

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON ZINC SOBRE LA CALIDAD
ESPERMÁTICA Y LA FERTILIDAD DE SEMEN FRESCO Y CONGELADO EN
CARNEROS MERINO AUSTRALIANO**

“por”

Maximiliano VIGIL SOUTO

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

MODALIDAD: Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2015**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa: Dr. Alejandro Benech

Segundo miembro (Tutor): Q.F. Silvia Sterla

Tercer miembro: Dr. Luis Cal

Cuarto miembro: Dra. Zully Hernández

Fecha: 1/12/2015

Autor: Maximiliano VIGIL SOUTO

AGRADECIMIENTOS

A Facultad de Veterinaria y a todos sus profesores por transmitir sus conocimientos y experiencias, que hicieron posible el comienzo de mi formación como profesional.

A mi tutora Q.F. Silvia Sterla por la dedicación y perseverancia, y el conocimiento compartido que hicieron posible la realización de este ensayo.

Al Lic. Oscar Irabuena por impulsar y alentar a los estudiantes en la investigación, además de su colaboración en este trabajo.

Al Ing. Agr. Daniel Fernández Abella por su contribución y tiempo dedicado.

A mi amigo, el Dr. Matias Silva por su dedicación y seguimiento día a día en la elaboración de este ensayo.

A mi co-tutora Dra. Zully Hernández por su colaboración.

A la familia Bozzo – De Brum y al personal del establecimiento “Paso del Sauce”, por su contribución, amabilidad y aporte logístico.

A la Ing. Agr. (Dra) Monica Cadenazzi y a el Dr. Juan Cedano por sus aportes.

A Biblioteca y sus funcionarios por su colaboración y gentileza en la búsqueda de material y correcciones de bibliografía.

A mis amigos y todas aquellas personas que formaron parte de esta etapa.

Y en especial a mi familia que ha hecho posible mi formación profesional y personal, al brindar apoyo de manera incondicional.

TABLA DE CONTENIDO	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.....	6
RESUMEN.....	8
SUMMARY.....	9
INTRODUCCIÓN.....	10
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	13
➤ Generalidades de la reproducción ovina.....	13
▪ Ciclo estral.....	13
▪ Aparato reproductor del carnero.....	14
• Órganos del aparato reproductor masculino.....	15
• Testículos.....	15
• Epidídimo.....	16
• Conducto deferente.....	17
• Túnica vaginal y cordón espermático.....	17
• Escroto.....	17
• Glándulas anexas.....	17
• Glándulas ampollares.....	18
• Glándulas vesiculares.....	18
• Próstata.....	18
• Glándulas bulbo uretrales o de Cowper.....	18
• Pene.....	19
• Prepucio.....	19
▪ Espermatogénesis.....	19
• Control hormonal de la espermatogénesis.....	20
• Morfología del espermatozoide.....	21
• Factores que afectan la producción de semen.....	22
➤ Metodología de la inseminación.....	23
▪ Obtención por vagina artificial.....	23
▪ Obtención por electroeyaculación.....	23
➤ Evaluación del semen.....	24
▪ Evaluación macroscópica.....	24
• Color.....	24
• Volumen.....	25
• Olor.....	26
• Movilidad en masa.....	26
▪ Evaluación microscópica.....	27
• Motilidad.....	27
• Concentración.....	27
• Morfología.....	28

▪ Pruebas bioquímicas.....	28
➤ Conservación del semen fresco, enfriado y refrigerado	29
➤ Conservación de semen congelado.....	29
➤ Métodos de inseminación.....	32
▪ Inseminación vaginal o “a ciegas”	33
▪ Inseminación cervical.....	33
▪ Inseminación intrauterina.....	33
➤ Sincronización del ciclo estral.....	34
▪ Progestágenos.....	34
➤ Microminerales y reproducción.....	34
▪ Niveles de Zn en las pasturas y suelos.....	35
▪ Requerimientos de Zn por el animal.....	36
▪ Deficiencia de Zn.....	36
▪ Zn y la reproducción.....	37
▪ Zn y la espermatogénesis.....	37
▪ Niveles séricos normales de Zn en rumiantes y su determinación...38	
▪ Determinación de concentración de Zn en sangre.....	38
• Espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS).....	38
▪ Suplementación con Zn.....	38
▪ Absorción y metabolismo.....	39
▪ Formas de suplementar.....	39
• Bolos ruminales.....	39
▪ Toxicidad.....	39
HIPÓTESIS.....	39
OBJETIVOS	40
➤ Objetivo general.....	40
➤ Objetivos específicos.....	40
METODOLOGÍA.....	40
➤ Localización del ensayo	40
➤ Trabajo de campo	41
➤ Determinación del zinc en sangre	45
➤ Análisis de datos.....	45
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	45
➤ Animales.....	45
➤ Calidad seminal.....	47
➤ Ecografía.....	53
COSTO BENEFICIO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON Zn.....	57
CONCLUSIONES.....	58
BIBLIOGRAFÍA.....	59
ANEXOS.....	66
➤ Suelos CONEAT del predio.....	66
➤ Descripción de grupos de suelos CONEAT.....	67

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tablas

Tabla 1. Determinación de la concentración espermática a través del color del eyaculado.....	25
Tabla 2. Relación entre la movilidad grupal (masal) y el porcentaje de espermatozoides móviles del semen.....	26
Tabla 3. Calidad del semen según la prueba del azul de metileno.....	28
Tabla 4. Cantidad de carneros y ovejas utilizadas por método de inseminación y tratamiento.....	43
Tabla 5. Promedio de condición corporal y circunferencia escrotal para el grupo de carneros con Zn y control.....	46
Tabla 6. Promedio de condición corporal para cada grupo de ovejas al momento de inicio.....	46
Tabla 7. Movilidad masal a los 70 días post-suplementación.....	47
Tabla 8. Resultados de Zinc en sangre en el grupo de carneros control y suplementado al momento 1 y 2.....	51
Tabla 9. Composición de “Sal Bozzo”.....	52
Tabla 10. Efecto del zinc sobre la Fertilidad, prolificidad y fecundidad en inseminación cervical con semen fresco.....	54
Tabla 11. Efecto del zinc sobre la fertilidad, prolificidad y fecundidad en la inseminación intrauterina con semen congelado.....	56

Figuras:

Figura 1. Cronología de los trabajos de campo.....44

Figura 2. Volumen eyaculado promedio en cada grupo al momento 1 y 2.....48

Figura 3. Concentración eyaculado promedio en cada grupo al momento 1 y 2.....49

Figura 4. Cantidad de dosis por eyaculado promedio al momento 1 y 2.....50

Figura 5. Resultados de ecografía en la inseminación cervical con semen fresco para ambos grupos.....53

Figura 6. Resultados de ecografía de inseminación intrauterina con semen congelado-descongelado para ambos grupos.....55

Figura 7. Resultados de ecografía para ambos tipos de inseminación para grupo control y suplementado.....56

RESUMEN:

Se evaluó el efecto de la suplementación con cinc (Zn) en carneros Merino Australiano, sobre la fertilidad y preservación del semen, en la región norte del Uruguay. Para ello se colocaron bolos ruminales de ZnO de 72 g, liberando 28 mg Zn/ kg peso vivo por día, una única vez al inicio del ensayo en la mitad de los carneros preseleccionados (n=12). Las características seminales (volumen, concentración y motilidad) se evaluaron al inicio del ensayo, y pos suplementación, a los 60 días y 70 días, pre y pos congelamiento-descongelamiento y pre inseminación, respectivamente. Se congeló un pool de muestras de semen de carneros con y sin suplementación y se inseminaron por Inseminación artificial intrauterina (IAIU) dos grupos de ovejas, n=31 y n=34 respectivamente. Con pool de muestras de semen fresco de ambos grupos de carneros se inseminaron por Inseminación artificial cervical (IAC) dos grupos de ovejas, cada uno n= 35. Mediante ultrasonografía se evaluó la fertilidad, la prolificidad y la fecundidad al día 35 pos inseminación. No se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) en las concentraciones de Zn en sangre entre los animales del grupo tratado y el grupo control. Los resultados no mostraron cambios de magnitud en la motilidad masal, si pudo observarse un aumento en el volumen seminal del grupo tratado, manteniendo concentración espermática promedio, lo que significa que hubo mayor producción espermática (concentración x volumen). Esto permitió obtener casi el doble de dosis inseminantes por eyaculado en el grupo tratado frente al grupo control. No se observó diferencia ($p>0,05$) en la fertilidad en ovejas inseminadas con semen fresco (IA cervical) entre ambos grupos. Asimismo, si bien se observó mayor fertilidad en la inseminación con semen congelado (IAIU) a favor del grupo tratado frente al grupo testigo, la diferencia no fue significativa ($p>0,05$). Esto podría deberse a la capacidad del Zn para proteger y estabilizar las membranas, lo que mejoraría la congelabilidad del semen.

SUMMARY:

We evaluated the effect of Zn supplementation, in Australian Merino rams on fertility and preservation of semen. The assay was performed in the northern region of Uruguay. At the beginning of the trial, ruminal boluses of 72 g ZnO, releasing 28 mg Zn / kg body weight per day, were placed in half of the preselected rams (n = 12). The seminal characteristics (volume, concentration and motility) from both groups were evaluated, at baseline and after supplementation, at 60 and 70 days, pre and post freeze-thaw and pre insemination, respectively. A pool of semen samples from rams with and without supplementation, was frozen and two groups of sheep, n = 31 and n = 34 respectively, were inseminated by IAIU. Two groups of sheep, each n=35 were inseminated with a pool of fresh semen samples from both groups of rams by cervical IA. Fertility, prolificacy and fecundity were evaluated, by ultrasonography, at day 35 post insemination. There were not significant differences observed in Zn blood concentrations ($p>0,05$) in both groups. Results showed no change of magnitude in mass motility, but an increase in seminal volume of treated group was observed, maintaining average sperm concentration, meaning that there was a higher sperm production (concentration x volume). This allowed almost twice inseminate doses per ejaculate in the treated group versus the control group. No difference ($p> 0.05$) was observed in fertility in ewes inseminated with fresh semen (cervical IA) between the two groups. Also, while higher fertility was observed in the insemination with frozen semen (IAIU) in favor of treated group compared to the control group, the difference was not significant ($p> 0.05$). This could be due to the protective and stabilizing effect of Zn on the membranes, which would improve semen freezability.

INTRODUCCIÓN:

La ganadería en el Uruguay, y en particular la ovina, está sujeta hoy a presiones competitivas por los recursos naturales por parte de rubros que muestran rentabilidades más activas: agricultura, forestación y lechería. A su vez, dentro del sector ganadero, existe una dura competencia con los vacunos de carne.

El análisis de alternativas productivas para el rubro ovino, que lo tornen más rentable en el corto plazo, no es ya una opción sino una necesidad (DELTA, 2015). En Uruguay se registró en el periodo julio 2013- junio 2014 una caída del stock ovino del 8.4% resultado del incremento del 24% de la faena comercial (OPYPA, 2014). Entre las grandes cualidades de la producción ovina siempre se destacó su rápida capacidad de recuperación en condiciones de mercado favorable, esto lo muestra el stock ovino alcanzado en el país a partir del fuerte estímulo de los precios record del año 2011 (Salgado, 2013). Cuando las variables carne y lana evolucionan juntas y en forma favorable, se generan las mejores condiciones para el aumento de la producción ovina: crecimiento del stock, mayor producción de lana, mayor faena de corderos y mayor ingreso por exportación (Salgado, 2014).

A su vez, la llegada de los planes de uso y manejo de suelos, el regreso de las pasturas a los sistemas productivos y la necesidad de mantener los suelos esponjosos, libres de la pezuña de los pesados vacunos, es una oportunidad para que los ovinos ingrese sobre las zonas agrícolas (Blasina, 2014).

La apertura de nuevos mercados para el país, como Estados Unidos y Chile, así como la fuerte demanda del mercado chino (carne y lana respectivamente) hacen necesario que el rubro en el Uruguay esté preparado para responder a dichos mercados (OPYPA, 2013; Salgado 2014).

Si bien actualmente no se espera un aumento en la demanda de lana en los mercados internacionales, el crecimiento de la economía de Estados Unidos podría reactivar el requerimiento de prendas de vestir de lana y a mediano y largo plazo mejorar dicha demanda (OPYPA, 2014). Asimismo, las tendencias mundiales demuestran que las lanas finas y superfinas, junto a otras fibras de lujo (cashmere, alpaca y mohair), están destinadas a ocupar un nicho de mercado de productos de alta calidad y valor. Dirigidos a consumidores de alto poder adquisitivo, ubicados preferentemente en Europa y Asia, donde la expectativa es que los precios tengan mejores valores a diámetros cada vez menores (Cardellino y Trifoglio, 2003).

A finales de la década del 90, la muy escasa producción de este tipo de fibra en nuestro país, era una posible limitante para el crecimiento del complejo agroindustrial lanero en el Uruguay. La producción de lana superfina de la raza Merino surgió como una alternativa de valorización y mejora de la competitividad del rubro ovino en las regiones de Basalto y Cristalino, particularmente para aquellos productores laneros que desarrollaban sus sistemas productivos sobre suelos superficiales con escasas posibilidades de diversificación de la producción (Montossi y col., 2003).

Un claro indicador de la eficiencia reproductiva ovina en el Uruguay, es el porcentaje de señalada, el mismo se ha mantenido entre un 60-70% promedio por más de una década, lo que está mostrando una importante deficiencia a este nivel (Salgado, 2014).

La tasa de señalada depende de la fertilidad y prolificidad de las ovejas encarneradas así como de la supervivencia de los corderos nacidos, son por lo tanto estas variables las que deben incrementarse para mejorar la tasa de señalada. Esto llevaría a la mayor producción de corderos, mantener y aumentar el stock ovino, y poder cubrir las demandas de los mercados mundiales (Salgado, 2014).

Se reporta que la administración de zinc (Zn) mejora la producción espermática en borregos y contribuye al mantenimiento del cuerpo lúteo, fundamental para la ciclicidad y el desarrollo de la gestación (Forero, 2004).

Cuando se produce un aporte mineral inadecuado o en proporciones incorrectas la función reproductiva es la más afectada, lo que conlleva a su vez, una disminución de la productividad y de la rentabilidad de las explotaciones (Tedo y Casas, 2005).

Puesto que la concentración de Zn es elevada en los órganos sexuales masculinos, como próstata y testículos, y en el espermatozoide, su relevancia en la reproducción es innegable. El Zn interviene no solo en el desarrollo anatómico, sino también en la función normal de los órganos reproductivos masculinos, mejora la espermatogénesis con activa participación en la maduración de espermatozoides y en la conservación del epitelio germinativo (Cheah y Yang, 2011).

El Zn es un componente esencial tanto para machos como para hembras, los efectos significativos de la deficiencia en este mineral ocurren en casos marginales donde los signos clínicos pueden no ser expresados (McDowell y Arthington, 2005).

La deficiencia en Zn puede causar en el macho reducción de la secreción de gonadotropina hipofisaria y de andrógenos, retardo en el desarrollo de órganos primarios y secundarios, y afectar la espermatogénesis, mientras que en la hembra se observan fallas en la producción y maduración de ovocitos, en la ovulación, retardo en el inicio de la pubertad y anomalías fetales (Martin y White, 1992; Forero, 2004; McDowell y Arthington, 2005).

La información disponible en el país sobre el contenido de minerales en las pasturas es parcial y con una alta variabilidad de los valores publicados (Berretta 1998; Pigurina y col., 1998; Ungerfeld, 1998; Piaggio y Uriarte, 2005). No obstante, los microelementos como el zinc (Zn), el selenio (Se), el yodo (I) y el cobalto (Co), asociados a los balances vitamínicos, presentan un contenido marginal en nuestras pasturas

(Berretta 1998; Pigurina y col., 1998; Ungerfeld, 1998; Piaggio y Uriarte, 2005).

Niveles bajos de Zn en suelos, plantas y tejidos animales han sido reportados en diferentes regiones del mundo, se estima que forma parte de la corteza terrestre en un 0.0005- 0.02% (Alloway, 1995).

Las mezclas de sales de microelementos y de minerales para uso *ad libitum* disponibles en el mercado proporcionan cantidades insignificantes de Zn en relación al requerimiento de los rumiantes (McDowell, 2003).

La administración de Zn en bolos ruminales o en inyectables ha sido efectiva para el tratamiento o prevención de la deficiencia. También en animales en pastoreo ha sido beneficioso el uso de fertilizantes con Zn para aumentar su concentración en forrajes y granos (McDowell & Arthington, 2005).

La forma más común de suplementación es: óxido de Zn (ZnO), sulfato de Zn (ZnSO₄) grado alimentario, Zn metionina, Zn lisina. La comparación de la disponibilidad de estas fuentes de Zn según estudios de Underwood y Suttle (1999), fue: ZnSO₄> Zn Metionina> ZnO> Zn lisina.

Las necesidades mínimas sugeridas para ovejas gestantes y lactantes es la misma que para los machos, 20-30 ppm (Ungerfeld, 1998).

La dosificación sugerida en carneros para evitar carencia es 33 mg por kilo de materia seca. Niveles dietéticos de Zn en exceso de 500 ppm son necesarios para afectar en forma adversa la productividad en rumiantes (McDowell y Arthington, 2005).

En producción animal se aplican técnicas sobre el proceso reproductivo, manejándolo de acuerdo a objetivos de producción. Fundamentalmente, se emplea para multiplicar las características productivas deseables de reproductores de alto valor genético (Gibbon y Cueto, 1995).

El progreso genético es ampliamente favorecido con el uso de inseminación artificial (IA) en virtud que la descendencia por macho en un año depende del número de servicios efectivos. Mientras mediante monta natural puede obtenerse 50-100 servicios por año, mediante la IA cervical con semen fresco diluido puede llegar a 1000 servicios en 3 semanas de trabajo (Ungerfeld, 2002b).

En plantales la IA es un instrumento invaluable, ya que permite el registro inequívoco del servicio, así como el uso de carneros de referencia indispensables en los programas de selección. Esto se ve favorecido además con el uso de la preservación de semen, aumentando el impacto en las majadas distantes, o, en el caso de semen congelado, el impacto a lo largo del tiempo dentro de la misma majada (Ungerfeld, 2002b).

Los espermatozoides de carnero son sensibles a cambios de temperatura durante el proceso de congelación y descongelación, el daño resultante es un efecto combinado de diversos factores, entre ellos la calidad espermática del eyaculado (Fernández Abella, 2008). La capacidad para sobrevivir a la criopreservación es una medida exquisitamente sensible a la aptitud reproductora, ya que los espermatozoides de

algunos donantes no sobreviven a la criopreservación aunque todos sus atributos funcionales y morfológicos sean aparentemente normales (Howard y Pace, 1998).

La inseminación artificial (IA) con semen congelado, permite la posibilidad de usar carneros genéticamente superiores, y dado que estos dejan más descendencia que las hembras, se hace hincapié en la selección de estos carneros (Evans y Maxwell, 1990).

El carnero para poder utilizarlo en tecnologías reproductivas es necesario que se encuentre en óptimas condiciones fisiológicas, morfológicas y sanitarias. Para ello es necesario una previa revisión y clasificación según una correcta evaluación de aptitud reproductiva de los mismos. Un relevamiento nacional de un alto número de carneros de campo de diferentes razas, utilizados en majadas comerciales, evidenció que el 24,4%, no eran reproductivamente aptos. La utilización de altos porcentajes de machos (3 a 4%) en la encarnerada, enmascara este problema, al competir carneros fértiles con otros no aptos para la reproducción (Bonino, 2000). Se recomienda que al menos 60 días previos a la encarnerada o inseminación artificial se evalúen los carneros, y que se seleccionen los potencialmente aptos para reproducción (Montossi, 2011).

Entre las ventajas del uso de semen congelado se encuentran, el uso de un mismo reproductor en el tiempo incluso después de muerto, mayor cantidad de dosis que se pueden congelar en comparación con el uso directo del carnero; transporte de semen a grandes distancias incorporando “sangre nueva”, sin trasladar animales (Evans y Maxwell, 1990; Milczewski y col., 2000; Wulster y col., 2004). A esto se agrega que en machos de razas muy estacionales, donde la calidad de semen decae, cuando se encuentra fuera de la época de servicios, la IA con semen congelado es una alternativa para la producción de corderos fuera de estación (Ungerfeld, 2002b).

La inseminación artificial también presenta como ventaja, la posibilidad de usar semen de carneros que por alguna razón no pueden realizar la monta, ya sea por lesiones o por edad, pero que tienen suficiente valor genético como para su conservación y utilización por inseminación artificial (Evans y Maxwell, 1990; Milczewski y col., 2000).

Los reportes internacionales muestran la relevancia del Zn en ovinos, en machos y hembras, pero a nivel nacional es escasa la información existente de la utilización de la suplementación con Zn en ovinos lo cual amerita la investigación de su utilización.

Por lo anteriormente planteado, en este trabajo se investigó el efecto de la suplementación con Zn de carneros Merino Australiano, en la calidad espermática y en la fertilidad, utilizando semen fresco y congelado-descongelado de carneros con y sin suplementación, en un programa de IA cervical e intrauterina respectivamente.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA:

Generalidades de la reproducción ovina:

Ciclo estral:

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

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

Existe una coordinación entre 4 órganos: cerebro, hipófisis, ovarios y útero, comunicados a través de hormonas, principalmente hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH), hormona luteinizante (LH), hormona foliculoestimulante (FSH), estradiol, inhibina, progesterona y prostaglandina F 2 alfa (PGF2alfa). Existen otras hormonas como prolactina y andrógenos que también participan en la regulación del ciclo (Ungerfeld, 2002a).

La fase folicular comienza con la luteólisis y termina en la ovulación, dura entre 3 y 4 días, mientras que la fase luteal dura 14 días, se caracteriza por la maduración del cuerpo lúteo y niveles elevados de progesterona secretados por éste (Gibbons y Cueto, 1995).

El celo o estro es el periodo fértil durante el cual la hembra acepta la monta por parte del macho, en la raza ovina tiene una duración de 22 horas. La caída de progesterona determina que se produzca una retroalimentación positiva entre la GnRH y la LH por un lado y por otro los estrógenos. Los estrógenos determinan que se produzca rápidamente un nuevo pulso de LH, que inducirá un nuevo incremento de estrógenos. Además el estrógeno incrementa la sensibilidad de la hipófisis al GnRH y se produce una descarga masiva de LH. El pico de LH desencadena el proceso ovulatorio y además luteiniza el folículo. Los signos del estro vienen como resultado de las concentraciones elevadas de estrógeno circulante (Ungerfeld, 2002a).

Los niveles altos de progesterona causan un retrocontrol negativo sobre la frecuencia de pulsos de LH, inhiben la pulsatilidad de LH. La progesterona inhibe la secreción uterina de PFG2alfa, por lo tanto determina el momento en que se produce la luteólisis. Alrededor del día 12 del ciclo comienza la luteólisis, muerte progresiva de las células luteales acompañada de la caída de los niveles de progesterona, secretándose la hormona luteolítica PFG2 alfa en forma pulsátil por el útero (Ungerfeld, 2002a).

Aparato reproductor del carnero

El aparato reproductor del macho consiste en varios órganos individuales que actúan de manera coordinada para producir espermatozoides y depositarlos en el tracto reproductor femenino. Este mecanismo implica al sistema neuroendócrino (hipotálamo y adeno hipófisis) y al genital (Cunningham y Klein, 2009).

Órganos del aparato reproductor masculino

Este aparato está constituido por un par de gónadas, los testículos, encargados de producir gametos (espermatozoides) y hormonas; un par de conductos gonadales, constituido cada uno por un epidídimo y un conducto deferente (*ductus deferens*) que conduce a la uretra los productos exócrinos de los testículos, conjunto de glándulas accesorias que se encargan de aumentar el volumen del semen; la uretra masculina, que va desde la vejiga al extremo del pene y se encarga del pasaje de orina y semen; el pene, órgano copulativo masculino que deposita el semen en el tracto reproductor de la hembra; y adaptaciones cutáneas, escroto y prepucio, desarrolladas en relación con los testículos y el pene (Dyce y col., 1991).

Testículos

Los testículos o gónadas cumplen el doble rol: producción de espermatozoides y secreción de hormonas (andrógenos), estas son responsables de la espermatogénesis, de la manifestación de los caracteres sexuales secundarios y del comportamiento sexual o libido del carnero. Para que la espermatogénesis se desarrolle normalmente, es necesario que la temperatura testicular sea 4 – 5 °C inferior a la rectal (39 °C), (Fernández Abella, 2003). En consecuencia, aunque los testículos se desarrollan dentro del abdomen, con posterioridad migran y descienden por los canales inguinales para situarse dentro del escroto (Dyce y col., 1991). El descenso se completa en el momento del nacimiento. Posteriormente el desarrollo acompaña el crecimiento del animal ($r \geq 0,80$), no obstante cuando alcanzan el tamaño adulto las variaciones son debidas a factores ambientales, variando los pesos testiculares entre 100 y 350 g por testículo (Fernández Abella, 2003). Los testículos son unos órganos elipsoideos sólidos cuyo volumen no guarda una proporción fija con el tamaño corporal, en su eje mayor vertical. Ubicados debajo de la parte caudal del abdomen (Dyce y col., 1991). Cada uno está protegido por una túnica externa resistente, fibrosa de color blanco llamada albugínea. De esta última parten trabéculas musculares que llegan al interior de la gónada subdividiendo el parénquima en lóbulos, así mismo convergen en el centro formando el cuerpo de Highmore o mediastino el cual es más importante en el polo distal que en el proximal. El parénquima interior de estos lóbulos, está constituido por numerosos túbulos seminíferos muy contorneados y un tejido intersticial que secreta las hormonas masculinas. Los túbulos seminíferos terminan a nivel del cuerpo de Highmore en canalículos que se unen para formar el *rete-testis* o red testicular que cumple el rol de canal colector. A nivel del polo proximal del testículo, los tubos del *rete-testis* atraviesan la albugínea para comunicarse con el epidídimo por medio de una red de 12 a 15 canales eferentes. Cada testículo contiene 7.000 metros de tubos seminíferos (Fernández Abella, 2003).

La pared de los túbulos seminíferos está constituida por una membrana basal y por un epitelio germinal pluriestratificado productor de espermatozoos. En dicho epitelio encontramos las células germinales en sus distintos estados de diferenciación y las células de Sertoli que cumplen entre otras funciones la de regular y coordinar la formación y liberación de espermatozoides. Entre los túbulos se encuentra un tejido conectivo laxo que contiene vasos sanguíneos, linfáticos y nervios, y células intersticiales o de Leydig, principales secretoras de testosterona (Fernández Abella, 2003).

Epidídimo

Los epidídimos son órganos alargados y contorneados adheridos al borde posterior de cada testículo. Cada epidídimo contiene un canal o conducto muy replegado que alcanza una longitud de aproximadamente de 50 metros. Puede dividirse en tres partes: cabeza, cuerpo y cola. La cabeza es una estructura plana en forma de U, se inserta con firmeza en la cápsula testicular. Recibe los conductillos eferentes que inmediatamente o luego de cierto arrollamiento se unen para formar el conducto epididimario, más ancho. El cuerpo es una larga cuerda de difícil palpación pues se confunde con la coyuntura del escroto. La cola se inserta firmemente en el testículo por medio de un ligamento y también en la capa parietal del saco peritoneal envolvente mediante el ligamento de la cola del epidídimo. Por último la cola se afina y el conducto emerge para continuar como conducto deferente (Dyce y col., 1991; Fernández Abella, 2003).

El epidídimo cumple varias funciones, entre ellas:

Transporte espermático. Los espermatozoos se movilizan hacia el canal deferente y la uretra. El transporte se ve facilitado por la presión intra testicular, el movimiento de las cilias existentes en los canales eferentes, los movimientos peristálticos del canal del epidídimo y por las secreciones de líquido desde los túbulos seminíferos y de la red testicular. La duración del tránsito por el epidídimo es variable siendo en promedio unos 14 días (Fernández Abella, 2003).

Maduración espermática. Durante el pasaje por el epidídimo los espermatozoos sufren modificaciones morfológicas y fisiológicas que los capacita para fecundar. No obstante, deben sufrir otros procesos en el aparato reproductor femenino para poder penetrar en el óvulo (Fernández Abella, 2003).

Sobrevivencia y almacenamiento espermático. Si bien en pocos días los espermatozoides pueden atravesar el epidídimo, también pueden sobrevivir allí durante varias semanas. El epidídimo sirve de almacenamiento espermático, principalmente la

cola donde se encuentran $100 - 200 \times 10^{(9)}$ de espermatozoides que representan el 70% del contenido total a nivel del epidídimo. Estos niveles descienden durante el periodo de apareamiento o servicios, en niveles de $40-60 \times 10^{(9)}$, (Fernández Abella, 2003).

Conducto deferente

El conducto deferente es ondulado en el sitio donde emerge pero luego se endereza gradualmente al seguirlo hacia el abdomen. Su calibre es pequeño (2mm), sigue un trayecto flexuoso replegándose en la salida del epidídimo y enderezándose para formar junto con los vasos y nervios el cordón espermático. Los constituyentes del cordón se mantienen unidos en su recorrido dentro del canal inguinal, pero se dispersan en el anillo vaginal. Posteriormente los canales deferentes entran a la cavidad abdominal ubicándose paralelamente, pasan por sobre la vejiga. Su porción terminal presenta un agrandamiento fusiforme: la ampolla. Siendo cubiertos posteriormente por las vesículas seminales (Dyce y col., 199; Fernández Abella, 2003).

Túnica vaginal y cordón espermático

El proceso peritoneal (túnica vaginal) que envuelve al testículo es una evaginación del revestimiento del abdomen a través del canal inguinal (Dyce y col., 1991).

El cordón espermático consiste en su mayor parte en la arteria y las venas testiculares.

Escroto

La piel escrotal está adherida a una fuerte capa fibromuscular (túnica dartos) que también se extienden como tabique entre los compartimentos que alojan a los testículos por separado. Por dentro del dartos hay una fascia (espermática) que puede resolverse en varias capas que concordarían con las capas de la pared abdominal. La capa más predominante es la fascia espermática externa. La densa fascia espermática que sostiene a la túnica vaginal también rodea al cremáster, rienda de músculo que entra en el cordón luego de desprenderse del margen caudal del músculo oblicuo interno del abdomen. El escroto, junto con el músculo cremaster y el plexo pampiniforme, juegan un rol importante en la termorregulación (Dyce y col., 1991).

Glándulas anexas

El juego completo comprende las glándulas ampollares, vesiculares, próstata y bulbo uretrales. Las glándulas anexas o accesorias vierten sus secreciones hacia la uretra en el momento de la eyaculación mezclándose con los espermatozoides y secreciones localizadas en las ampollas (Dyce y col., 1991; Fernández Abella, 2003).

Glándulas ampollares

Se forman por incrementos del diámetro de los canales deferentes. Estas presentan un largo de 7-9 centímetros y un ancho de unos 0,6 centímetros, siendo sus paredes ricas en glándulas tubulares. Las ampollares pasan luego por debajo del cuerpo de la próstata terminando en la uretra, en el canalículo terminal muy cerca de la salida de las vesículas seminales (Fernández Abella, 2003).

Glándulas vesiculares

Son nudosas y de paredes gruesas, con una luz bastante estrecha y ramificada (Dyce y col., 1991).

Son glándulas pares de unos 4 centímetros de longitud y unos 2 centímetros de ancho, que secretan un líquido opaco viscoso, rico en proteínas, sales de potasio, ácido cítrico y fructosa, de color amarillento que puede llegar a constituir el 50% del volumen (Fernández Abella, 2003).

Próstata

Posee una estructura tubular ramificada. En el carnero es muy primitiva, siendo su contribución en el eyaculado muy pequeña (sales y enzimas), (Fernández Abella, 2003). Produce una proteína conjugada llamada antiaglutinina cefálica que previene la aglutinación de los espermatozoides (García Sacristán y col., 1995). Tiene una actividad buffer, al producir una secreción alcalina para aumentar el pH del eyaculado.

Si bien en algunas especies las prostaglandinas del semen son compuestos originados de la próstata, en el carnero su origen es principalmente en las vesículas seminales (Hafez, 1986).

Glándulas bulbo uretrales o de Cowper

En forma de avellana de pequeño tamaño (1,5 cm de largo por 1 cm de ancho) producen un líquido viscoso claro de pH alcalino, que permite limpiar la uretra (Fernández Abella, 2003).

Pene

El pene está situado debajo del tronco y se halla contenido en parte entre los muslos. En reposo su extremo libre se halla oculto dentro de una invaginación de la piel abdominal, el prepucio (Dyce y col., 1991). Presenta una longitud de 40 centímetros pudiendo dividirse en tres partes: la raíz, el cuerpo y el glande. Es de naturaleza fibroelástica en el carnero. La raíz está unida a la pelvis por dos ramas laterales que se prolongan formando las bandas laterales del cuerpo del pene. Estas y una tercera banda central se unen para formar el cuerpo cavernoso. La banda central llamada también cuerpo esponjoso rodea la uretra. Los dos músculos retractores del pene, que controlan la longitud de la salida del pene (aproximadamente 5 cm) mediante su acción sobre la flexura sigmoidea están insertos sobre las vértebras sacras. El glande es la parte terminal del pene, donde desemboca la uretra a nivel del surco superficial ventral del cuerpo cavernoso. La uretra presenta una prolongación rizada de 3 a 4 centímetros denominada proceso uretral o apéndice vermiforme. Este apéndice actúa como látigo impulsando el semen contra el cuello del útero. La ausencia por extirpación no afecta la fertilidad (Fernández Abella, 2003).

Prepucio

El prepucio es una invaginación de la piel de 10 a 12 centímetros de largo. Consta de una capa parietal que se continúa con el tegumento general a la entrada de la cavidad y una capa visceral que esta aplicada directamente sobre la porción distal del pene. Su abertura está controlada por un músculo estriado, que puede presentar úlceras, lesiones o infecciones (postitis) que dificulta o impiden la salida del pene (Dyce y col., 1991; Fernández Abella, 2003).

Espermatogénesis

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

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

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

La espermatocitogénesis cumple con dos funciones importantes: la primera, la división mitótica de espermatogonias tipo A, produciendo espermatogonias que no entran al ciclo del espermatozoide manteniendo la población de células indiferenciadas. La

segunda función es transformar las espermatogonias tipo A a tipo B, que más tarde se dividen por mitosis para producir espermatocitos primarios. Estos experimentan un proceso de meiosis final para producir espermatozoides (Cunningham y Klein, 2009).

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

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

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

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

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

Control hormonal de la espermatogénesis:

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

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

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

La principal función de la célula de Leydig es la producción de testosterona, la producción de esta hormona está controlada por la LH, cuando la concentración de LH aumenta provoca un aumento de la testosteronemia. A su vez se inhibe la secreción de LH por un sistema de retroalimentación negativa provocado por el aumento de la testosterona, lo que provoca a su vez una disminución en la síntesis de la misma (Ungerfeld, 2002a).

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

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

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

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

Morfología del espermatozoide:

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

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

La cola del espermatozoide es un flagelo con auto-alimentación (Senger, 2003). El flagelo puede ser dividido en cuatro regiones, cuello, media, principal y terminal. En el centro de toda la extensión del flagelo está el axonema, formado por 9 pares de microtúbulos radialmente organizados alrededor de dos filamentos centrales (Ungerfeld,

2002a). La cabeza y la cola se conectan mediante el capitulum y las columnas segmentadas (Ungerfeld, 2002a). La pieza media contiene las mitocondrias helicoidalmente ordenadas en torno al axonema (Ungerfeld, 2002a). El annulus delimita la unión entre la pieza media y la pieza principal. La pieza principal constituye la mayor parte de la cola y continúa casi hasta el final del flagelo donde le continúa la pieza terminal, la cual es corta y donde terminan los micro túbulos (Senger, 2003).

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

Factores que afectan la producción de semen:

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

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

El fotoperiodo tiene influencia en la calidad del semen. El peso testicular de los ovinos evoluciona en sentido inverso a la duración de las horas luz. Las altas temperaturas actúan directamente sobre el testículo, alterando la producción, la maduración y el almacenamiento del semen. Todos los factores que incrementen la temperatura corporal por encima de los valores normales ponen en riesgo el buen funcionamiento de la espermatogénesis (Fernández Abella, 2003).

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

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

Metodología de inseminación artificial:

La inseminación artificial es un método de reproducción en el que se obtiene el semen del macho para introducirlo posteriormente en el sistema genital de la hembra. En este sistema no existe contacto directo entre el macho y la hembra. Incrementa notablemente el aprovechamiento de un reproductor, al permitir obtener un gran número de crías del mismo padre. Esto es posible debido a que mediante un adecuado fraccionamiento del semen, se obtiene un número importante de dosis por eyaculado (Gibbons y Cueto, 1995; Elhordoy, 1998).

Obtención de semen:

Dos métodos son usados para colectar el semen, la vagina artificial y el electroeyaculador.

Obtención por vagina artificial

La vagina artificial es una imitación de la vagina de la oveja que proporciona el estímulo térmico (temperatura) y mecánico (presión). El carnero eyacula previo desviación del pene con la mano derecha que penetra en la vagina artificial. Para obtener semen de mejor calidad se recomienda que el carnero no eyacule inmediatamente de montar, sino dejarlo montar sin que eyacule para que aumente su libido (falsas montas), (Elhordoy, 1998; Fernández Abella, 2015).

Una vez asegurada la oveja en el cepo, el operador se ubica en el lado derecho del macho, de modo que su mano diestra sujete la vagina con el extremo abierto frente al prepucio en un ángulo de 45° con respecto al piso. Cuando el macho monta, el pene se desvía lateralmente para ser enfrentado a la vagina artificial. Al observar “un golpe” del animal hacia arriba y hacia adelante indica que la eyaculación a ocurrido (Gibbons y Cueto, 1995).

Obtención por electroeyaculación

Resulta útil cuando hay carneros a los cuales no se puede o no se quiere efectuar la recolección mediante vagina artificial. Es importante la aplicación de este método en animales con impotencia *coeundi*, cualquiera sea su causa, siempre que no sean hereditarias (Bonadonna, 1989).

Mediante el empleo de un electrodo bipolar a través del recto, se realizan descargas eléctricas (6 a 12 voltios y una cantidad aproximada de 100 a 150 miliamperios) con una duración de 6 a 8 segundos cada una y un descanso de 15 a 20 (Ungerfeld, 2002b). Se obtiene un eyaculado de mayor volumen, por estimulación de las glándulas accesorias (Fernández Abella, 2015).

Evaluación del semen

Luego de la recolección, es importante que en todo momento, el semen se mantenga protegido de los cambios bruscos de temperatura, contacto con el agua y metales, radiación solar directa, e impurezas. Por lo tanto todo el material que entre en contacto con el eyaculado deberá ser vidrio o plástico estéril y seco. Y a la misma temperatura del semen (Gibbons y Cueto, 1995).

Evaluación macroscópica

La evaluación no determina el grado de fertilidad, simplemente nos indica el estado de la muestra o eyaculado al momento de su colección (Elhordoy, 1998). Además provee información imprescindible para su uso en inseminación artificial. Los parámetros a evaluar son:

-Color

El color del semen se observa en primer término, debiendo el mismo ser blanco-lechoso o cremoso pálido, según la concentración de espermatozoides, Tabla 1, (Fernández Abella, 2003). El color rojizo indica presencia de sangre, así como los colores grises o marrones indican contaminación o infección, debiéndose en estos casos desechar el eyaculado o proceder a la revisión del macho (Gibbons y Cueto, 1995). La presencia de partículas, puede provenir del polvo del ambiente o de la suciedad de la lana entorno al prepucio (Ungerfeld, 2002b).

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

TONALIDAD	MILLONES /mL
Crema muy oscuro	4 000
Crema oscuro	2 800
Crema	2 000
Crema claro	1 600
Lechoso	1 000
Lechoso claro	500
Nublado	100
Claro	Insignificante

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

-Volumen

Se determina usando una copa o tubo recolector graduado, lo cual permite la determinación del volumen en el mismo momento de la colecta. La excitación previa del carnero, su estado sanitario y nutricional, la edad, la época del año (máximo en otoño), la habilidad del recolector y el número de eyaculados por día, influyen en este parámetro, (Fernández Abella, 2015). El volumen esperado oscila entre 0.5 y 2.0 mL o 0.5 y 0.7 mL en animales maduros y jóvenes respectivamente (Hafez, 1996; Ungerfeld, 2002b).

-Olor

El semen debe de ser inodoro, si presenta olor, puede ser causado por infección o contaminación por orina (Fernández Abella, 2015).

-Movilidad en masa

Se observa a simple vista como ondas o torbellinos de color más intenso. Depende de la concentración, de la motilidad individual y del porcentaje de células vivas. Así, ondas espesas y vigorosas indican una concentración alta y una buena motilidad; ondas livianas y muy rápidas sugieren menor concentración (Ungerfeld, 2002b).

La movilidad se estima por el vigor del movimiento de las ondas en una escala subjetiva entre 0 y 5 (0, mínimo; 5, máximo), Tabla 2, para poder acceder a congelamiento de un eyaculado, su motilidad masal debe de ser mayor que 3 (Gibbons y Cueto, 1995)

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

GRADO	MOVILIDAD MASAL (MACROSCOPICA)	MOVILIDAD MASAL (MICROSCOPICA)
0	Sin corrientes	Sin movimiento progresivo
1	Pocas corrientes	20% de movimiento progresivo
2	Muchas corrientes	40% de movimiento progresivo
3	Muchas corrientes moderadas	60% de movimiento progresivo
4	Muchas corrientes rápidas	80% de movimiento progresivo
5	Numerosas ondas de tipo tumultuoso rápidas y vigorosas	Casi 100% de movimiento progresivo

Fuente: Fernández Abella 2003.

Evaluación microscópica

-Motilidad

Se entiende por motilidad al desplazamiento del espermatozoide, el cual puede ser:

- Progresivo o rectilíneo, cuando el espermatozoide se proyecta hacia delante.
- De retroceso o zigzagueante, el avance sigue un recorrido vacilante con frecuentes curvas, muchas veces se dirige hacia atrás por anomalías de cola.
- Oscilatorio, el espermatozoide gira sin avanzar con movimientos reducidos hacia ambos lados, este movimiento antecede a la inmovilización completa.
- Vibratorio, presenta simples movimientos vibratorios describiendo círculos (Fernández Abella, 2015).

Este parámetro se determina en microscopio, preferiblemente con platina térmica que mantenga la muestra a temperatura fisiológica de 35 a 37°C o mantener el semen en estufa a dicho rango y calentar el porta objeto al momento de colocar la muestra en el microscopio. Un movimiento progresivo o normal es el que determina una velocidad de 3 a 8 mm/ hora, la que permite al espermatozoide lograr llegar al óvulo y fecundar, por esto interesa que en el eyaculado se cuente con un alto número de espermatozoides con esta movilidad (Fernández Abella, 2015). Moule (1961) indica una alta correlación entre movilidad masal y movimiento progresivo.

-Concentración

La concentración es el número de espermatozoides por unidad de volumen, generalmente se expresa en millones por mL. La concentración normal de carneros varía de 3.5×10^9 a 6.0×10^9 espermatozoides (spz) /mL, (Evans y Maxwell, 1990).

Su determinación puede ser exacta o estimativa, la primera es fundamental para realizar la dilución de la muestra la cual se utilizará en IA. A su vez dicha determinación puede realizarse en forma manual en un hemocitómetro (Neubauer, Thoma o Makler) o en equipo automatizado (CASA), o en fotocolorímetro (Fernández Abella, 2015).

La consistencia del semen es la relación entre sus dos componentes: espermatozoides y plasma seminal, muestras con alta consistencia contienen mayor número de espermatozoides que las más finas o acuosas. La observación de la consistencia es una forma rápida de estimar concentración (Evans y Maxwell, 1990).

La determinación manual o automatizada en hemocitómetro se basa en colocar la muestra en cámaras de volumen conocido y diluyendo la muestra en suero fisiológico o solución de Harem. La forma de carga y conteo depende de cada hemocitómetro y lo realiza el operador o un sistema de captura de imágenes que procesa mediante un software adecuado a la especie, (Evans y Maxwell, 1990; Fernández Abella, 2015).

La determinación de la concentración en fotocolorímetro se basa en que el pasaje de luz a través de la muestra es inversamente proporcional a la misma. El equipo debe ser calibrado utilizando muestras de diferentes concentraciones y 10 a 15 determinaciones en hemocitómetro y realizar una curva de calibración para el mismo, (Evans y Maxwell, 1990; Fernández Abella, 2015).

Es un parámetro sumamente importante ya que junto con el volumen del eyaculado determinan la cantidad de dosis inseminantes obtenidas por muestra de semen y por lo tanto el número de hembras a inseminar (Evans y Maxwell, 1990).

-Morfología

El examen morfológico del semen es una prueba de control de calidad, cada eyaculado contiene una serie de espermatozoides anormales, pero si la proporción de éstos es muy alta entonces nos encontramos ante un semen de baja fertilidad (Evans y Maxwell, 1990). Muestras de semen, que presenten más del 20% formas anormales deberían descartarse, aunque esto dependerá del tipo de anomalías predominantes ya que las de flagelo correlacionan menos con la fertilidad del semen, (Fernández Abella, 2015).

Pruebas bioquímicas

Reducción del azul de metileno o prueba deshidrogenante: se basa en que los espermatozoides consumen la fructosa (azúcar del semen) transformándola en ácido láctico. Posteriormente este produce anhídrido carbónico, agua y libera hidrógeno. A mayor actividad de los espermatozoides (mayor cantidad de vivos, menos formas anormales) mayor liberación de hidrógeno, el cual reacciona con el azul de metileno que cambia de color. La prueba consiste en medir el tiempo que tarda la mezcla en virar del color azul al blanco, Tabla 3, (Fernández Abella, 2003).

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

TIEMPOS (MINUTOS)	CALIDAD DE SEMEN
0 - 1	Excelente
1 - 2	Muy buena
2 - 3	Bueno
3 - 5	Regular (muy dudoso)
Más de 5	Malo

Fuente: Fernández Abella, 1995.

Conservación del semen fresco, enfriado y refrigerado

El uso de semen fresco en IA permite incrementar fácilmente el número de hembras inseminadas por cada eyaculación obtenida, manteniendo al mismo tiempo una elevada tasa de concepción (Ungerfeld, 2002b). El mismo debe utilizarse lo más rápidamente posible, manteniéndolo a temperatura ambiente siempre que no sea menor a 20° C o superior a 30° C, en un periodo máximo de 2 horas pos obtención (Fernández Abella, 2003). Para un almacenamiento de 8 a 12 horas debemos recurrir a la dilución del mismo, conservándolo entre 10 y 15° C (Fernández Abella, 2003). El semen refrigerado, podrá conservarse por el transcurso de 24 horas a 5° C (Gibbons y Cueto, 1995). El agregado de un diluyente permite aumentar el volumen de cada dosis y reducir el número de espermatozoides por dosis. Los diluyentes para semen fresco, enfriado o refrigerado pueden ser sintéticos en base a tris o citrato, glucosa o fructosa y yema de huevo, o naturales en base a leche descremada en polvo (Gibbons y Cueto, 1995). Cuando se va a inseminar inmediatamente se puede utilizar leche larga vida (U.H.T) sin necesidad de baño maría y el agregado de antibiótico (Fernández Abella, 2003).

Conservación de semen congelado

La aplicación de programas de IA está profundamente asociada al desarrollo de técnicas de preservación de semen. De este modo la IA se ha visto impulsada con el desarrollo de dichas técnicas, particularmente la congelación de semen, preservación a largo plazo (Ungerfeld, 2002b).

Al criopreservar semen se deben mantener requerimientos y propiedades de los espermatozoides:

- Metabolismo para la producción de energía para mantener sus funciones.
- Mantener viables las proteínas necesarias para la supervivencia en el aparato reproductor femenino y para la adhesión al ovocito en la fertilización.
- Enzimas acrosomales necesarias para la penetración del ovocito.
- Capacidad de movimientos progresivos (Palacios, 1994).

“Shock térmico” es el término que describe la respuesta de estrés con que responde el espermatozoide a una disminución de temperatura. El daño espermático que resulta de un choque térmico va a depender no solo de la baja de temperatura sino también de la velocidad con que esta ocurra. Se ha establecido que cada tipo celular posee una velocidad optima de congelación que garantiza su supervivencia luego de la criopreservación, si la velocidad de congelación es demasiado rápida o demasiado

lenta el estrés producido por el proceso de criopreservación aumenta (Stornelli y col., 2005).

Está comprobado que al reducir la temperatura por debajo de los 20°C el espermatozoide comienza a presentar cambios biofísicos, principalmente en la membrana plasmática, pero no es sino cuando se somete a temperaturas entre los 0°C y los -20°C, o hasta los -60°C, que el espermatozoide sufre efectos de descompensación iónica y de líquidos suficientemente graves para causar un shock térmico. Esto se puede detectar al microscopio por la presencia de espermatozoides con la cola doblada, con pérdida de motilidad por la disminución de energía, o realizando movimientos en círculo, lo cual se debe al aumento de la permeabilidad de la membrana plasmática y a la salida de iones y moléculas (Palacios, 1994). En términos generales, los daños que sufre el espermatozoide durante los procesos de criopreservación son principalmente físico-químicos; debido al estrés osmótico que sufre la célula al deshidratarse, la distorsión de la membrana y a la formación de cristales de hielo (Palacios, 1994).

El llevar una célula al estado de congelación implica dos etapas:

1) pasaje de temperatura corporal a temperaturas ligeramente superiores a su punto de congelación (0-4° C).

2) Pasaje de esta temperatura hasta diferentes temperaturas por debajo de 0° C.

En la primera el agua intracelular pasa de un estado líquido a uno “tipo gel” (viscoso) llamándose a este proceso cambio de fase. Este cambio interrumpiría la actividad enzimática y con ello el metabolismo produciendo daños que pueden ser o no reversibles. Este proceso de alteración se inicia a temperaturas de 12-13° C en semen puro y de 20 a 25° C en semen diluido.

El cambio de fase trae como consecuencia un aumento de la viscosidad del líquido de las membranas. La membrana celular ve alterado su “estado de estabilidad” al disminuir la temperatura, debiendo adquirir otro nuevo estado en cada temperatura. De no existir tiempo para la readaptación por ser muy rápida la velocidad de enfriamiento, la estabilidad de la membrana será inferior, agravándose esto en las temperaturas más bajas.

En un espermatozoide sin protección se formará hielo intra y extracelular si se enfría a temperaturas bajo cero. El hielo crece sin control formando grandes cristales de hielo intracelular que acaban destruyendo la célula. El daño se produce por dos mecanismos: por la acción de “arado” que ejerce el hielo en crecimiento y por el daño osmótico que causa la acumulación de sales y otros solutos que se originan al irse fijando las moléculas de agua a los núcleos de hielo (Ortega, 2008). Estos cristales de agua pura se comienzan a formar por debajo de -5°C, y por el mismo fenómeno de cristalización todos los solutos quedan separados del cristal, aumentando así la concentración de sales en la porción de agua que aún no se congela (agua pre-congelada). El término pre congelamiento define al momento umbral antes de que una célula o su ambiente

sea congelado (Palacios, 1994). Este fenómeno lleva a un aumento en la presión osmótica, y al ser el agua dentro del espermatozoide más lenta en formar cristales que el agua fuera de este, ocurre una salida de agua al medio extracelular por gradiente osmótico, a través de la membrana plasmática. Como resultado de esto el espermatozoide se deshidrata. La proporción de agua cristalizada como hielo y por lo tanto la presión osmótica de la solución restante depende de: la temperatura, la velocidad de descenso de la misma y el volumen de la fracción no congelada (Stornelli y col., 2005). Por tanto las condiciones hipertónicas a las que sometemos al espermatozoide durante la congelación originan una pérdida osmótica de agua que dependerá de la curva de congelación.

Por otro lado, el proceso de congelación da lugar también a cambios de fase en la membrana celular y pueden alterar receptores de membrana y/u otras proteínas interfiriendo en su capacidad de reconocimiento, de transporte de agua e iones a través de los canales o poros de membrana (Ortega, 2008). Cuando los espermatozoides están alterados, los iones Na^+ y Ca^{++} que entran a las células espermáticas son retirados por medio de transporte activo. A 5°C la permeabilidad al Ca^{++} crece significativamente, superando la capacidad de eliminación de los iones por medio de las bombas de Ca^{++} . Así, el Ca^{++} se acumula en el espermatozoide alcanzando niveles tóxicos (Palma, 2001). Este daño se manifiesta en una disminución de la motilidad espermática, y posiblemente afectando la morfología del acrosoma. Se postula que el acrosoma sufre más con estas alteraciones, una pérdida mayor de capacidad fecundante de la que sería esperada por la reducción de la motilidad (Palma, 2001).

La cristalización o formación de hielo intracelular origina problemas mecánicos, determinando que el contenido celular se expanda dañando las estructuras celulares y provocando la muerte del espermatozoide.

La deshidratación se produce por consecuencia del congelamiento del medio extracelular, lo cual por diferencia de presiones induce la salida del agua celular. Esto lleva a un aumento de electrolitos variando el equilibrio de los mismos, con descenso del pH lo que contribuye a la precipitación de las proteínas celulares. Se produce la desnaturalización de las proteínas protoplasmáticas al desdoblarse los puentes disulfuros que al descongelarse el semen son destruidos. Los daños más importantes son a nivel de las proteínas citoplasmáticas, sobre todo las del acrosoma y lesiones secundarias a nivel de las fibrillas de la pieza media por acumulación de calcio. La velocidad de enfriamiento en la congelación y descongelación es de fundamental importancia en la magnitud de los daños. Si la congelación es lenta, provoca un mayor período de acción de las altas concentraciones de sales intracelulares, favoreciendo la deshidratación. La congelación muy rápida determina la pérdida de permeabilidad de la membrana celular en breve lapso, incrementando la cristalización intracelular. Para prevenir parcialmente los daños producidos en los espermatozoide en el congelamiento se utiliza una combinación de factores, control de la velocidad de congelamiento, uso de diluyente de semen adecuado y agregado de agentes crioprotectores (permeantes y

no permeantes), (Salamon y Maxwell, 2000). Los crioprotectores permeantes son sustancias que por su bajo peso molecular pueden atravesar la membrana plasmática, donde tienen la función de evitar la formación intracelular de cristales de hielo, así como evitar la excesiva deshidratación causada por la congelación lenta (Medeiros y col., 2002). Entre los más utilizados está el glicerol y el etilenglicol, siendo el primero el que ha mostrado mejores resultados en estudios de criopreservación de semen ovino en relación a la motilidad progresiva post-descongelamiento (Salamon y Maxwell, 2000). Por otro lado, los crioprotectores no permeantes son sustancias que por su alto peso molecular resultan útiles cuando se aplican velocidades rápidas de congelación, ya que la acción crioprotectora está asociada con su actividad deshidratante y su interacción específica con la membrana fosfolipídica (Aisen y col., 2000). Éstos suelen usarse en asociación con los agentes crioprotectores permeantes. Los crioprotectores no permeantes más utilizados para la congelación de semen de diferentes especies son la sacarosa y lactosa, (Molinia y col., 1994b; Aisen y col., 2000). El glicerol se une a moléculas de agua y provoca un descenso del punto de congelamiento aumentando la viscosidad (propiedad coligativa), lo cual retarda la formación de hielo (prolongando la fase líquida) y la rápida concentración de solutos, reduce la deshidratación debido a la formación de puentes de H entre el agua y el glicerol. Tiene acción crioprotectora especialmente en la fase de cristalización (-12 a -15° C), suele presentar un efecto negativo sobre la membrana del acrosoma, por ello se utiliza en bajos porcentajes. A mayores temperaturas penetra más rápidamente en la célula. Por ello según el momento de aplicación (30°C o 4°C) variará el porcentaje utilizado y la velocidad de congelación. Las congelaciones rápida han dado mejores resultados que las lentas, particularmente entre -15 a -50°C por situarse en ese intervalo las mayores lesiones del espermatozoide. Aproximadamente a los cincuenta grados bajo cero (fase líquido ausente) se terminan los perjuicios debidos a la presión osmótica. Agregando yema de huevo junto con el glicerol reducimos el efecto negativos sobre la membrana del acrosoma (Fernández Abella, 2003).

Se puede congelar el semen con equipos automáticos de congelación, que permiten la programación de la curva de descenso de temperatura. Si no se dispone de dichos equipos se puede congelar colocando las dosis en vapores de nitrógeno líquido, regulando la temperatura según la distancia con el mismo, luego de unos minutos se sumergen las pajuelas en el líquido y finalmente se almacenan en termos que mantienen las muestras a -196 ° C (Ungerfeld, 2002b).

Métodos de inseminación

Inseminación vaginal o “a ciegas”

El semen se deposita en la cavidad vaginal requiriéndose gran cantidad de espermatozoides siendo el método utilizado en aquellos casos donde no es posible la introducción de la cánula en el cérvix, se utilizan dosis dos o tres veces mayores para incrementar la posibilidad de fecundación (Fernández Abella, 2003). Este método desvirtúa uno de los

principales fines de la IA o sea el uso más eficiente del espermatozoides eyaculado (Fernández Abella, 2015).

Inseminación cervical

En los ovinos la inseminación se realiza cervical superficial, depositando el semen en el segmento más próximo a la vagina. Esto se debe a la complejidad del cuello del útero en la oveja, que permite solamente la introducción de la cánula hasta 0,5 a 1,0 cm. La complejidad del cérvix de la oveja aumenta con la edad de la misma por pliegues que se forman en la membrana de la mucosa de la pared vaginal. Estos, están asociados a traumas ocurridos durante el parto, lo cual hace que sea más dificultoso encontrar el orificio del cuello del útero en ovejas adultas (Fernández Abella, 2015).

La técnica del método cervical consiste en introducir el vaginoscopio con una mano, localizando el cuello del útero, mientras que con la otra se introduce la pistola dosificadora (multidosis) dentro del vaginoscopio y con ayuda del mismo se retira el mucus exterior para facilitar la observación del orificio. Una vez localizado el mismo, se introduce la cánula hasta hacer tope, y antes de depositar se retira unos milímetros para facilitar la salida del espermatozoides. Se retira el vaginoscopio unos centímetros para evitar que el contacto del mismo sobre la pared de la vagina determine que el semen fluya hacia esta, lográndose con esta operación el plegamiento vaginal. Luego de depositar la dosis de semen (100 millones) se retira la pistola y el vaginoscopio a la vez (Evans y Maxwell, 1990). La dosis con semen fresco no debe ser menor a 60 millones para no perder fertilidad (Fernández Abella, 2015). Una vez obtenida la muestra se puede estimar la concentración utilizando Tabla 1, o se determina en hemocitómetro manual o en equipo automatizado o en fotocolorímetro (Fernández Abella, 2015). Si la concentración es muy elevada se debe diluir el semen para utilizar volúmenes adecuados, a menor volumen mayor error. Al diluir se debe tener cuidado de mantener la dosis de espermatozoides totales. El volumen se regula con el número de rulos en la pistola de inseminación (Evans y Maxwell, 1990). El volumen de la dosis no debe ser mayor a 0.06cc (6 rulos), cuando el mismo sea mayor se debe dividir la dosis en 2 o 3 pistolazos (Fernández Abella, 2015).

Si se utiliza la vía cervical con semen congelado, se requieren dosis superiores a 120 millones teniendo en cuenta la pérdida de espermatozoides en el proceso de congelado descongelado, lo que hace que no se utilice con frecuencia (Fernández Abella, 2015).

Inseminación intrauterina

El semen se introduce en el cuerpo del útero, manteniéndose la capacidad fertilizante por 18-35 horas utilizando menor cantidad de espermatozoides. De las tres posibles técnicas, quirúrgica (laparotomía), intracervical y endoscópica (laparoscopia), ésta última es la más utilizada, con la cual se alcanzan resultados iguales o superiores a los obtenidos con el método cervical. Las técnicas intrauterinas utilizan 20 a 50 millones de

espermias con semen fresco y 50 a 100 millones con semen congelado, lo cual significa una enorme economía si comparamos con las cantidades necesarias por vía cervical. Tiene la desventaja del costo del equipo y la especialización necesaria de la persona que utiliza el laparoscopio (Fernández Abella, 2015).

Sincronización del ciclo estral:

Los métodos de sincronización del ciclo estral constituyen una herramienta de gran utilidad en los programas de inseminación, ya que facilitan el manejo de los animales al evitarse el encierre diario para la detección de celos naturales (Gibbons y col., 1993).

Se han utilizado distintas técnicas para la sincronización de celo en los pequeños rumiantes. Una técnica de sincronización de celos efectiva debe inducir una respuesta estral fértil y altamente sincronizada en un porcentaje importante de las hembras tratadas. Los métodos artificiales más usados se basan en el uso de dispositivos intravaginales con progestágenos y la utilización de prostaglandinas sintéticas (Ungerfeld, 2002b).

Progestágenos:

La técnica se basa en la colocación de pesarios intravaginales conteniendo progesterona o alguna otra progestina durante varios días, de forma de inhibir la actividad del eje hipotálamo-hipofisario, retirándolos en forma simultánea. De esta manera se levanta el mecanismo inhibitor en todas las hembras en forma simultánea, sincronizándose el comienzo de la fase folicular, lo que concluirá en estro y ovulación (Ungerfeld, 2002b). El dispositivo se coloca en la vagina de la hembra por 12-14 días (Gibbons y col., 1993).

Se aconseja la combinación de los progestágenos con gonadotrofina coriónica equina (PMSG). Se debe aplicar esta gonadotrofina por inyección intramuscular al momento de retirar las esponjas, esto provoca un pico importante de estrógenos, induciendo la aparición de un pico pre ovulatorio de LH y la ovulación (Gibbons y col., 1993).

En primavera se administra GnRH 35 horas después de retirar las esponjas, método clásico de sincronización de celos, el cual permite mejorar la fecundidad obtenida en inseminación artificial intrauterina (IAIU), (Fernández Abella y col., 2003). La mayoría de las ovejas presenta la ovulación alrededor de las 60 horas post retiro de las esponjas (Gibbons y col., 1993).

Microminerales y reproducción:

Dentro de la gran cantidad de minerales que contiene el organismo solo 15 se han demostrado esenciales para el ganado ovino (NRC, 1985), considerándose como esenciales aquellos minerales que poseen actividad metabólica (McDonald y col.,

2002a). Se los puede dividir en macrominerales: calcio, fósforo, potasio, sodio, cloro, magnesio y azufre; y en microminerales o elementos trazas: hierro, yodo, cobre, cobalto, magnesio, zinc, molibdeno y selenio (Ammerman y Goodrich, 1983; NRC, 1985).

La información disponible en el país sobre el contenido de minerales en las pasturas es parcial y con una alta variabilidad de los valores publicados (Berretta 1998; Pigurina y col., 1998; Ungerfeld, 1998; Piaggio y Uriarte, 2005). No obstante, los microelementos como Zn, Se, I y Co, asociados a los balances vitamínicos, presentan un contenido marginal en nuestras pasturas (Berretta 1998; Pigurina y col., 1998; Ungerfeld, 1998; Piaggio y Uriarte, 2005).

El contenido de microelementos en el suelo y su disponibilidad para las plantas, determinarán la concentración sanguínea del mineral en animales a pastoreo.

Cuando se produce un aporte mineral inadecuado o en proporciones incorrectas la función reproductiva es la más afectada, lo que conlleva a su vez, una disminución de la productividad y de la rentabilidad de las explotaciones (Tedó y Casas, 2005).

Niveles de Zn en las pasturas y suelos

En general se asume que las leguminosas tienen mayores concentraciones que las gramíneas, y que a medida que las plantas maduran, decrece su contenido en Zn, (Pechin, 1999). Según Undergood (1981) revelaron que el contenido de Zn para las leguminosas era entre 20 y 60 ppm y para las gramíneas entre 10 a 30 ppm.

Estudios comparativos entre diferentes especies de pasturas naturales presentes en Uruguay, realizados por el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), revelaron que aunque las diferencias no eran significativas las gramíneas tienden a tener un contenido de Zn ligeramente menor que las leguminosas y otras especies. Sin embargo no encontraron diferencias entre especies de pasturas naturales estivales e invernales en cuanto a su contenido de Zn. El contenido de Zn en pasturas naturales uruguayas es de 24.2 ppm en la materia seca (MS), (Ungerfeld, 1998).

La evidencia existente indica que la concentración de minerales en el forraje cambia con el tipo de suelo y la contaminación, con las prácticas de fertilización, especies forrajeras sembradas, la edad de la planta, la composición botánica de la pradera, el clima y época del año; estos cambios evitan al animal satisfacer sus necesidades de minerales durante todo el año. Hay una variación estacional, generalmente una reducción de la concentración durante la primavera, en el contenido de Cu y Zn en las plantas. La concentración de Cu y Zn varía considerablemente entre las especies de

plantas y también entre especies morfológicamente similares que crecen en el mismo suelo, (Ungerfeld, 1998).

Asimismo según Pechin (1999), el rango óptimo de pH del suelo para la absorción de Zn por parte de las forrajeras está entre 5 y 7. A medida que el pH del suelo se incrementa, disminuye la disponibilidad del Zn para la planta.

Requerimientos de Zn por el animal

El Zn se presenta como catión divalente, no participa en las reacciones de oxidación-reducción en los sistemas biológicos. Tiende a formar enlaces coordinados relativamente estables con ligandos electronegativos como el nitrógeno, oxígeno y azufre, brindando rigidez a los dominios estructurales de algunas proteínas Zn dependientes y enzimas. Protege a los grupos sulfhidrilos de las proteínas de membrana del daño oxidativo. Presenta un rol fundamental en la síntesis de los ácidos nucleicos y de las proteínas, en la replicación y la diferenciación celular y en la reproducción (Pechin, 1999).

Según NRC (1985), las necesidades mínimas sugeridas para ovejas gestantes y lactantes es la misma que para los machos, 20-30 ppm de Zn por día, siendo los requerimientos para el crecimiento, desarrollo y espermatogénesis testicular mayores que los necesarios para el crecimiento corporal y el apetito (Pechin, 1999; Ghasemzadeh- Hasankolai y col., 2012).

Deficiencia de Zn

El Zn es un componente esencial tanto para machos como para hembras, los efectos significativos de la deficiencia en este mineral ocurren en casos marginales donde los signos clínicos pueden no ser expresados (McDowell y Arlinton, 2005).

A medida que la deficiencia de Zn progresa, declina su concentración más marcadamente en páncreas, pelo y órganos sexuales, siendo los signos clínicos de la misma: disminución en el consumo de alimento, retardo o cesación del crecimiento, piel engrosada, escamosa y agrietada, pérdida de pelo y lana, fallas reproductivas en machos y hembras, anomalías esqueléticas, dificultad de reparación de heridas, entre otros (Pechin, 1999).

La deficiencia de Zn provoca atrofia puberal y bloquea el crecimiento testicular, lo que induce la atrofia testicular (hipogonadismo). Esta deficiencia es también responsable del desarrollo defectuoso de las características sexuales secundarias, atrofia del epitelio germinal, y la destrucción de la espermatogénesis, además de la disminución de los

recuentos de espermatozoides y de los niveles séricos de testosterona (Ghasemzadeh-Hasankolai y col., 2012).

Zn y la reproducción

La concentración de Zn es elevada en los órganos sexuales masculinos, como próstata y testículos, y en el espermatozoide, su relevancia en la reproducción es innegable. El Zn interviene no solo en el desarrollo anatómico, sino también en la función normal de los órganos reproductivos masculinos, mejora la espermatogénesis con activa participación en la maduración de espermatozoides y en la conservación del epitelio germinativo (Yunsang y Wanxi, 2011).

El Zn es un componente esencial tanto para machos como para hembras, los efectos significativos de la deficiencia en este mineral ocurren en casos marginales donde los signos clínicos pueden no ser expresados (McDowell y Arlington, 2005).

La deficiencia en Zn puede causar en el macho reducción de la secreción de gonadotropina hipofisaria y de andrógenos, retardo en el desarrollo de órganos primarios y secundarios, y afectar la espermatogénesis, mientras que en la hembra se observan fallas en la producción y maduración de ovocitos, en la ovulación, retardo en el inicio de la pubertad y anomalías fetales (Martin y White, 1992; Forero, 2004; McDowell y Arlington, 2005).

Zn y la espermatogénesis

El Zn mejora la espermatogénesis por participación activa en la maduración de los espermatozoides y en la conservación de los epitelios germinativos, (Yunsang y Wanxi, 2011). La producción de semen requiere división celular extensa, dado que el Zn está involucrado ampliamente en la organización del ADN y el ARN, en la transcripción del ADN, en la expresión de receptores esteroideos y en la síntesis de proteínas, los requerimientos de Zn son muy elevados en la espermatogénesis (Ghasemzadeh-Hasankolai, 2012).

Mientras que las espermátidas maduran hasta convertirse en espermatozoides, la concentración de Zn en los testículos aumenta, esto puede atribuirse a la mayor actividad de las enzimas que contienen Zn, como lactato deshidrogenasa, en la vaina mitocondrial de las células del esperma. De esta forma el Zn, a través de la actividad de las enzimas, funcionaría como un regulador del metabolismo de los espermatozoides. El Zn ayuda a estabilizar la cromatina y la membrana en el esperma, promueve la formación de flagelo y pieza intermedia normal y como consecuencia adecuada motilidad de los espermatozoides (Cheah y Yang, 2011).

Niveles séricos normales de Zn en rumiantes y su determinación

McDowell (1992), sostiene que en rumiantes, los valores de Zn plasmático por debajo de 0,6 µg/mL pueden considerarse deficientes, entre 0,6 y 0,8 como marginales y entre 0,8 y 1,2 µg/mL como normales (citado en Pechin, 1999).

La muestra de sangre debe ser obtenida en lo posible de sangre venosa, y en un momento estandarizado del día (Agget y Favier 1993, citado en Pechin, 1999).

Determinación de concentración de Zn en sangre

Espectrometría de absorción atómica (AAS)

Los átomos libres producidos a partir de una muestra, en un atomizador (llama u horno de grafito calentado eléctricamente) pueden absorber radiación de su longitud de onda específica de resonancia generada por una fuente externa, por ejemplo un cátodo hueco o una lámpara de descarga sin electrodos. Si la luz de esta longitud de onda específica pasa a través del atomizador que contiene el vapor atómico del elemento, parte de la luz será absorbida, y el grado de absorción será proporcional a la densidad de átomos en el paso de la luz.

Espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS)

Esta técnica utiliza como fuente de atomización la llama, la solución de la muestra se aspira vía un nebulizador dentro de la llama aire/acetileno donde se evapora el solvente y los sólidos remanentes se separan en átomos. La FAAS es la técnica más utilizada para el análisis de metales pesados, debido a su simplicidad y alto rendimiento de las muestras (Kastenmayer, 1997).

Suplementación con Zn

Absorción y metabolismo

El intestino delgado es el principal sitio de absorción de Zn siendo el duodeno el sitio más activo, aunque se ha acumulado información sobre el mecanismo de absorción del Zn existen detalles no dilucidados aún. La absorción involucra la captura del Zn por la mucosa intestinal lo cual se hace rápidamente y la lenta transferencia al torrente sanguíneo. Asimismo la secreción pancreática se asume como la principal fuente del Zn endógeno fecal. Para todas las especies estudiadas un alto porcentaje del Zn excretado del organismo se encuentra en las heces y muy poco en la orina (Miller, 1970).

Formas de suplementar

La forma más común de suplementación es: óxido de Zn (ZnO), sulfato de Zn (ZnSO₄) grado alimentario, Zn metionina, Zn lisina. La comparación de la disponibilidad de estas fuentes de Zn según estudios de Undergood y Suttle (1999), fue: ZnSO₄> Zn Metionina> ZnO> Zn lisina.

Existen varias formas de suplementar con Zn pero el método a elegir dependerá de la especie y de la forma de alimentación de los animales a suplementar. La vía oral es una de las más utilizadas, requiere repeticiones diarias lo que la hace inviable para el uso en gran escala. Se han utilizado preparaciones con vidrio soluble como vehículo para prevención y cura de deficiencias de Cu, Se y Co, el Zn también podría vehiculizarse de esta forma, (Khandaker y Telfer, 1990).

Se puede mezclar los suplementos con la dieta completa o proveyéndolos en forma separada, en bateas, en el caso de alimentación pastoril (Pechin, 1999). Otros dispositivos disponibles son los bolos ruminales que liberan Zn, los cuales pueden utilizarse tanto para el tratamiento de la deficiencia de Zn en ovinos como para el eczema facial (Khandaker y Telfer, 1990).

Bolos ruminales

Los bolos Time Capsule[®] liberan Zn a una velocidad controlada en el rumen, durante 6 semanas, tanto en corderos como ovejas. Los bolos para animales adultos contienen 72 g de óxido de Zn y liberan 28 mg Zn/ kg peso vivo por día. No tienen partes plásticas ni metálicas y no dejan ningún residuo luego de finalizar la liberación del Zn. Estos dispositivos fueron utilizados en la suplementación de ovinos lográndose buenos resultados en el aumento de los niveles de Zn en sangre (Irabuena 2010, comunicación personal).

Toxicidad

El máximo nivel tolerable fijado para ovinos por NRC (1980) es de 300 ppm. Los casos de intoxicación reportados provienen de contaminaciones industriales y errores muy groseros de formulación (Pechin, 1999).

HIPÓTESIS

La suplementación con Zn en carneros Merino Australiano podría mejorar la producción de espermatozoides, la capacidad de fertilización e incrementar la congelabilidad del semen.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto de la suplementación con Zn en carneros Merino Australiano, pastoreando sobre campo natural de basalto, sobre la calidad espermática y fertilidad de semen fresco y congelado de carneros merino australiano.

Objetivos Específicos

Comparar los parámetros del semen fresco (volumen, concentración, motilidad masal) y determinar calidad espermática de muestras de semen congeladas-descongeladas, de carneros con y sin suplementación de Zn.

Determinar estadísticamente si se observan variaciones en el porcentaje de preñez en las ovejas inseminadas vía cervical con semen fresco de carneros con y sin suplementación de Zn.

Determinar estadísticamente si se observa variaciones en el porcentaje de preñez en las ovejas inseminadas vía intrauterina con semen congelado-descongelado, de carneros con y sin suplementación de Zn.

METODOLOGIA

Animales y tratamientos

Localización del ensayo

El trabajo de campo se desarrolló en un establecimiento ganadero, típicamente ovejero de la región Norte del Uruguay, ubicado sobre la ruta nacional N°4, a 120 Km de la ciudad de Salto. Correspondiendo al paraje “Paso del Sauce”, perteneciendo al departamento de Salto.

Los suelos predominantes del predio pertenecen a la unidad de Cuchilla de Haedo Paso de los Toros presentándose principalmente Litosoles Subéutricos, a veces Eutricos, según la carta de suelos a escala 1:1.000.000 (D.S.F).

El mismo tiene un índice CONEAT promedio de 42, con suelos del grupo 1.10b en un 4% (anexo, suelos CONEAT). Los suelos son de uso netamente pastoril (MGAP – PRENADER, 2015)

El ensayo se llevó a cabo en el periodo agosto 2013-marzo 2014.

Trabajo de campo

Manejo sobre los carneros:

El día 28 de agosto de 2013 a un grupo de 30 carneros de raza Merino Australiano se le realizó un estudio de aptitud reproductiva (medida de circunferencia escrotal, condición corporal, edad), extracción y determinación de la calidad del semen, (pruebas macro y microscópicas, color, volumen, movilidad masal y concentración respectivamente). Se seleccionaron 12 animales para el ensayo, cada uno identificados mediante caravanas numeradas.

Se formaron dos grupos, con 6 carneros cada uno, grupo tratado y grupo control, homogéneos en cuanto a condición corporal (entre 3,5 y 4, Jefferies, 1961), edad (4 y 6 dientes) y calidad espermática.

Un grupo fue suplementado con Zn por única vez y el otro grupo se mantuvo sin suplementar. La suplementación se realizó colocando bolos ruminales de ZnO para animales adultos, de 72 g, los cuales liberan 28 mg Zn/ kg peso vivo por día. La colocación se llevó a cabo de acuerdo al instructivo proporcionado por el fabricante (The Time Capsule, AgResearch, New Zealand).

Ambos grupos de carneros pastorearon en un mismo potrero de campo natural.

Al inicio del ensayo, previo a la colocación de los bolos, todos los carneros seleccionados fueron re evaluados como se describió anteriormente.

A los 60 días de la colocación de los bolos se repitió dicha evaluación y se preparó un pool con las muestras de semen de los animales de cada grupo que estaban en condiciones de ser utilizados (Fernández Abella, 2003), procediéndose posteriormente a la congelación de los mismos para ser utilizados en IAIU.

Para la IAC con semen fresco se utilizaron pooles de muestras de semen de los carneros de cada grupo, con y sin suplementación, obtenidos el día 70 post aplicación de los bolos de Zn. Todas las muestras de semen fueron extraídas el mismo día y analizadas como se describió anteriormente. Las muestras que estaban en condiciones de ser utilizadas fueron mezcladas para la obtención de los pooles para cada grupo de animales. Posteriormente se procedió a la inseminación de las ovejas de cada lote según Fernández Abella, (2003).

Se determinó la condición corporal según la escala de Jefferies, 1961 y para medir la circunferencia escrotal se utilizó una cinta métrica (exactitud $\pm 0,1\text{cm}$), la edad se estimó por la dentición.

A la totalidad de los carneros utilizados en este ensayo se realizó el conteo de huevos por gramo de materia fecal (HPG) utilizando la técnica de Mc Master (Thienpont, 1986),

para estimar la carga parasitaria de nematodos gastrointestinales en dos oportunidades, día 0 y 60.

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

Manejo del semen y análisis del semen:

Una vez recolectado el semen se midió el volumen del eyaculado, la concentración y la motilidad de masa.

El volumen (mL) se determinó mediante una pipeta graduada.

La concentración espermática mínima se estimó mediante el color utilizando Tabla 1.

La motilidad masal e individual del eyaculado se determinó utilizando Tabla 2.

La concentración espermática (spz/ mL) se determinó a través del recuento de espermatozoides en cámara de Makler.

Para la IAC, el semen fresco una vez obtenido se mantuvo a 28°C durante todo el procedimiento. La dosis inseminante fue de 80 millones de espermatozoides por oveja.

Para la inseminación IAIU el semen se congeló en pajuelas de 0,25 mL, colocando 60 millones de espermatozoides por pajuela, según el método de Salamon (1976). Las pajuelas fueron descongeladas en Baño María a 39°C durante 40 segundos.

Se determinó la motilidad, masal e individual, en el semen pos descongelado, para ello se realizó un pool con cinco pajuelas descongeladas de cada grupo de carneros, con y sin suplementación con Zn.

Inseminación:

Para este ensayo se utilizó una majada comercial de la raza Merino Australiano (n=135), pertenecientes al establecimiento "Paso del Sauce", con una condición corporal entre 2,75 y 3,15 (Jefferies, 1961) y de 4 a 6 dientes, se las dividió en cuatro grupos. Los animales fueron servidos por inseminación artificial.

El manejo contra parásitos gastrointestinales fue el mismo que se realizó sobre los carneros. Todas las ovejas que se utilizaron en el ensayo pastoreaban el mismo potrero de campo natural.

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

Cuatro grupos:

- 1) IAC a 35 ovejas, con la mezcla de semen fresco de los eyaculados de carneros suplementados con Zn.
- 2) IAC a un grupo control de 35 ovejas, con la mezcla de semen fresco de los eyaculados de carneros sin suplementar (testigo).
- 3) IAIU a 31 ovejas, con la mezcla de semen congelado-descongelado de los eyaculados de carneros suplementados con Zn.
- 4) IAIU a 34 ovejas, con la mezcla de semen congelado-descongelado de los eyaculados de carneros sin suplementar (testigo).

La inseminación artificial con semen fresco se realizó según Fernández Abella, (2003), el método usado fue cervical superficial, el cual consiste en depositar el semen en el segmento del canal cervical más próximo a la vagina. La inseminación artificial intrauterina con semen congelado-descongelado se realizó según Fernández Abella, (1996)

Tabla 4. Cantidad de carneros y ovejas utilizadas por método de inseminación y tratamiento.

TRATAMIENTO	CONTROL (n)	SUPLEMENTADO (n)
CERVICAL	35	35
INTRAUTERINA	34	31
CARNEROS	6	6

A todas las ovejas se le aplicó el mismo protocolo de sincronización de celo utilizando un dispositivo de silicona inerte intravaginal impregnado con 0,3 g de progesterona natural de liberación prolongada (DICO®, Laboratorio Syntex, Montevideo, Uruguay) durante 11 días. Dichos dispositivos fueron retirados de cada lote de ovejas desfasados en el tiempo (24 horas). Este manejo facilita el trabajo de inseminación de un número alto de animales, pudiendo así respetar el momento óptimo de inseminación luego de retirar los dispositivos intravaginales. En dicho momento se administraron 350 UI de PMSG o eCG (Gonadotrofina Coriónica Equina), (Novormon®, Laboratorio Syntex, Montevideo, Uruguay) y 30 horas después se aplicaron 10 µg de GnRH (Fertiline®,

Universal Lab., Montevideo, Uruguay). La inseminación a tiempo fijo (IATF) se llevó a cabo entre las 52 y 55 horas posteriores al retiro del dispositivo (Fernández Abella, y col., 2003). Todas las ovejas fueron inseminadas por el mismo operador.

El día 35 pos inseminación se determinó fertilidad y carga fetal mediante ultrasonografía, utilizando un ecógrafo WELL (WED 9618 UV), con sonda transrectal de 5.0 Mhz. A los 70 días se repitió la ultrasonografía, para determinar pérdidas embrionarias tempranas, en todos los animales de cada grupo.

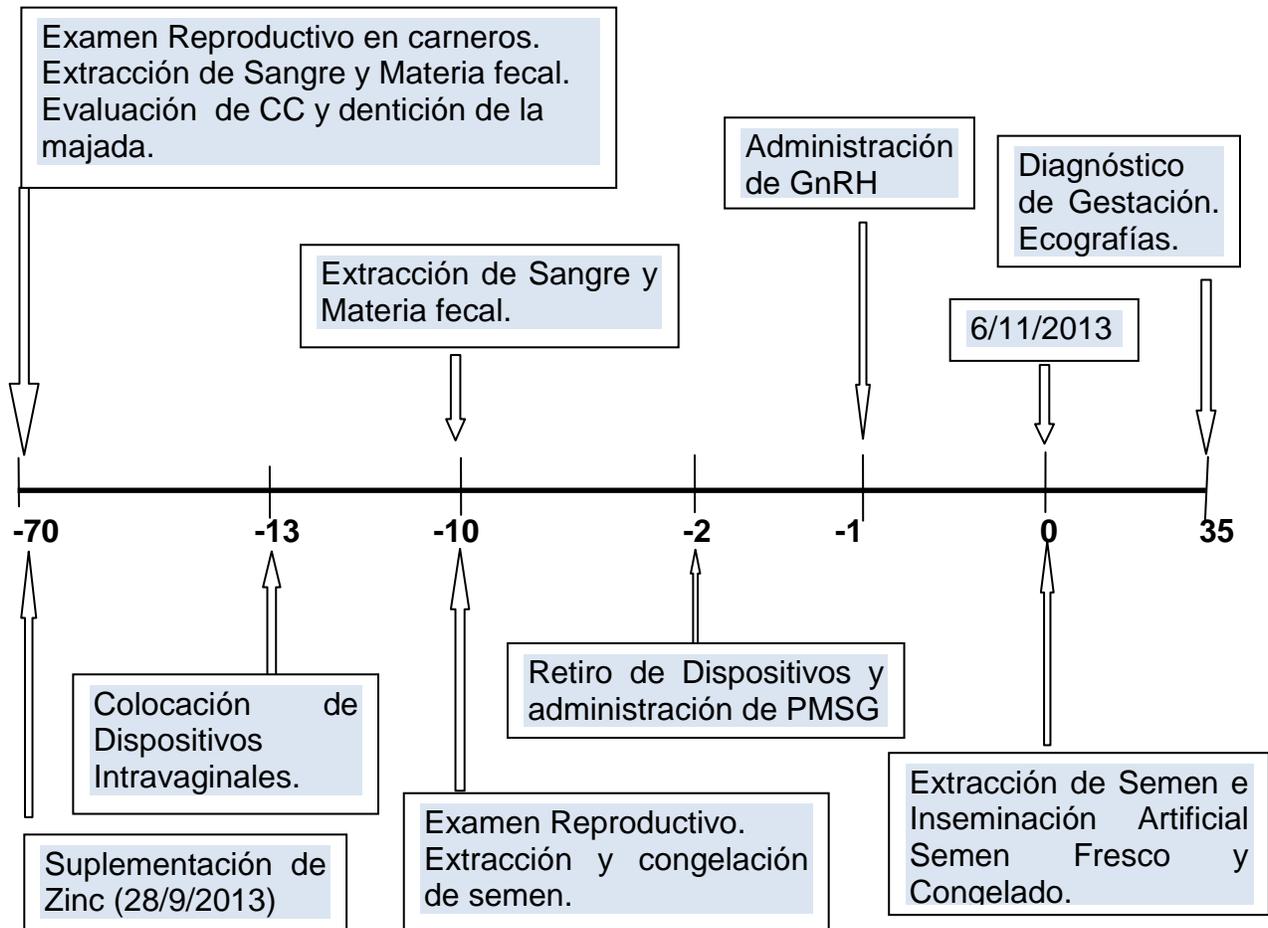


Figura 1. Cronología de los trabajos de campo.

Determinación de Zn en sangre

El día 28 de agosto de 2013 se le extrajo sangre por punción en la vena yugular a cada uno de los carneros, se utilizaron tubos sin anticoagulante, correctamente identificados de acuerdo al número de caravana de los mismos.

Se determinó concentración de Zn en sangre por absorción atómica (AA) en las muestras obtenidas al momento de comenzar la suplementación y 60 días después.

Análisis de datos

Las variables analizadas fueron sobre concentración de Zn, parámetros del semen y variables de preñez a la ecografía.

Los parámetros del semen fueron: concentración (millones espermatozoides/ mL), volumen (mL/ eyaculado), motilidad masal, motilidad a la descongelación y a las dos horas, fueron realizados intervalos de confianza del 95% para la media de concentración y volumen en la población.

En el caso de las variables de preñez, el modelo ajustado correspondió al de un diseño completamente aleatorio donde los tratamientos corresponden a un experimento factorial 2x2. Un factor fue el método de inseminación (cervical e intrauterina), siendo el otro factor la suplementación con Zn de los carneros (suplementados y control).

Los cuatro tratamientos comparados son: Fresco – IA cervical – Zn, y fresco – IA cervical – control; Congelado – IAIU - Zn, y Congelado – IAIU– control. Siendo los efectos estimados: Métodos de inseminación, suplementación e interacción entre ambos.

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

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

RESULTADOS Y DISCUSION

Animales

Tabla 5. Promedio de condición corporal y de circunferencia escrotal para el grupo de carneros tratados con Zn y control.

Tratamiento	Condición Corporal	Circunferencia Escrotal
Control	3,7	30
Zn	3,6	31
p>0,05		

Ambos parámetros no variaron significativamente durante el período en que se realizó el ensayo.

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

Tabla 6. Promedio de condición corporal para cada grupo de ovejas al momento de inicio.

Tratamiento	Condición Corporal
IAC Control	2,89
IAC con Zn	2,91
IAIU Control	2,93
IAIU con Zn	2,87
p>0,05	

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

Estos resultados dejan de lado diferencias en los resultados reproductivos causados por el estado de los animales analizados por tratamiento y por grupo.

Calidad seminal

Tabla 7. Movilidad masal a los 70 días pos suplementación.

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

p>0,05

Al inicio la movilidad masal promedio de cada grupo de carneros presentó valores superiores a 3,5 y no mostró diferencias significativas ($p>0,05$) a los 70 días pos suplementación.

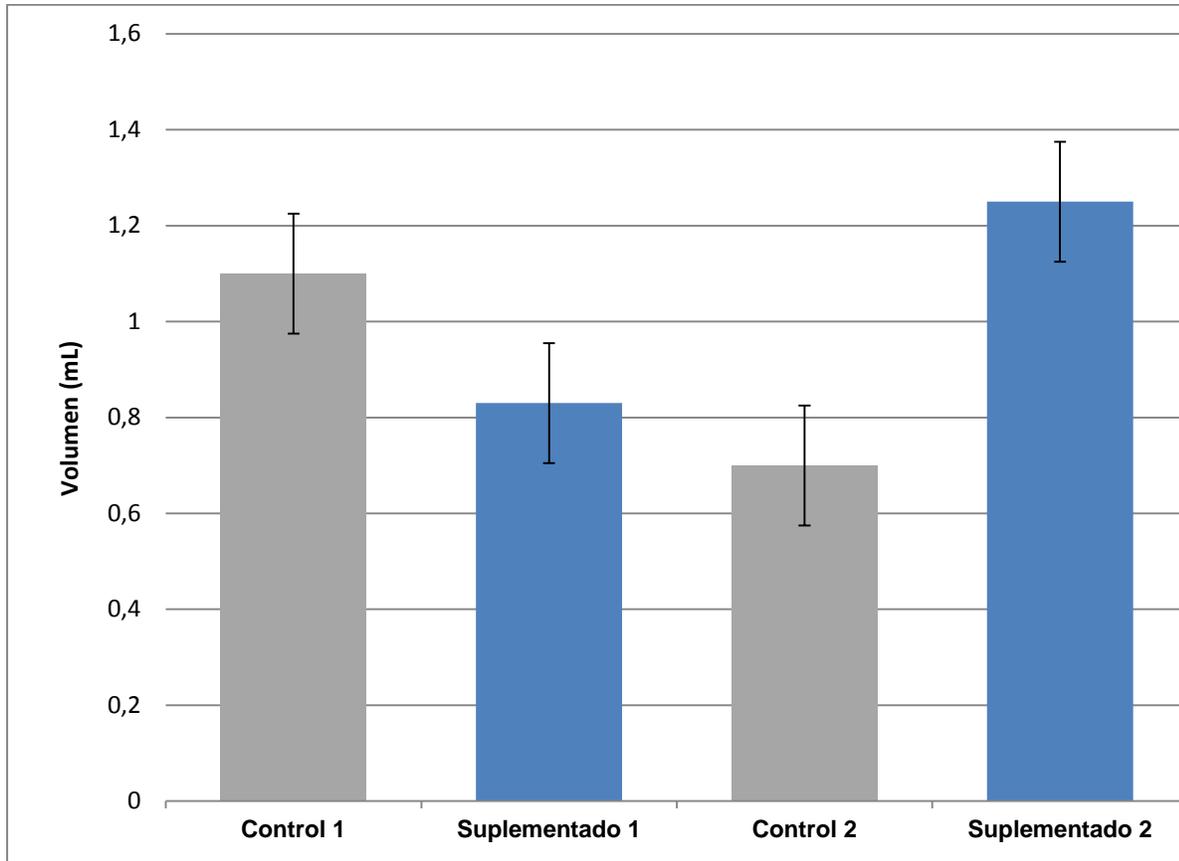


Figura 2. Volumen eyaculado promedio en cada grupo al momento 1 y 2.

Al inicio del ensayo el volumen promedio en el grupo de animales a suplementar con Zn y el grupo control fue 0.83 mL y 1.05 mL respectivamente, no observándose diferencias significativas ($p=0.3419$). A los 70 días pos suplementación las medias del volumen fueron en ambos grupos 1.25 mL y 0.70 mL, observándose por lo tanto diferencias significativas ($p=0.0116$) a favor del grupo suplementado.

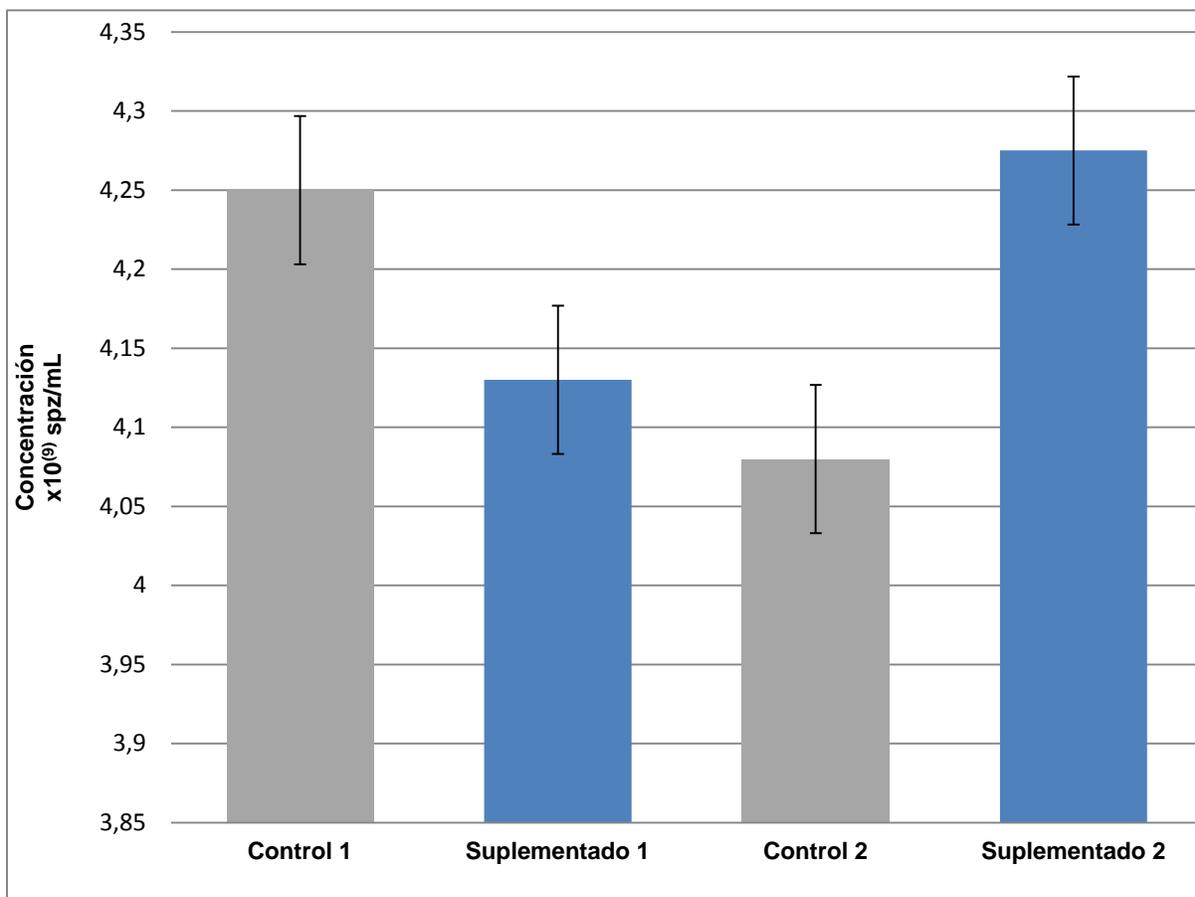


Figura 3. Concentración eyaculado promedio en cada grupo al momento 1 y 2.

Al inicio del ensayo, previo a la aplicación de los bolos de Zn, no hubo diferencias significativas ($p= 0,6328$) en la concentración espermática por eyaculado entre los grupos, suplementado y control, la media fue de 4130 y 4250 millones (spz/ mL) respectivamente. La evaluación a los 60 días pos aplicación de los bolos, tampoco mostró diferencia significativa ($p= 0,3871$), siendo la media 4280 y 4080 millones spz/mL en el grupo suplementado y el control respectivamente.

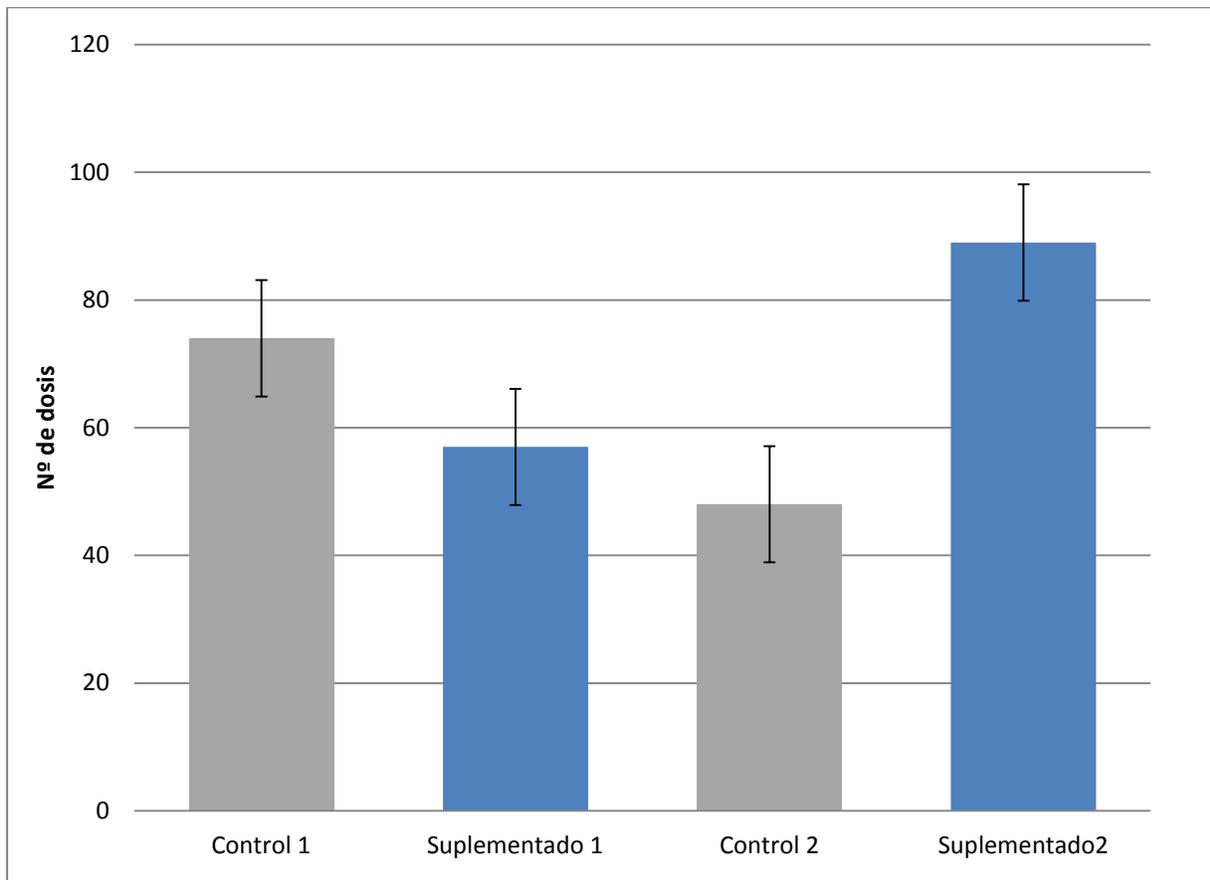


Figura 4. Cantidad de dosis por eyaculado promedio al momento 1 y 2.

Si se utiliza como dosis inseminante 60 millones de espermatozoides (Fernández Abella, 2003), las medias de las dosis obtenidas, en el grupo suplementado y control, fueron 57 y 74 respectivamente, no habiendo diferencias significativas entre ambas ($p=0,2638$). A los 60 días pos suplementación si se observan diferencias significativas en las medias entre ambos grupo siendo las mismas 89 y 48 respectivamente ($p=0,0066$).

Tabla 8. Resultados de Zinc en sangre en el grupo de carneros control y suplementado al momento 1 y 2.

Tratamiento	Momento 1 mg/mL	Momento 2 mg/mL
Suplemento	0.87	1.18
Control	0.9	1.03

(p> 0,05)

Los resultados muestran que no existen diferencias significativas en las concentraciones de Zn entre los carneros de ambos grupos al momento 1 y 2.

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

Teniendo en cuenta que las deficiencias en minerales y vitaminas afectan la producción de semen (Martin y col., 1990), así como la importancia del Zn en la producción y maduración de los espermatozoides y en la conservación del epitelio germinativo (Yunsang y Wanxi, 2011) en este trabajo se esperaba obtener un impacto positivo en los parámetros del semen en estudio mediante la suplementación con Zn.

Oliveira y col., (2004), reportan trabajando en conejos, el aumento en la concentración de espermatozoides, medida en forma indirecta a través del espermatocrito, sin cambios en el volumen. Mientras que Els-Marssy y col., (1994), Moce y col., (2000) reportan un aumento de volumen en animales suplementados con Zn frente a los no suplementados. Asimismo, Mason y col., (1982), trabajando con ratas, observaron después de 90 días de alimentación con una dieta pobre en Zn, recuentos sorprendentemente bajos de espermatozoides en dichos animales.

En nuestros resultados se puede ver un aumento significativo del volumen promedio por eyaculado en el grupo suplementado y dado que la concentración no muestra diferencias significativas entre los grupos al inicio y a los 60 días pos suplementación, para que este parámetro se mantenga constante la producción total de

espermatozoides debe haber aumentado. Por lo tanto los resultados estarían de acuerdo a la hipótesis de trabajo y la concordancia con los reportes antes mencionados es parcial.

En nuestro ensayo no se obtuvieron diferencias significativas en la concentración de Zn en sangre al momento 1 y 2 entre ambos grupos de carneros, lo cual puede atribuirse al manejo que el productor realiza en este establecimiento comercial. Todos los carneros del ensayo recibieron suplemento mineral preparado por la firma Cooperativa Agraria de Responsabilidad Limitada de Salto (CALSAL) de la ciudad de Salto cuya composición se describe en la tabla 8. Este manejo es realizado en el establecimiento a partir del año 2009, dicho suplemento se suministró *ad libitum* durante todo el año, a partir del retiro de los carneros de la majada en época de servicios (comunicación personal Ing. Agr. Alberto Bozzo).

Tabla 9. Composición de “Sal Bozzo”.

Componente	Concentración (%)
Ca	11.47
P	6.80
NaCl	42.86
CuSO4	0.29
CH4N2O (urea)	0.40
S	0.64
Se	0.003
ZnO	0.10

Fuente: CALSAL, 2015.

Asimismo, se reporta que la concentración de Zn en sangre en mamíferos es 30 veces menor a la concentración alcanzada en testículos, plasma seminal y en el propio espermatozoide (Alí y col., 2007), por lo que el efecto positivo observado en la producción de espermatozoides en el grupo suplementado podría deberse a esto. Este resultado es altamente beneficioso, ya que la suplementación con Zn permitiría inseminar al doble de animales por eyaculado, utilizando semen fresco o congelado.

Ecografías

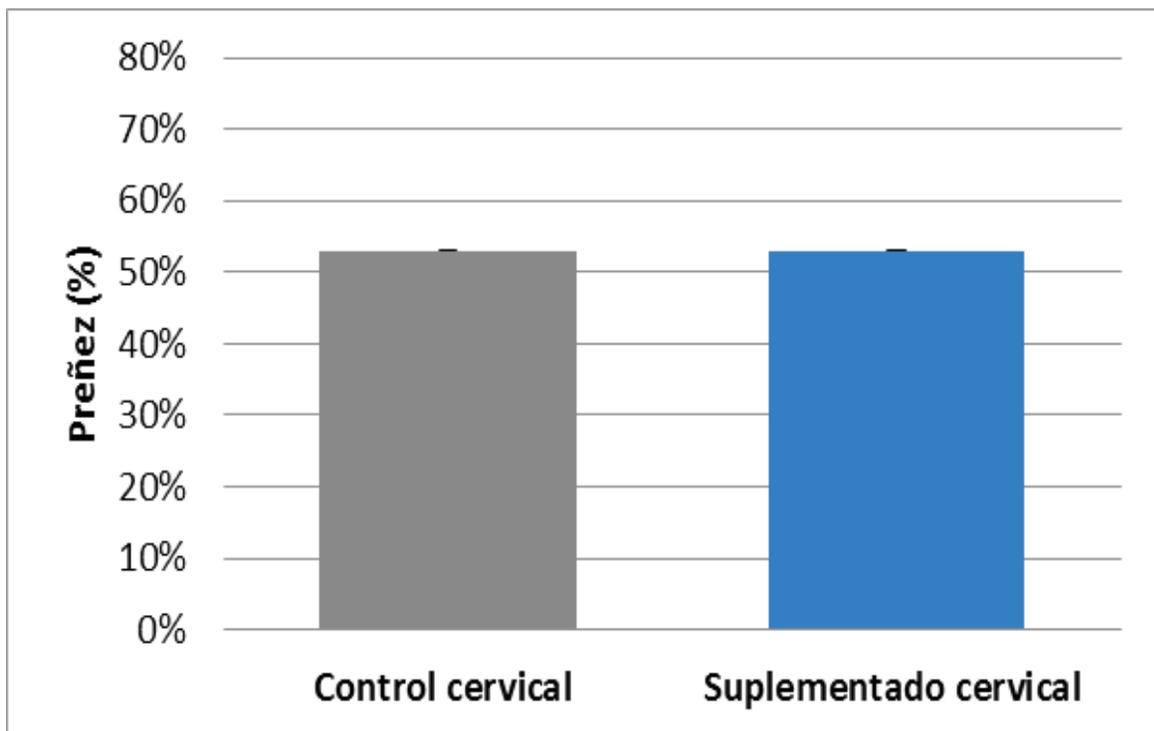


Figura 5. Resultados de ecografía en la inseminación cervical con semen fresco para ambos grupos.

Los resultados obtenidos en porcentajes de preñez en IAC con el grupo control son inferiores a los reportados por Gibbons y Cueto (2004), debe tenerse en cuenta que dichos autores utilizan dosis inseminantes superiores, entre 100 y 150 millones, obteniendo porcentajes de preñez entre 60 y 80% con las mismas.

Tabla 10. Efecto del zinc sobre la fertilidad, prolificidad y fecundidad en inseminación cervical con semen fresco.

Tratamiento	Fertilidad (%)	Prolificidad	Fecundidad (%)
Suplementado	53	1,0	53
Control	53	1,0	53

p>0,05

Fertilidad: Cantidad de ovejas preñadas o paridas/ Cantidad de ovejas encarneradas.

Prolificidad: Número de corderos nacidos vivos/ Ovejas paridas.

Fecundidad: Fertilidad x Prolificidad.

(Fernández Abella, 2008).

Los resultados obtenidos en IAC de fertilidad, prolificidad y fecundidad no muestran diferencias significativas ($p=0,98$) entre grupo control y suplementado con Zn.

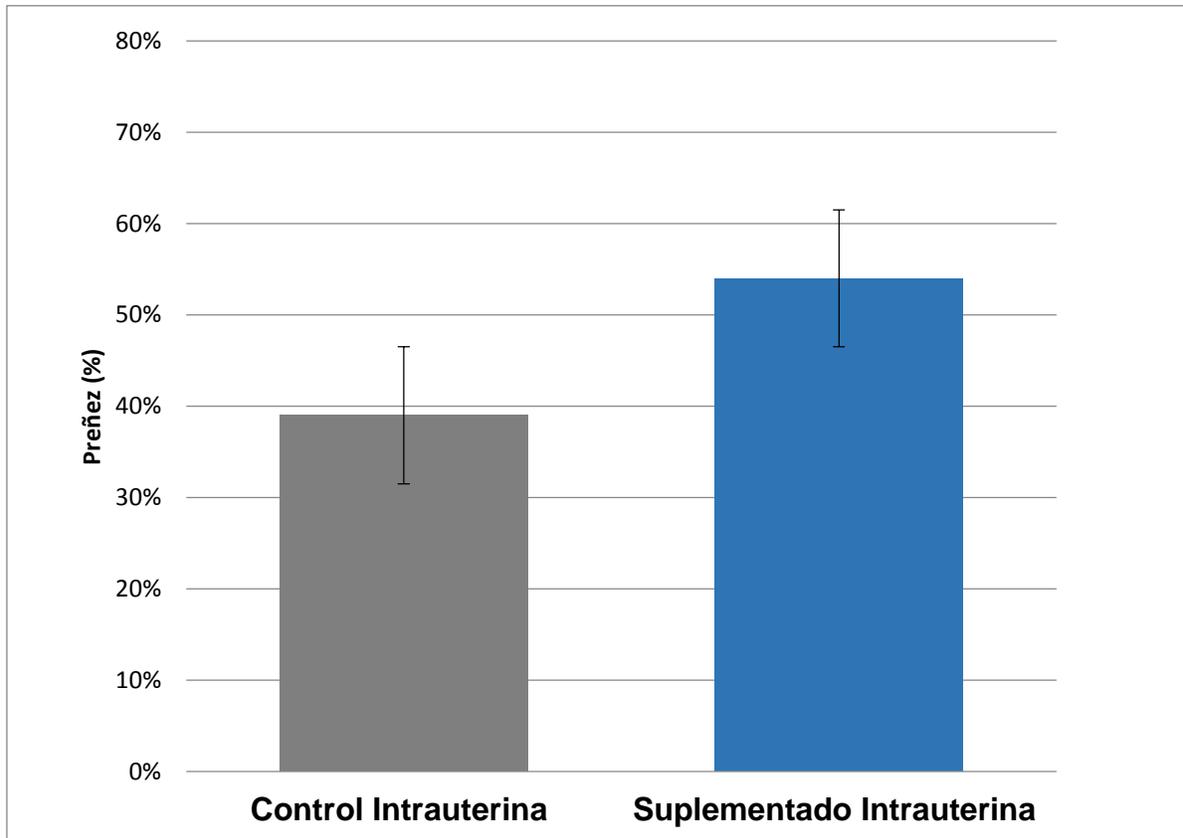


Figura 6. Resultados de ecografía de inseminación intrauterina con semen congelado-descongelado para ambos grupos.

Los resultados obtenidos en la IAIU en el grupo control son concordantes con los reportados por Tervit y col (1994) citado en Fernández Abella (2015) los que obtuvieron fertilidad del 37,8 % utilizando esta metodología. En nuestro país los resultados con la IAIU varían entre un 10 y un 75% de fertilidad, dicha variación se debe a varios factores entre ellos estado de la majada al momento de la IA, semen utilizado, método y hormonas utilizadas para la sincronización, (Fernández Abella, 2015).

Tabla 11. Efecto del zinc sobre la fertilidad, prolificidad y fecundidad en la inseminación intrauterina con semen congelado.

Tratamiento	Fertilidad (%)	Prolificidad	Fecundidad (%)
Suplementado	54	1,0	54
Control	39	1,0	39

p>0,05

Nuestros resultados no muestran diferencias significativas en los porcentajes de preñez alcanzados con la IAIU ($p=0,177$), entre ambos grupos, pero si se puede observar una mejor capacidad de fertilización en los carneros suplementados con el semen congelado- descongelado en este tratamiento.

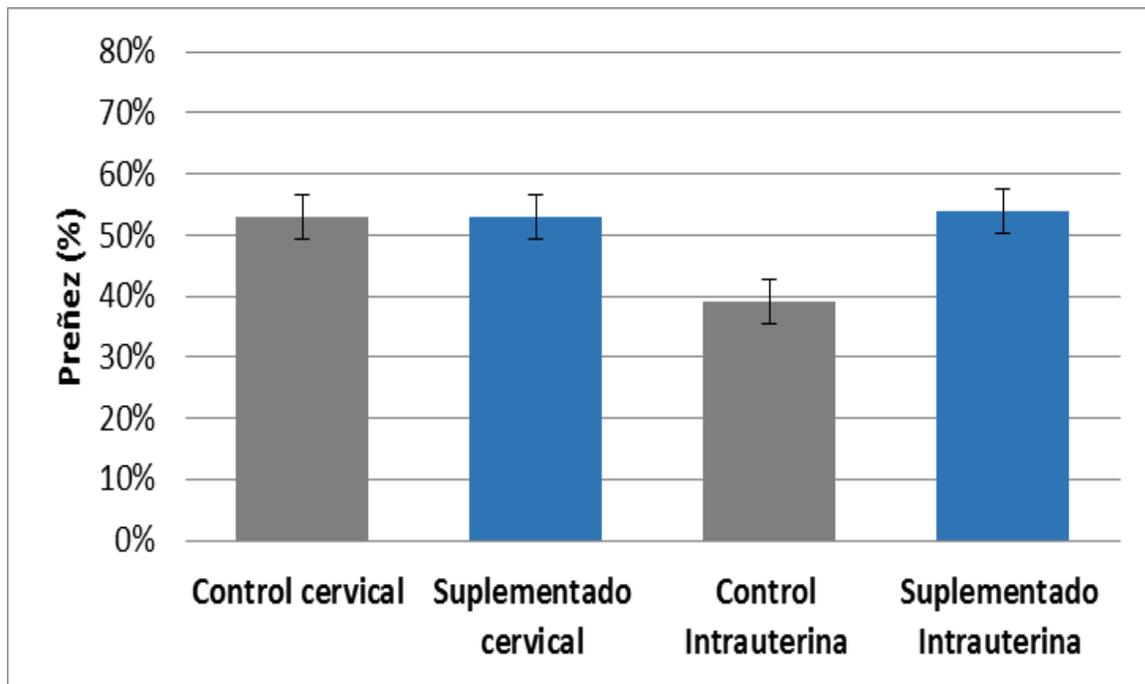


Figura 7. Resultados de ecografía para ambos tipos de inseminación para grupo control y suplementado.

Existen reportes que muestran que el Zn en el plasma seminal estabiliza la membrana plasmática y la cromatina de los espermatozoides, protegiéndolos del deterioro degenerativo y puede realizar un efecto regulador en el proceso de capacitación y reacción acrosómica en el espermatozoide (Alí y col., 2007). Mientras que otros autores en estudios *in vitro* reportan que el Zn agregado y el plasma seminal poseen efectos inhibitorios sobre la capacitación, reacción acrosómica, incluyendo la hiperactivación y unión-penetración a la zona pelúcida del espermatozoide (Liu y col., 2009). Las motilidades promedios obtenidas post descongelación a las 0 y 2 horas en el grupo suplementado fueron 57% y 35% mientras que en el grupo control fueron 40 y 28% respectivamente. Si bien no se pudo determinar si las diferencias son significativas ya que se realizó la determinación en un pool de 5 pajuelas de cada grupo si podemos ver tendencias, lo que respalda los mejores resultados del grupo suplementado. Esto concuerda con los trabajos antes mencionados que le atribuyen al Zn un rol protector y regulador, ya que el proceso de congelado-descongelado causa daños irreversibles en la membrana plasmática, lo que conlleva la muerte de un gran número de espermatozoides o en los supervivientes, cambios similares a los observados durante la capacitación espermática, que provoca un acortamiento de su período de vida útil.

Si observamos los porcentajes de preñez para los grupos de ovejas inseminadas vía cervical e intrauterina con semen fresco y congelado-descongelado respectivamente, de carneros suplementados con Zn, no encontramos diferencias significativas ($p= 0,37$) entre ambos grupos. Esto concuerda con Fernández Abella, (2015), quien sostiene que la laparoscopia utilizando menores dosis inseminantes permite alcanzar resultados iguales o superiores al método cervical.

COSTO BENEFICIO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON ZINC

Al comparar la fertilidad entre los tratamientos en el método de IA cervical no se observan diferencias significativas, pero si es significativa la diferencia en el número de dosis inseminantes obtenidas. Utilizando semen fresco, a una dosis inseminante según Fernández Abella, (2003) 80 millones de spz/ mL, se obtuvieron 67 y 36 dosis en grupo tratado y testigo respectivamente. Esto permitiría al utilizar programas de IATF aumentar el número de ovejas inseminadas por eyaculado, disminuyendo asimismo el número de saltos por carnero, necesarios para inseminar la majada, lo cual repercute en la obtención de semen de mejor calidad.

Si hacemos la comparación para semen congelado, utilizando dosis de 60 millones / mL de spz (Fernández Abella, 2003), el incremento fue de 48 a 89 dosis por eyaculado, entre testigo y grupo tratado. Por lo tanto al igual que con el semen fresco se mantiene el beneficio de inseminar mayor número de hembras.

Asimismo, se debe agregar la posibilidad de comercializar el semen congelado, lo cual permite la difusión de material genético de interés, incrementando la rentabilidad.

Nuestro ensayo concluyó con la realización de las ecografías diagnósticas de preñez y pérdidas embrionarias tempranas, por lo que no se determinó el número de corderos destetados. Teniendo esto en cuenta y considerando que los grupos de animales tratados y testigos en ambas metodologías se mantuvieron en idénticas condiciones podemos asumir que las pérdidas en ellos serían las mismas. En base a esta hipótesis podríamos obtener alrededor de un 15% más de corderos en IAIU en el grupo suplementado con Zn.

CONCLUSIONES

La suplementación con Zn de carneros Merino Australiano, utilizando bolos ruminales, promueve un aumento en la producción total de espermatozoides, permitiendo prácticamente duplicar el número de animales inseminados por eyaculado, utilizando semen fresco o congelado en IA cervical e IAIU respectivamente. Este efecto se observa aun trabajando con carneros con concentraciones adecuadas de Zn en sangre, como son los de nuestro ensayo. Esto amerita continuar estudiando este efecto en carneros con carencia de Zn donde el efecto podría ser más pronunciado.

La fertilidad en ovejas inseminadas por IAIU, con semen congelado de carneros del grupo suplementado, fue superior a las inseminadas con semen del grupo control, pero las diferencias no fueron significativas lo que podría atribuirse al bajo número de animales. Tampoco se observó diferencias significativas en la misma entre los grupos cuando se realizó IAC con semen fresco.

La tendencia observada de aumento de la fertilidad en el semen congelado del grupo tratado con Zn, podría relacionarse con su capacidad estabilizadora de membranas que favorecería la congelabilidad del mismo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agüera Carmona, S. (1995). Aparato genital masculino. En: García Sacristán A.; Catellón Montijano F.; de la Cruz Palomino L.F; González Gallego J.; Murillo López de Silanes M.D.; Salido Ruiz G. (1995). Fisiología veterinaria, Madrid, Interamericana. McGraw-Hill. 827-839pp.
2. Aisen, E.G.; Alvarez, H.L.; Venturino, A.; Garde, J.J. (2000). Effect of trehalose and edta on cryoprotective action of ram semen diluents. *Theriogenology* 53:1053-1061.
3. Ali, H.; Ahmed, M.; Baig, M.; Ali, M. (2007). Relationship of zinc concentrations in blood and seminal plasma with various semen parameters in infertile subjects. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 23: 111-114pp.
<http://www.pjms.com.pk/issues/janmar07/article/article23.html>. Fecha de consulta: 24 de septiembre de 2015.
4. Alloway B. J. (1995). Heavy metals in soils. Blackie Academic & Professionals. 2a ed. New York, Springer, 368 p.
5. Amermman, C.B.; Goodrich, R.D. (1983). Advances in mineral nutrition in ruminants. *Journal of Animal Science*; 57 (Supp 2):519-533.
6. Berretta, E. (1998). Contenido de minerales en pasturas naturales de Basalto. I Especies nativas Seminario de actualización en tecnologías para Basalto. INIA Serie Técnica Nº 102, 99-111pp.
7. Blasina, E. (2014). Perspectivas Agropecuarias 2014. Montevideo, Mosca. 360pp.
8. Bonadonna, T. (1989). Reproducción animal e I.A. Buenos Aires, Hemisferio Sur. V 2.
9. Bonino, J. (2000). Evaluación clínica reproductiva del carnero. *Revista Plan Agropecuario*. (89): Disponible en:
http://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R89/R89_41.htm Fecha de consulta: 2 de Julio de 2014.
10. Cardellino, R.; Trifoglio, J. (2003). El mercado de lanas Merino finas y superfinas. Seminario Internacional: Lanas Merino finas y superfinas, producción y perspectivas. Salto, Uruguay. P. 1-12pp.
11. Cheah, Y.; Yang, W. (2011). Functions of essential nutrition for high quality spermatogenesis. *Advances in Bioscience and Biotechnology*; 2:182-197.
Disponible en: <http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=6866>. Fecha de consulta: 14 de agosto de 2015.

12. Cunningham, J.; Klein, B. (2009). Fisiología Veterinaria. 4^o ed. Barcelona, Elsevier, 700 pp.
13. DELTA. (2015). Disponible en: <http://www.delta-animalproduction.com>. Fecha de consulta: 17 de marzo del 2015.
14. Dyce, K.M.; Sack, W.O.; Wensing, C.J. (1991). Anatomía veterinaria. ed. 2da. Ed. McGraw-Hill, 952p.
15. Elhordoy, D. (1998) Curso de Inseminación Artificial en Ovinos. Montevideo, Universidad de la República Facultad de Veterinaria. 60pp.
16. El-Masry, K.A.; Nasra, S.; Kamal, T.H. (1994). Influences of season and dietary supplementation with selenium and vitamin E or zinc on some blood constituents and semen quality of New Zealand White rabbit males. World Rabbit Science, 2(3):79-86.
17. Evans, G.; Maxwell, W.M.C. (1990). Inseminación artificial en ovejas y cabras. Zaragoza, Acribia 192 pp.
18. Fernández Abella, D. (1995). Temas de reproducción ovina e inseminación artificial en bovinos y ovinos, Montevideo, Facultad de Agronomía, 206 pp.
19. Fernández Abella, D. (2008). Manual de inseminación artificial por vía cervical en ovinos. Montevideo, SUL, 77pp.
20. Fernández Abella, D. (2003). Manual de inseminación artificial por vía cervical en ovinos. Montevideo, Secretariado Uruguayo de la Lana. 71pp.
21. Fernández Abella, D. (2015). Tecnologías reproductivas bovinas y ovinas. Montevideo. Ed. Hemisferio Sur. 200pp.
22. Fernández Abella, D.; Bonilla Riera, C.; Irabuena, O.; Sterla, S. (2003). Importancia de la sincronización del celo y de la calidad del semen en la fertilidad obtenida por inseminación intrauterina. Serie de Actividades de Difusión 343 - INIA Tacuarembó. Uruguay. 74 p.
23. Forero, L.E. (2004). Fallas reproductivas asociadas a deficiencias de microminerales, caso colombiano. 7 p. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/suplementacion_mineral/12deficiencias_microminerales_colombia.pdf. Fecha de consulta: 14 de agosto del 2015.
24. García Sacristán, A. (1996). Fisiología Veterinaria. Aravaca. Ed. McGraw-Hill Interamericana, 800p.

25. Ghasemzadeh-Hasankolaj, M.; Batavani, R.; Baghaban Eslaminejad, M.; Sedigh-Gilani, M. (2012). Effect of Zinc Ions on Differentiation of BoneMarrow-DerivedMesenchymal Stem Cells to Male Germ Cells and Some Germ Cell-Specific Gene Expression in Rams. *Biological Trace Element Research*. 150(1-3):137-146.
26. Gibbons A.; Cueto M. (2004). Jornadas técnicas de inseminación artificial con semen fresco en ovinos. INTA Bariloche. *Comunicación Técnica Producción Animal* N° 443, 13p.
27. Gibbons, A.; Cueto, M. (1995). *Manual de Inseminación Artificial en la Especie Ovina*. Bariloche, INTA Bariloche. 19 pp.
28. Gibbons, A.; Cueto, M.; Garcia Vinent, J.; Wolff, M. y Arrigo, J. (1993). Obtención, procesamiento y conservación del semen ovino. *Manual de divulgación. Comunicación Técnica de Producción Animal del INTA Bariloche* N° 200. 19 p.
29. Hafez, E.S.E. (1986). *Reproducción e inseminación en animales*. 4ª ed. México, Interamericana. 532p.
30. Howard, T.H., Pace, M.M. (1998). Seminal evaluation and artificial insemination: Fertility and Infertility in Veterinary Practice. En: Laing, J.A., Morgan, W.J., Wagner, W.C., London, Bailliere Tindall. p. 39-51.
31. Hunter, R.F.F. (1980). Differentiation, puberty and the oestrus cycle. En: Hunter, R.F.F. *Physiology and thecnology of reproduction famele domestic animal*. London, Academic. p. 1-34.
32. Jefferies, B.C. (1961). Body condition scoring and its use in management. *Tasmanian Journal of Agriculture*, 32:19-21.
33. Kendall, N.R.; McMullen, S.; Green A.; Rochway, RG. (2000). The effect of a zinc, cobalt nad selenium soluble glass bolus on trace element status and semen quality of ram lambs, *Animal Reproduction Science* 62:277-283.
34. Khandaker Z.H.; Telfer, S.B. (1990). Treatmen of zinc deficiency in sheep by zinc containing boluses. Dept. of Animal Nutrition, The University of Leeds, U.K. *Ajas*. Vol.3(No.1) 53-59pp.
35. Langlands, J.P.; Bowles, J.E.; Smith, A.J. Donald, G. E.; (1981). Selenuim concentration in Blood of ruminants graing II. Relationship with geological, pedological and other variables. *Australian Journal of Agricultural Research*. 32: 523-533.
36. Liu, D.Y., Sie, B.S., Liu, M.L., Agresta, F. and Baker, H.W.G. (2009) Relationship between seminal plasma zinc concentration and spermatozoa-zona pellucida

- binding and the ZP-induced acrosome reaction in subfertile men. *Asian Journal of Andrology*, 11:499-507.
37. Martin, G.B.; White, C.L. (1992). Effect of dietary zinc deficiency on gonadotrophin secretion and testicular growth in young male sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 96: 497 – 507.
 38. Mason, K.E., Burns, W.A.; Smith, J.C. (1982). Testicular damage associated with zinc deficiency in pre- and postpubertal rats: Response to zinc repletion. *The Journal of Nutrition*, 112: 1019-1028.
 39. Mc Donald.; Edwards, R.A.; Greenhalgh J.F.D.; Morgan C.A. (2006). *Minerales. Nutrición Animal*. 6ª ed. Zaragoza, Acribia, 586 pp.
 40. McDowell, L.R. (1992). *Minerals in animal and human nutrition*. Academic Press. San Diego. En. Pechin, G.H. (1999). *El Zinc en la Nutrición de los Rumiantes*. San Diego, Academic, p. 50-79.
 41. McDowell, L.R. (2003). *Mineral in Animal and Human Nutrition*, 2ª Ed. Amsterdam, Elsevier Science, 644 pp.
 42. McDowell, L.R.; Arthington, J.D. (2005). *Minerales para rumiantes en pastoreo en regiones tropicales*. 2ª ed. Gainesville, IFAS, 86p.
 43. Medeiros, C.; Forell, F.; Oliveira, A.; Rodrigues, J. (2002). Current status of sperm cryopreservation: why isn't it better?. *Theriogenology* 57: 327-344.
 44. MGAP-PRENADER. (2015). Grupo de suelos CONEAT. Disponible en: <http://www.prenader.gub.uy/coneat/>. Fecha de consulta: 2 de Agosto de 2015.
 45. Milczewski, V.; Kozicki, L.; Luz, S.; Neves, J. (2000). Intrauterine and cervical artificial insemination in sheep using cooled semen. *Archives of Veterinary Science*, 5: 35-39.
 46. Miller, W.J. (1970). *Zinc Nutrition of Cattle*. Dairy Science Department, University of Georgia. Disponible en: [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(70\)86355-X](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(70)86355-X). Fecha de consulta: 23 de octubre de 2015.
 47. Moce, E.; Arouca, M.; Lavara, R.; Pascual, J.J. (2000) Effect of dietary zinc and vitamin supplementation on semen characteristics of high growth rate males during Summer season. *Proceedings World Rabbit Congress*, 7, Valencia.CD ROM.
 48. Mogielnicka-Brzozowsk, M.; Kordan, W. (2011). Characteristics of selected seminal plasma proteins and their application in the improvement of the reproductive processes in mammals. *Polish Journal of Veterinary Sciences*; 14: 489-499.

49. Molinia, F.; Evans, G.; Maxwell, M. (1994a) Incorporation of penetrating cryoprotectants in diluents for pelletfreezing ram spermatozoa. *Theriogenology* 42: 849-858.
50. Montossi, F.; De Barbieri, I.; Mederos, A.; De Mattos, D.; Frugoni, J.C.; Martínez, H.; Zamit, W.; Levratto, J.; Grattarola, M.; Pérez Jones, J. (2003). Núcleo Fundacional del Proyecto Merino Fino del Uruguay. Jornada de Producción Animal y Pasturas en Basalto. INIA Serie Actividades de Difusión N° 335, p 41 – 42.
51. Morón, C., Zacarías, I., de Pablo, S. (1997). Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. Santiago de Chile. FAO Dirección de Alimentación y Nutrición Oficial Regional de la para América Latina y el Caribe. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/ah833s00.htm> Fecha de consulta: 27 de abril de 2015.
52. NRC. (1980). Mineral tolerance of domestic animals. Washington. National Academy of Sciences, 577pp.
53. NRC. (1985). Nutrient requirements of Sheep. 6a ed. Washington. National Academy of Sciences, 112pp.
54. NRC. (2005). Mineral Tolerance of Animals: 2a ed. Washington, Sciences-National Research Council, 510 pp.
55. Oliveira, C.E.A.; Badu, C.A.; Ferreira, W.M.; Kamwa, E.B.; Lana, A.M.Q. (2004). Effects of dietary zinc supplementation on spermatic characteristics of rabbit breeders. Proceeding of 8th World Rabbit Congress –September 7-10, Puebla, Mexico, p. 315-321.
56. OPYPA. (2014). Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/OpypaPublicaciones/ANUARIOS/Anuario2014/pdf/Anuario_2014_web.pdf. Fecha de consulta: 15 de julio de 2015.
57. Ortavant, R. (1958). Le cycle spermato-génétique chez le bélier. Tesis Université de Paris, 128 pp.
58. Ortega-Ferrusola, C., Macías García, B., Suárez Rama, V., Gallardo-Bolaños, J., González-Fernández, L., Tapia, J., Rodríguez-Martinez, H., Peña, F., 2009, Identification of sperm subpopulations in stallion ejaculates: Changes after cryopreservation and comparison with traditional statistics. *Reproduction in Domestic Animals*. 44: 419-423pp.
59. Palacios D.E. (1994). Aspectos fisiológicos acerca del congelamiento del semen. *Veterinaria México*. 25: 201-210.

60. Palma, G. (2001). *Biotecnología de la reproducción*. Argentina: Instituto Nacional de Tecnologías Agropecuarias. 695pp.
61. Paschal, D.C. (1989). Biological monitoring with atomic spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part B Atomic Spectroscopy* 44 (12):1229-1236.
62. Pechin, G.H. (1999). El Zinc en la Nutrición de los Rumiantes. Disponible en: <http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/revet/n01a06pechin.pdf>. Fecha de consulta: 18 de noviembre de 2015.
63. Piaggio, L.; Uriarte, G. (2005). Nutrición mineral de los ovinos en pastoreo en el Uruguay. *Producción Ovina*. 17:5-20pp.
64. Pigurina, G.; Soares De Lima, J.M.; Berreta, E. (1998). Contenido de minerales en pasturas naturales de Basalto (especies nativas). *INIA Serie Técnica N° 102*, p. 113-122.
65. Salamon, S. (1976). *Artificial insemination of sheep*. Sydney, N.S.W. Publicity Press, 86pp.
66. Salamon, S.; Maxwell, W. M. C. (2000). Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science*, 62: 77-111.
67. Salgado, C. (2014). El Mercado de carne ovina en Lananoticias. *Lananoticias* (166):21-23.
68. Samia, Z.; Meshreky; Sabbah, M.; Allam, El-Manilawy, M.; Amin H.F. (2012). Effect of dietary inorganic and organic zinc supplementation on semen quality of rabbit bucks. 5 th Scientific Congress of Egyptian Society For Animal Management. Geza, Egypt, p. 18-22.
69. Senger, PL. (2003). *Pathways to Pregnancy and Parturition*. 2^a ed. Washington. Current Conceptions, 373 p.
70. Setchell, B.P. (1984). The functions of the testis and epididymis in rams. En: Lindsay, D.R; Pearce, D.T, *Reproduction in sheep*. Camberra, Australian Academy of Science. pp.62-72.
71. Soch, V.; Srejberova, P.; Broucek, J.; Kisac, P.; Stastna, J.; Uhrincat, M.; Cermak, B. (2010). Evaluation of Hematological Parameters and Trace Elements in the Blood of Sheep. *Lucrari Stiintifice Zootehnie si Biotehnologii* 43(1): 524-527.
72. Stornelli, M.C.; Tittarelli C.M.; Savignone, C.A.; Stornelli M.A. (2005). Efecto de los procesos de criopreservación sobre la fertilidad seminal. *Analecta Veterinaria* 25(2): 28-35.

73. Tedó, G.; Casas, J. (2005). Importancia de los aportes de microminerales en la dieta de ganado ovino. TEGASA – Departamento Técnico Rumiantes. Disponible en: <http://www.tegasa.es/noticias/importancia-de-los-aportes-de-microminerales-en-la-dieta-del-ganado-ovino.html> Fecha de consulta: 31 de agosto de 2015.
74. TEGASA . (2005). Importancia de los aportes de micro minerales en la dieta de ganado ovino. Disponible en: <http://www.tegasa.es/noticias/importancia-de-los-aportes-de-microminerales-en-la-dieta-del-ganado-ovino.html>. Fecha de consulta: 14 de agosto del 2015.
75. Thienpont, D.; Rochette, F.; Vanparijs, O. (1986). Diagnosing helminthiasis by coprological examination. 2° ed. Beerse, Janssen Research Foundation, 205 pp.
76. Underwood, E.J.; Suttle N.F. (1999). The Mineral Nutrition of Livestock, 3^a ed, Wallingford, CAB, 614 p.
77. Ungerfeld, E. (1998). Factores que afectan el contenido de minerales en pasturas naturales y estado nutricional de vacunos y ovinos en Uruguay. INIA Tacuarembó. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/suplementacion_mineral/126-minerales_pasturas.pdf. Fecha de consulta: 1 de Setiembre de 2014.
78. Ungerfeld, R. (2002a). Reproducción en los animales domésticos. Montevideo, Melibea, V1.
79. Ungerfeld, R. (2002b). Reproducción en los animales domésticos. Montevideo, Melibea, V2.
80. Van Nieker, F.E., Van Niekerk, C.H., Heine, E.W.P., Coetzee, J. (1990). Concentrations of plasma copper and zinc and blood selenium in ewes and lambs of Merino, Dohne Merino and SA Mutton Merino sheep. South African Journal of Animal Science 20(1):21-26.
81. Wulster, M.C.; Wang, S.Q.; Lewis, G.S. (2004). Transcervical artificial in sheep: effects of a new transcervical artificial insemination instrument and traversing the cervix on pregnancy and lambing rates. Theriogenology, 62 (6): 990-1002.

ANEXO

Suelos CONEAT del predio:

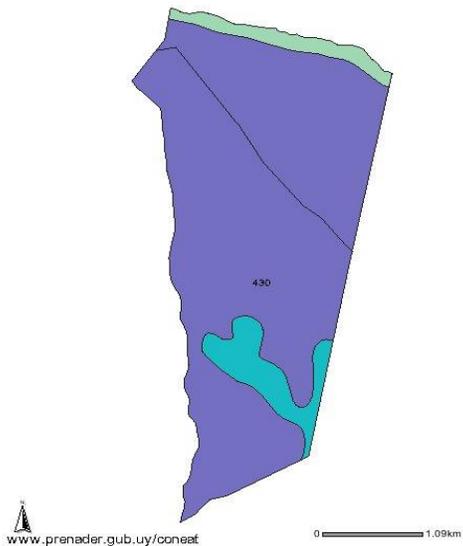
Descripción y tipos de suelo para el establecimiento “Paso del Sauce”, según padrón (MGAP-PRENADER, 2015).

DEPARTAMENTO	NRO. PADRON	SECC. JUDICIAL	SUP.CATASTRAL (Has.)	IND. PROD.
Salto	430	07	967.3506	42

Porcentajes de Suelos CONEAT

Salto - 430

Grupo	Indice	Porc.
 1.10b	30	88.74 %
 12.12	149	7.14 %
 B03.1	158	4.12 %



Descripción de grupos de suelos CONEAT

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

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

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

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