diámetro de sus túbulos seminíferos (variable independiente) tuvo  $R^2=0,31$ ,  $P=0,00006$ ,  $\beta=-0,57$ .

## 7. DISCUSIÓN

Con respecto a los efectos estudiados en los animales de los grupos experimentales, la esquila preparto de las madres afectó únicamente a dos de las variables histológicas estudiadas: porcentaje de luz en los túbulos seminíferos derechos (%L D) y porcentaje de epitelio seminífero en los testículos derechos (%E D), incluso cuando quitamos el efecto que podría tener el peso vivo (PV) para las variables observadas. Paradojalmente, los valores % L D fueron mayores para los animales cuyas madres fueron esquiladas pre parto y los del % E D fueron menores. Esto no permite extraer conclusiones claras respecto a las antedichas diferencias, y sugiere que son atribuibles a error experimental, ya que normalmente el volumen de la luz y del epitelio seminífero están altamente correlacionados, y cambian en forma similar (Hochereau-de Reviers y col., 1987).

Por otro lado, se observa un fuerte efecto de la fecha de muestreo (FM), es decir, del efecto confundido de la estación reproductiva (otoño de 2014) en comparación con la contraestación (primavera de 2013) junto con los aproximadamente 6 meses de crecimiento de los animales (al ser borregos post puberales, continúan creciendo), para las siguientes variables, PV, circunferencia escrotal (CE), peso testicular derecho (PTD), peso epididimario derecho (PED), diámetro túbulos seminíferos derechos (DTSD), intensidad de píxeles al análisis ecográfico del testículo derecho (IP TD).

Aunque este efecto seguramente tiene un importante componente del incremento de la edad y el peso vivo de los animales, observamos fuertes efectos al utilizar como covariable al PV en las siguientes variables: CE, PTD, PED, IP TD, sin embargo el efecto desaparece en los DTSD.

Todo esto sugiere una fuerte influencia del fotoperiodo en el aparato reproductor maculino, tal como se ha descrito para los machos ovinos en muchas condiciones diferentes (Bronson., 1989; Bielli y col., 1997; Forsberg., 2002), ya que el período reproductivo de los ovinos Ideal se extiende de Octubre – Noviembre a Junio – Julio (Fernández Abella y col., 1993)

En las variables de CE, PTD, y PED hay diferencias entre los grupos analizados en Octubre y Marzo, lo que resulta coherente con toda la bibliografía presentada en antecedentes, que indica mayor desarrollo de los órganos reproductores durante la estación reproductiva. La CE fue mayor en todos los grupos analizados en Marzo, esto concuerda con estudios realizados en diferentes regiones del mundo (Bronson, 1985; Santiago-Moreno, 2004a) y en Uruguay (Bielli y col., 1997; Pérez y col., 1997; 1998).

Al analizar el PTD, observamos que los grupos analizados en estación reproductiva, presentan mayores pesos testiculares, coincidiendo con un estudio en el que se atribuye

el mayor peso testicular durante la estación reproductiva al aumento en la pulsatilidad de LH, FSH, testosterona y también encontraron variaciones estacionales en los niveles de melatonina, testosterona y prolactina (Lincoln y Davidson, 1977).

Paralelamente, cuando analizamos el PED, observamos que también hay diferencias en esta variable entre los grupos evaluados en Octubre y en Marzo, siendo mayores los de los grupos analizados en Marzo. Se sabe que en la estación reproductiva los pesos epididimarios se correlacionan con los testiculares (Nwoha, 1996) y podríamos atribuir nuestros resultados a esto.

En las variables estudiadas anteriormente, existe una influencia difícil de medir, relativa a la edad de los animales. Esto se debe a que los animales pertenecientes a los grupos que se muestrearon fuera de la estación reproductiva comienzan el ensayo experimental a los 12 meses de vida, y recién a la edad de 18 meses se obtienen las muestras de los animales que pertenecen al grupos dentro del período reproductivo, por lo tanto es difícil saber a que nivel influye la diferencia de edad en relación a la estacionalidad.

En cuanto a la IP TD, observamos que existe menor intensidad en el parénquima testicular en los animales muestreados en la estación reproductiva, lo cual puede deberse al aumento en el tamaño y diámetro de los túbulos seminíferos (Martin y Walkden-Brown, 1995; Lincoln y Short, 1980) de la altura del epitelio germinal (Lincoln y Short, 1980) y la eficiencia de la espermatogénesis (Martin y Walkden-Brown, 1995). A su vez, otro estudio en Uruguay demostró que cuando decrecen las horas luz, la concentración espermática y la producción de semen aumentó (Fernández Abella y col., 1993). Todos estos cambios anatómicos y morfológicos indican mayor actividad por parte de los túbulos seminíferos, aumentando la cantidad de líquido presente en la luz de los mismos. Se sabe que las estructuras líquidas no reflejan olas de sonido y aparecen en negro en la pantalla de visualización (Powis y Powis, 1984) por lo cual, disminuye la ecogenicidad testicular.

Con respecto a las variables histológicas, se encuentra diferencias en DTSD, en las FM, siendo siempre mayor el diámetro en estación reproductiva, pero cuando utilizamos el PV como covariable, el efecto de la fecha de muestreo sobre el DTSD desaparece, por lo cual vemos que existe una gran influencia del PV sobre el DTSD, lo cual concuerda con diferentes autores que demuestran la correlación positiva entre PV y PTD (Butswat y Zaharaddeen, 1998; Bernardi y col., 2010) y a su vez, de este último con las reservas espermáticas (Harayama y col., 1991, Kosco y col., 1984) y por lo tanto con el DTSD.

El número de crías (único o mellizo) no influyó sobre ninguna de las variables estudiadas. Esto sugiere que la oferta alimentaria fue lo suficientemente alta como para compensar con los mayores requerimientos derivados de una gestación doble y que por lo tanto los mellizos no habrían tenido niveles de aportes intrauterinos de nutrientes sensiblemente inferiores a los gestados únicos.

El efecto generado por la interacción de la esquila pre parto y la FM incidió significativamente en las variables de PTD, PED. Pero cuando utilizamos como

covariable al PV, encontramos que ese efecto deja de ser significativo para la variable PTD. A su vez, el PV de los animales no es diferente para los animales hijos de madre con o sin esquila pre parto pero por otro lado sí es mayor para los animales que fueron analizados en estación reproductiva. Ante estos datos podemos deducir que el PTD Y PED y la IP TD están influidos por varios factores, uno de ellos el PV y la estacionalidad reproductiva (Butswat y Zaharaddeen, 1998; Bernardi y col., 2010; Abdullahi y col., 2012) y tal vez en mucho menor medida una interacción de estos con el efecto de la esquila. Por lo que podríamos suponer que es debido al aumento del PV y el cambio de estación que en marzo se observa un aumento en el PTD Y PED.

Cuando observamos el efecto de la interacción entre la esquila pre parto y el número de crías vemos que este no tiene una incidencia significativa para ninguna las variables estudiadas.

Y cuando observamos el efecto de la interacción de la esquila pre parto, FM y el número de crías, vemos que es solamente significativo para la variable de %E D, cuando se utiliza el PV como covariable, lo que nos parece una interacción de menor importancia.

Como ya es sabido, el PV se correlaciona positivamente con la CE, principalmente en la estación reproductiva (Carter y col., 1980). Alimentar carneros con suplementos ricos en proteínas estimula el crecimiento testicular, por un aumento en el PV (Oldham y col., 1978; Martin y col., 1987). Por otra parte, Raji y Njidda (2014), observan que los pesos testiculares tienen una alta correlación con las reservas de esperma en los testículos y epidídimos y esto es un reflejo directo de la integridad testicular. Al igual que estudios realizados en diferentes zonas del mundo, en este experimento se observa que el PTD se correlaciona positivamente con el PV (Butswat y Zaharaddeen, 1998; Bernardi y col., 2010). Teniendo en cuenta que el PTD se correlaciona con el PV, es esperable que exista una correlación entre PV y PED, ya que PTD y PED se correlacionan entre sí (Abdullahi y col., 2012). La razón por la cual habría una correlación entre CE y DTSD, sería que los testículos están compuestos en su mayor parte (80-90% de su parénquima) por túbulos seminíferos, que al aumentar su diámetro generarán un aumento en el tamaño testicular aumentando así la CE.

Guan y col. (2014) encontraron que aumentos de la CE se correlacionan positivamente con el número y la densidad de espermatozoides por gramo de tejido, lo cual explicaría el aumento en el DTSD. Otro estudio, realizado en camellos, encuentra una correlación positiva entre CE y PED al igual que este experimento (Abdullahi y col., 2012).

Estudios realizados en toros reportan datos similares a los obtenidos en nuestro experimento, con respecto a la correlación entre PED y PTD, donde se observa que al disminuir el PTD y la CE, disminuye el PED (Veeramachaneni y col., 1986).

Al estudiar la correlación entre PTD y DTSD se observa que la misma es positiva, estos resultados concuerdan con lo reportado por Harayama y col., (1991). Kosco y col., (1984) también reportaron un mayor incremento del PTD asociado a incremento de la concentración de testosterona. El tamaño y el PTD de un animal es dependiente del número de células de Sertoli que contenga (Hochereau-de Reviers y col., 1987). El número de células de Sertoli está correlacionado con el tamaño testicular y con la

producción máxima de células germinales en gran variedad de mamíferos así como también con la producción diaria de espermatozoides (Neill, 2006). En búfalos (Ahmad y col., 2010) obtuvieron resultados similares a los encontrados en nuestro estudio en cuanto a la correlación positiva entre DTSD y PTD, donde el tamaño y PTD, son indicativos del desarrollo de los túbulos seminíferos en longitud y diámetro e inicio de la espermatogénesis, proporcionando espacio, para la producción espermática.

Con respecto al coeficiente de correlación entre DTSD y PED, en nuestro estudio encontró correlación positiva entre ellos, al igual que en verracos (Schinckel y col., 1983), ya que al aumentar el DTSD hay mayor producción de espermatozoides, que se almacenan en el epidídimo para madurar y ser posteriormente transportados en el eyaculado.

En cuanto a la correlación entre IPTD, CE y DTSD, podemos aseverar que en nuestro diseño experimental, la misma es negativa. En la estación reproductiva hay cambios en la histomorfología de las túbulos seminíferos (Giffin y col., 2009; Omer y col., 2012; Giffin y col., 2014), como mayor desarrollo de los túbulos seminíferos (Lincoln y Short, 1980, Martin y Walkden-Brown, 1995), este aumento es debido a que hay una mayor producción por parte del epitelio seminífero (Fernández Abella y col., 1993), aumentando así la cantidad de líquido dentro de los mismos. Ecográficamente los líquidos se observan poco ecogénicos (Powis y Powis, 1984).

Por otra parte, en el estudio de regresiones (hasta donde sabemos no existen reportes de estudios similares en la literatura nacional e internacional) el diámetro de los túbulos seminíferos y el peso testicular aparecen con  $R^2$  altos y significativos, lo que sugiere que en buena medida, la ecogenicidad testicular depende del desarrollo de los antedichos túbulos. Hasta donde sabemos, este es el primer estudio en que se realiza un análisis de regresión de este tipo. Más estudios deberían ser realizados para confirmar esta posibilidad.

## **8. CONCLUSIONES**

Bajo nuestras condiciones experimentales de manejo intensivo, donde los animales tenían muy buena alimentación, podemos concluir que hubo un fuerte efecto de la fecha de muestreo en los parámetros histológicos y ecográficos, y al utilizar como covariable al peso vivo igualmente encontramos un efecto de la estación del año.

Asimismo encontramos correlación y regresión negativas entre la ecogenicidad testicular, el peso testicular y el diámetro de los túbulos seminíferos, lo que constituye un aporte original de este trabajo de tesis.

Esquilar preparto a las ovejas no afectó, en rasgos generales, el desarrollo testicular de los borregos hijos de las mismas.

El número de fetos durante la gestación tampoco afectó el desarrollo testicular postnatal.



## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1)Abdullahi IA, Musa HA, Jibril A, Ali Abdullahi I, Al-Hassan Musa H, Jibril A (2012). Scrotal Circumference and Testicular Morphometric Characteristics of the Camel (*Camelus dromedarius*) in the Semi-Arid Environment of Northern Nigeria. *Internacional Journal of Morphology*; 30(4):1369-1372.
- 2)Aguera S (2005). Aparato genital masculino, En: Garcia A.G. y col. *Fisiología Veterinaria*. Zaragoza, Ed. Interamericana McGraw Hill, pp. 969-986.
- 3)Ahmad N, Umair S, Shahab M, Arslan M (2010). Testicular development and establishment of spermatogenesis in Nili-Ravi buffalo bulls. *Theriogenology*; 73(1): 20-25.
- 4)Ahmadi B, Lau C, Giffin JL, Santos N, Hahnel A, Raeside J, Christie H, Bartlewski PM (2012). Suitability of epididymal and testicular ultrasonography and computerized image analysis for assessment of current and future semen quality in the ram. *Experimental Biology and Medicine*; 237:186–193.
- 5)Arteaga AA, Barth AD, Brito LFC (2005). Relationship between semen quality and pixel-intensity of testicular ultrasonograms after scrotal insulation in beef bulls. *Theriogenology*; 64:408–415.
- 6)Bancharo G, Vázquez A, Montossi F, de Barbieri I, Quintans G (2010). Pre-partum shearing of ewes under pastoral conditions improves the early vigour of both single and twin lambs. *Animal Production Science*; 50:309–314.
- 7)Barker DJ (1993). Maternal nutrition and cardiovascular disease. *Nutrition and Health* 9:99-106.
- 8)Bellows RA, Riley TM, Kieffer NM, Urick JJ, Brinks JS, Clarck RT (1964). Preliminary studies of sperm production and breeding ability in young, straight and crossbred bulls. *Journal of Animal Science*; 23(2): 593-594.
- 9)Bernardi S, Brogliatti G, Oyarzabal MI (2010). Estructura Testicular y Calidad Seminal en Ratones Seleccionados por Peso. *International Journal of Morphology*; 28(3):673-680.
- 10)Bielli A (2002). Regulación hormonal de la función reproductiva en el macho. En: Rodolfo Ungerfeld, Montevideo, Melibea Ed.,pp 81-94.
- 11)Bielli A (2012), Influencias de la nutrición sobre el aparato reproductor de los carneros en distintas etapas de la vida: qué nos pueden decir los animales de laboratorio. IV Congreso de Asociación Uruguaya de Producción Animal, Montevideo, Uruguay, pp 29-34.
- 12)Bielli A, Gastel T, Pérez R, López A, Castrillejo A, Regueiro M, Forsberg M, Lundeheim N, Rodriguez-Martinez H (1997). Influence of nutrition in testicular morphology in Uruguayan Corriedale rams. *Journal of Reproduction*, 43(2): 171-180.
- 13)Bielli A, Katz H, Pedrana G, Gastel MT, Moraña A, Castrillejo A, Lundeheim N, Forsberg M, Rodriguez-Martinez H. (2001). Nutritional management during

- fetal and postnatal life, and the influence on testicular stereology and Sertoli cell numbers in Corriedale ram lambs. *Small Ruminant Research*. Vol 40: 62-71.
- 14) Bielli A, Pedrana G, Gastel MT, Castrillejo A, Morana A, Lundeheim N, Rodriguez-Martinez H (1999). Influence of grazing management on the seasonal change in testicular morphology in Corriedale rams. *Animal Reproduction Science*, 56(2): 93-105.
  - 15) Black HJ, Chestnut DMB (1990). Influence of shearing regime and grass silage quality on the performance of pregnant ewes. *Animal Production*; 51(03):573 - 582.
  - 16) Bo GA, Caccia M (2000). Ultrasonografía reproductiva en el ganado bovino. *Revista Taurus*; 2(5): 23-39.
  - 17) Borrelli P (2001). Esquila preparto, En: Borrelli P, Oliva G, Ganadería ovina sustentable en la Patagonia austral, Buenos Aires, Argentina, INTA, pp 203-208.
  - 18) Brito LFC, Barth AD, Wilde RE, Kastelic JP (2012). Testicular ultrasonogram pixel intensity during sexual development and its relationship with semen quality, sperm production, and quantitative testicular histology in beef bulls. *Theriogenology*; 78:69–76.
  - 19) Bronson FH (1985). *Mammalian Reproduction: An Ecological Perspective*. *Biology of Reproduction*; 32: 1-26.
  - 20) Bronson FH (1988). Mammalian reproductive strategies: genes, photoperiod and latitude. *Reproduction, Nutrition, Development*; 28 (2): 335-347.
  - 21) Bronson FH (1989). *Mammalian reproductive biology*, Chicago, The University of Chicago Press. 325 p.
  - 22) Butswat IS, Zaharaddeen DT (1998). Comparison of some reproductive parameters in Red Sokoto and Kano Brown breeds of bucks. *Nigerian Journal of Animal Production*; 25(1):1-5.
  - 23) Cam MA, Kuran M (2004). Shearing pregnant ewes to improve lamb birth weight increases milk yield of ewes and lamb weaning weight. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*; 17(12):1669- 1673.
  - 24) Carter AP, Wood PD, Wright PA (1980). Association between scrotal circumference, live weight and sperm output in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*; 59(2):447-451.
  - 25) Casteilla L, Orgeur P, Signoret JP (1987). Effects of rearing conditions on sexual performance in the ram: practical use. *Applied Animal Behaviour Science*; 19: 111-118.
  - 26) Chandrasekhar Y, D'Occhio MJ, Setchell BP (1986). Delayed puberty caused by hyperthyroidism in ram lambs is not a result of suppression in body growth. *Journal of Reproduction and Fertility*; 76(2): 763-769.
  - 27) Courot M (1971). Établissement de la spermatogénèse chez l'agneau (*Ovis aries*) Étude expérimentale de son contrôle gonadotrope; importance des cellules de la lignée sertolienne. Doctoral dissertation, Université de Paris VI. 200 p.

- 28)Cunningham JG, Bradley GK (2009), Fisiología reproductiva del macho, En: Cunningham JG, Bradley GK. Fisiología veterinaria, Barcelona, Ed. Elsevier, pp. 517-525.
- 29)De Barbieri I, Montossi F, Viñoles C, Kenyon PR (2014). Effect of shearing ewes during mid- and late-pregnancy on lambs weight at birth and survival to weaning under grazing conditions in Uruguay. *Small Ruminant Research*; 119, 28-32.
- 30)Dellman HD, Wrobel KH (1993), Sistema reproductor masculino. En: Dellman HD, *Histología Veterinaria*. 2ª ed., Zaragoza, Ed. Acribia, pp. 245-266.
- 31)DICOSE (2011), disponible en: [http://www.mgap.gub.uy/dgsg/DICOSE/Informe2011/DJ2011\\_TNacional.pdf](http://www.mgap.gub.uy/dgsg/DICOSE/Informe2011/DJ2011_TNacional.pdf) fecha de consulta: 06 de Julio de 2015.
- 32)DICOSE (2014), disponible en: [http://www.mgap.gub.uy/dgsg/DICOSE/Informe2014/DJ2014\\_TotalNacional.pdf](http://www.mgap.gub.uy/dgsg/DICOSE/Informe2014/DJ2014_TotalNacional.pdf) fecha de consulta: 06 de Julio de 2015.
- 33)Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG (2012). Pelvis y órganos reproductores de los rumiantes. En: Dyce KM, Sack WO, Wensing, *Anatomía Veterinaria*. 4ª ed., México DF, Manual Moderno, pp 699- 751.
- 34)Edwards LJ, McFarlane JR, Kauter KG, McMillen IC, (2005). Impact of periconceptional nutrition on maternal and fetal leptin and fetal adiposity in singleton and twin pregnancies. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology*; 288(1): 39-45.
- 35)Evans ACO, Pierson RA, Garcia A, McDougall LM, Hrudka F, Rawlings NC, (1996). Changes in circulating hormone concentrations, testes histology and testes ultrasonography during sexual maturation in beef bulls. *Theriogenology*; 46:345–357.
- 36)Ewing LL, Brown BL (1977). Testicular steroidogenesis. En: Johnson AD, Gomes WR. *The Testis*. New York: Academic Press, V 4, pp. 239-87.
- 37)Fawcett DW (1995), Sistema reproductor, En: Fawcett DW, *Tratado de Histología*. 12a ed. Madrid, Ed. Interamericana McGraw Hill, pp. 833-884.
- 38)Fernández Abella D, Villegas H, Echeverría N, Robaina J (1993). Evaluación de las variaciones estacionales en la producción espermática de cuatro razas ovinas. *Boletín Técnico de Ciencias Biológicas*; 3: 23-34.
- 39)Forsberg M (2002). Estacionalidad reproductiva: el significado de la luz. En: Rodolfo Ungerfeld, Montevideo, Melibea Ed.,pp 123-140.
- 40)Fricke PM (2002). Scanning the future ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. *Journal of Dairy Science*; 85:1918-1926.
- 41)Gabor G, Sasser RG, Kastelic JP, Mezes M, Falkay G, Bozo S, Boros G, (1998). Computer analysis of video and ultrasonographic images for evaluation of bull testes. *Theriogenology*; 50(2): 223-228.
- 42)Gastel T, Bielli A, Pérez R, López A, Castrillejo A, Tagle R, Franco J, Laborde D, Forsberg M, Rodriguez-Martinez H (1996). Seasonal variations in testicular

- morphology in Uruguayan Corriedale rams. *Animal Reproduction Science*; 40: 59-75.
- 43) Genovese P, Núñez ME, Pombo C, Bielli A (2009). Undernutrition during foetal and post-natal life affects testicular structure and reduces the number of Sertoli cells in the adult rat. *Reproduction in domestic animals*; 45: 233-236.
- 44) Giffin JL, Bartlewski PM, Hahnel AC (2014). Correlations among ultrasonographic and microscopic characteristics of prepubescent ram lamb testes. *Experimental Biology and Medicine*; 239(12): 1606-1618.
- 45) Giffin JL, Franks SE, Rodriguez-Sosa JR, Hahnel A, Bartlewski PM (2009). A study of morphological and haemodynamic determinants of testicular echotexture characteristics in the ram. *Experimental Biology and Medicine*; 234:794–801.
- 46) Glatzel P (1988). Variation in hormonal feedback and reproductive performance in rams of different genotypes from birth through puberty. *Theriogenology*; 30(4): 763-776.
- 47) Goldman BD (2001). Mammalian photoperiodic system: Formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement. *Journal of Biological Rhythms*; 16:283-301.
- 48) Gouletsou PG, Amiridis GS, Cripps PJ, Lainas T, Deligiannis K, Saratsis P, Fthenakis GC (2003). Ultrasonographic appearance of clinically healthy testicles and epididymides of rams. *Theriogenology*; 59: 1959–1972.
- 49) Gouletsou PG, Fthenakis GC, (2010). Clinical evaluation of reproductive ability of rams. *Small Ruminant Research*; 92(1): 45-51.
- 50) Griffin PG, Ginther OJ (1992). Research Applications of Ultrasonic Imaging. *Reproductive Biology. Journal of Animal Science*; 70:953-972.
- 51) Guan Y, Malecki IA, Hawken PA, Linden MD, Martin GB (2014). Undernutrition reduces spermatogenic efficiency and sperm velocity, and increases sperm DNA damage in sexually mature male sheep. *Animal Reproduction Science*; 149(3): 163-172.
- 52) Harayama H, Nanjo I, Kanda S, Kato S (1991). Testicular development in Chinese Meishan boars. *Theriogenology*; 36(4):637-643 (abstract).
- 53) Hassani S (1974). The principles of ultrasonography. *Journal of National Medical Association*; 66:205–231.
- 54) Hochereau-de Reviers MT, Courtens JL, Courot M, de Reviers M (1990). Spermatogenesis in mammals and birds. En: Lamming, GE, Marshall s physiology of reproduction, 4<sup>a</sup> ed. London, Chapman, V2, pp 106-182.
- 55) Hochereau-de Reviers MT, Lincoln GA (1978). Seasonal variation in the histology of the testis of the red deer, *Cervus elaphus*. *Journal of Reproduction and Fertility*; 54:209-213.
- 56) Hochereau-de Reviers MT, Monet-Kuntz C, Courot M (1987). Spermatogenesis and Sertoli cell numbers and function in rams and bulls. *Journal of Reproduction and Fertility*; 34:101-114.

- 57)Howles CM, Webster GM, Haynes NB (1980). The effect of rearing under a long or short photoperiod on testis growth, plasma testosterone and prolactin concentrations, and the development of sexual behaviour in rams. *Journal of Reproduction and Fertility*, 60(2): 437-447.
- 58)Hulet CV, Shelton M, Gallagher JR, Price DA (1974). Effects of origin and environment on reproductive phenomena in Rambouillet ewes. II. Lamb production. *Journal of Animal Science*; 38 (6): 1218-1223.
- 59)Illius AW, Haynes NB, Purvis K, Lamming GE (1976). Plasma concentrations of testosterone in the developing ram in different social environments. *J Reprod Fertil*; 48(1):17-24.
- 60)Jopson NB, Davis GH, Farquhar PA, Bain WE (2002). Effects of mid-pregnancy nutrition and shearing on ewe body reserves and foetal growth. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*; 62:49-52.
- 61)Kastelic JP, Cook RB, Pierson RA, Coulter GH (2001). Relationships among scrotal and testicular characteristics, sperm production, and seminal quality in 129 beef bulls. *Canadian Journal of Veterinary Research*; 65(2): 111-115.
- 62)Kelly RW, Allison AJ, Shackell GH (1976). Seasonal variation in oestrous and ovarian activity of five breeds of ewes in Otago. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*; 4(2): 209-214.
- 63)Kenyon PR, Morris ST, Revell DK y Mccutcheon SN (1999). Improving lamb birthweight through mid- to late-pregnancy shearing: a review of recent studies. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*; 59: 70-72.
- 64)Kolasa A, Misiakiewicz K, Marchlewicz M, Wiszniewska B (2012). The generation of spermatogonial stem cells and spermatogonia in mammals. *Reproductive Biology*; 12:5–23.
- 65)Kosco MS, Crabo BG, Wheaton JE, Loseth KJ, Bohnke EJ (1984). Prepuberal testicular growth in intact and hemicastrated boars. *X Cong. Intern. Reprod. Anim. e Insem. Art. Illinois*. pp. 26-28.
- 66)Kotsampasi B, Balaskas C, Papadomichelakis G, Chadio SE (2009). Reduced Sertoli cell number and altered pituitary responsiveness in male lambs undernourished in utero. *Animal Reproduction of Science*. 114:135-147.
- 67)Limanowski A, Miśkowiak B, Otulakowski B, Partyka M, Konwerska A (2000). Morphometric studies on rat epididymis in the course of postnatal development (computerised image analysis). *Folia Histochemica et Cytobiologica*; 39(2): 201-202.
- 68)Lincoln GA (1990). Correlation with changes in horns and pelage, but not reproduction, of seasonal cycles in the secretion of prolactin in rams of wild, feral and domesticated breeds of sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*; 90: 285-296.
- 69)Lincoln GA (2002). Neuroendocrine regulation of seasonal gonadotrophin and prolactin rhythms: lessons from the Soay ram model. *Reproduction*; 59:131-147.

- 70) Lincoln GA, Almeida OFX, Arendt J (1981). Role of melatonin and circadian rhythms in seasonal reproduction in rams. *Journal of Reproductive and Fertility*; 30:23-31.
- 71) Lincoln GA, Andersson H, Hazlerigg D (2003). Clock genes and the long-term regulation of prolactin secretion: evidence for a photoperiod/circannual timer in the pars tuberalis. *Journal of Neuroendocrinology*; 15(4): 390-397.
- 72) Lincoln GA, Clarke IJ (1994). Photoperiodically-induced cycles in the secretion of prolactin in hypothalamopituitary disconnected rams: Evidence for translation of the melatonin signal in the pituitary gland. *Journal of Neuroendocrinology*; 6:251-260.
- 73) Lincoln GA, Davidson W (1977). The relationship between sexual and aggressive behavior, and pituitary and testicular activity during the seasonal cycle of ram and the influence of photoperiod. *Journal of Reproductive and Fertility*; 49:267-276.
- 74) Lincoln GA, Short RV (1980) Seasonal breeding: nature's contraceptive, *Recent Progress in Hormone Research*, Nueva York, Academic Press, 629p.
- 75) Malpoux B (2006). Seasonal regulation of reproduction in mammals. En: Neill, JD, Knobil and Neill's *Physiology of reproduction*. 3a ed, St Louis, Elsevier, pp 2231-2281.
- 76) Malpoux B, Migaud M, Tricoire H, Chemineau P (2001). Biology of mammalian photoperiodism and the critical role of the pineal gland and melatonin. *Journal of Biology Rhythm*; 16:336-347.
- 77) Malpoux B, Robinson JE, Brown MB, Karsch FJ (1988). Importance of changing photoperiod and melatonin secretory pattern in determining the length of the breeding season in the Suffolk ewe. *Journal of Reproduction and Fertility*; 83:461-470.
- 78) Malpoux B, Skinner DC, Maurice F (1995). The ovine pars tuberalis does not appear to be targeted by melatonin to modulate luteinizing hormone secretion, but may be important for prolactin release. *Journal of Neuroendocrinology*; 7:199-206.
- 79) Marques V, (2013). Efeito da esquila durante a gestação no metabolismo de ovelhas e cordeiros na fase pós-nascimento. Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/71594/000879920.pdf?sequence=1> fecha de consulta 06 de julio de 2015.
- 80) Martin GB, Sutherland SR, Lindsay DR (1987). Effects of nutritional supplements on testicular size and the secretion of LH and testosterone in Merino and Booroola rams. *Animal Reproduction Science*; 12(4): 267-281.
- 81) Martin GB, Tjondronegoro S, Boukhliq R, Blackberry MA, Briegel JR, Blache D, Adams NR (1999). Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Suffolk sheep: modification of endogenous rhythms by photoperiod. *Reproduction, Fertility, and development*; 11(6): 355-366.

- 82) Martin GB, Walkden-Brown SW (1995). Nutritional influences on reproduction in mature male sheep and goats. *Journal of Reproduction and Fertility*; (49): 437-449.
- 83) McCoard SA, McNabb WC, Peterson SW, McCutcheon SN, Harris PM (2000). Muscle growth, cell number, type and morphometry in single and twin fetal lambs during mid to late gestation. *Reproduction Fertility and Development*; 12 (5-6):319-327.
- 84) Meachem S, Von Schönfeld V, Schlatt S (2001). Spermatogonia: stem cells with a great perspective. *Reproduction*; 121:825-834.
- 85) Menchaca A, Miller V, Gil J, Pinczak A, Laca M, Rubianes E (2004). Prostaglandin F<sub>2α</sub> treatment associated with timed artificial insemination in ewes. *Reproduction in Domestic Animals*; 39(5): 352-355.
- 86) Minkoff D (2015) disponible en: <http://eds.b.ebscohost.com.proxy.timbo.org.uy:443/eds/detail/detail?sid=c0127217-cea1-4170-adf6-72f11dbcbcf%40sessionmgr112&vid=1&hid=122&bdata=Jmxhbm9ZXMmc210ZT11ZHMtG12ZQ%3d%3d#AN=89093439&db=ers> fecha de consulta: 02 de Julio de 2015.
- 87) Montossi F, De Barbieri I, Digiero A, Martínez H, Nolla M, Luzardo S, Costales J (2005). La esquila preparto temprana: Una nueva opción para la mejora reproductiva ovina. Seminario de actualización técnica. Reproducción ovina: recientes avances realizados por el INIA, Tacuarembó y Treinta y Tres, Uruguay, 85-102.
- 88) Morris ST, Kenyon PR, Burnham DL, McCutcheon SN (1999). The influence of pre-lamb shearing on lamb birthweight and survival. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*; 61:95-98.
- 89) Mukasa-Mugerwa E y Ezaz Z (1992). Relationship of testicular growth and size to age, body weight and onset of puberty in Menz ram lambs. *Theriogenology*; 38(5): 979-88.
- 90) Nwoha PU (1996). Seasonal variation in the correlation of testicular and epididymal weight-dimensions in the red Sokoto goat and white Yankassa ram. *Kaibogaku Zasshi*; 71(1): 09-14.
- 91) Ólafur R (1991). Shearing time of sheep with special reference to conditions in northern Europe: a review. *Icelandic Agricultural Sciences*: 5:39-46.
- 92) Oldham CM, Adams NR, Gherardi PB, Lindsay DR, Mackintosh JB (1978). The influence of level of feed intake on sperm-producing capacity of testicular tissue in the ram. *Australian Journal of Agricultural Research*; 29:173-179.
- 93) Olster DH, Foster DL (1986). Control of gonadotropin secretion in the male during puberty: a decrease in response to steroid inhibitory feedback in the absence of an increase in steroid-independent drive in the sheep. *Endocrinology*, 118(6): 2225-2234.

- 94) Omer R, Giffin J, Hahnel A, Bartlewski P, (2012). Relationships of ultrasonographic and magnetic resonance image attributes to the histomorphology of ram testes. *Reproductive Biology*; 12(4): 355-361.
- 95) Pacheco D, Treloar BP, Kenyon PR, Blair HT, McCoard SA, (2010). Intracellular concentrations of free amino acids are reduced in skeletal muscle of late gestation twin compared to single fetuses. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*; 70:199-201.
- 96) Pechman RD, Eilts BE (1987). B-mode ultrasonography of the bull testicle. *Theriogenology*; 27:431-441.
- 97) Pérez CR, Forsberg M, Rodriguez-Martinez H (1998). Seasonal variation in live weight, testes size, testosterone, LH secretion, melatonin and thyroxine in Merino and Corriedale rams in a subtropical climate. *Acta Veterinaria Scandinavica*; 39(1): 35-47.
- 98) Pérez R, Lopez A, Castrillejo A, Bielli A, Laborde D, Gastel T, Rodriguez-Martinez H (1997). Reproductive seasonality of Corriedale rams under extensive rearing conditions. *Acta Veterinaria Scandinavica*; 38(1): 109-117.
- 99) Petracchia C (1994). Miasis cutánea por *Cochliomya hominivorax*. En: Nari A, Fiel C, Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos: Bases epidemiológicas para su prevención y control, Montevideo, Hemisferio Sur, pp 423-434.
- 100) Piccione G, Casella S, Fazio F, Pennisi P (2008). Effect of shearing on some haematochemical parameters in ewes. *Czech Journal of Animal Science*; 53(3): 106-111.
- 101) Pierson RA, Adams GP (1995). Computer-assisted image analysis, diagnostic ultrasonography and ovulation induction: strange bed fellows. *Theriogenology*; 43:105-112.
- 102) Price E, Reid B, Martin D (1996). Heterosexual experience differentially affects the expression of sexual behavior in 6- and 8-month-old ram lambs. *Applied Animal Behaviour Science*; 46: 193-199.
- 103) Raji AY, Njidda AA (2014). Gonadal and extra-gonadal sperm reserves of the Red Sokoto goats fed *Moringa oleifera* supplemented diets. *International Journal of Agriculture and Biosciences*; 3(2):61-64.
- 104) Revell DK, Main SF, Breier BH, Cottam YH, Hennies M, McCutcheon SN (2000). Metabolic responses to mid-pregnancy shearing that are associated with a selective increase in the birth weight of twin lambs. *Domestic Animal Endocrinology*; 18(4):409-422.
- 105) Rhim TJ, Kuehl D, Jackson GL (1993). Seasonal changes in the relationships between secretion of GnRH, LH and testosterone in the rams. *Biology of Reproduction*; 48: 197-204.
- 106) Rodríguez C (2013). Desarrollo reproductivo en corderos Ideal criados artificialmente o con sus madres. Tesis Facultad de Veterinaria, UdelaR, 56p.



- 107) Russell LD (1995). Editor's comment: Quantitative morphology: a necessary component of modern anatomical research. *Tissue and Cell*; 27:1-2.
- 108) Sales F, Pacheco D, Blair H, Kenyon P, McCoard S (2013). Muscle free amino acid profiles are related to differences in skeletal muscle growth between single and twin ovine fetuses near term. *Springerplus*; 2:483.
- 109) Santiago-Moreno J, López-Sebastián A, Del Campo A, González-Bulnes A, Picazo R, Gómez-Brunet A (2004a). Effect of constant-release melatonin implants and prolonged exposure to a long day photoperiod on prolactin secretion and hair growth in mouflon (*Ovis gmelini musimon*). *Domestic Animal Endocrinology*; 26:303-314.
- 110) Sayer AA, Cooper C (2002). Early diet and growth: impact on ageing. *Proceedings-Nutrition Society of London* 61:79-85.
- 111) Schinckel A, Johnson RK, Pumfrey RA (1983). Testicular growth in boars of different genetic lines and its relationship to reproductive-performance. *Journal of Animal Science*; 56 (5): 1065-1076.
- 112) Schlumbohm C, Harmeyer J (2008). Twin-pregnancy increases susceptibility of ewes to hypoglycaemic- stress and pregnancy toxemia. *Research in Veterinary Science*; 84(2):286-299.
- 113) Scott PR (2012). Applications of diagnostic ultrasonography in small ruminant reproductive management. *Journal of Animal Science*; 130 (3-4): 184-186.
- 114) Sherlock RG, Kenyon PR, Morris ST, Parkinson TJ (2003). Metabolic changes in ewes shorn during mid-pregnancy. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*; 63:144-148.
- 115) Souza CE, Araújo AA, Olivera JT, Lima Souza AC, Neiva JN, Moura AA (2010). Reproductive development of Santa Inês rams during the first year of life: body and testis growth, testosterone concentrations, sperm parameters, age at puberty and seminal plasma proteins. *Reproduction in Domestic Animals*; 45(4): 644-653.
- 116) Sphor L, Banchemo G, Correa G, Osório MTM, Quintans G (2011). Early prepartum shearing increases milk production of wool sheep and the weight of the lambs at birth and weaning. *Small Ruminant Research*; 99: 44-47.
- 117) Stabenfeldt GH, Edqvist LE (1999). Procesos de la reproducción en el macho, En: Swenson MJ, Reece, WO *Fisiología de los animales domésticos de Dukes*, 5ª ed, México, Limusa, UTEHA, V2, pp 665-677.
- 118) SUL, Secretariado Uruguayo de la Lana (2013a). Disponible en: [http://www.todoelcampo.com.uy/para\\_ejercicio\\_201213\\_se\\_mantendria\\_stock\\_ovino-15?nid=6841](http://www.todoelcampo.com.uy/para_ejercicio_201213_se_mantendria_stock_ovino-15?nid=6841) fecha de consulta: 08 de Julio de 2015.
- 119) SUL, Secretariado Uruguayo de la Lana. (2013b). Razas ovinas en el Uruguay, Montevideo, Blueprint, 54p.
- 120) Symonds ME, Bryant MJ, Lomax MA (1986). The effect of shearing on the energy metabolism of the pregnant ewe. *British Journal of Nutrition*; 56(3):635-643.

- 121) Ülker H, Kanter M, Gökdağ Ö, Aygün T, Karakuş F, Sakarya ME, Reeves JJ (2005). Testicular development, ultrasonographic and histological appearance of the testis in ram lambs immunized against recombinant LHRH fusion proteins. *Animal Reproduction Science*; 86(3): 205-219.
- 122) Ungerfeld R, Fila D (2011). Testicular Fluid Content Evaluated by Ultrasound Image Computer-Assisted Analysis Increases with Small-Dose Multiple GnRH Injections in Rams. *Reproduction in Domestic Animals*; 46(4):720-723.
- 123) Ungerfeld R, Fila D (2012). Testicular Fluid Content and Scrotal Surface Temperature Increase with Rams' Sexual Activity. *Reproduction in Domestic Animals*; 47(4): 56-58.
- 124) Ungerfeld R, González-Pensado SP (2008). Social rank affects reproductive development in male lambs. *Animal Reproduction Science*; 109(1): 161-171.
- 125) Veeramachaneni DN, Ott RS, Heath EH, McEntee K, Bolt DJ, Hixon JE, (1986). Pathophysiology of small testes in beef bulls: relationship between scrotal circumference, histopathologic features of testes and epididymides, seminal characteristics, and endocrine profiles. *American Journal of Veterinary Research*; 47(9): 1988-1999.
- 126) Vipond JE, King ME, Inglis DM, Hunter EA (1987). The effect of winter shearing of housed pregnant ewes on food intake and animal performance. *Animal Production*; 45 (02): 211-221.
- 127) Vonnahme KA, Evoniuk J, Johnson ML, Borowicz PP, Luther JS, Pant D, Grazul-Bilska AT (2008). Placental vascularity and growth factor expression in singleton, twin, and triplet pregnancies in the sheep. *Endocrine*; 33(1):53-61.
- 128) Wood RI, Ebling FJ, I'Anson H, Foster DL (1991). The timing of neuroendocrine sexual maturity in the male lamb by photoperiod. *Biology of Reproduction*, 45(1): 82-88.
- 129) Wu HP, Hao Y J, Li X, Zhao Q Z, Chen DQ, Kuang XA, Wang D, (2010). B-Mode ultrasonographic evaluation of the testis in relation to serum testosterone concentration in male Yangtze finless porpoise (*Neophocaena phocaenoides asiaeorientalis*) during the breeding season. *Theriogenology*; 73(3): 383-391.