

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

**DESARROLLO REPRODUCTIVO EN CORDEROS IDEAL CRIADOS
ARTIFICIALMENTE O CON SUS MADRES**

por

Conrado RODRÍGUEZ RAINERI

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

Ensayo Experimental

MONTEVIDEO
URUGUAY
2013

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

Dr. Alejandro Bielli

Segundo miembro (Tutor):

Dr. Juan Pablo Damián

Tercer miembro:

Dra. Inés Sienna

Cuarto miembro (Co-Tutor):

Dr. Rodolfo Ungerfeld

Quinto miembro (Co-Tutor):

Lic. Florencia Beracochea

Fecha:

Autor:

Conrado Rodríguez Raineri

AGRADECIMIENTOS

Primero que nada quería agradecer a mis padres, por formarme como persona y siempre brindarme su apoyo para poder realizar lo que me gusta. Por otro lado, quería agradecer a mis hermanas, que siempre estuvieron para darme una mano y compartir los buenos y malos momentos de la vida. También quería agradecer a mis abuelos, por transmitirme su amor por el campo. A la barra de amigos de siempre, que más allá de las jodas y viajes, siempre supieron estar ahí para dar consejos. No quiero olvidarme de los amigos que me dejó facultad, especialmente a la gente del orientado Producción Animal 2011 con los cuales compartí unos excelentes 6 meses en Paysandú. También quería agradecer a Nazarenos Rugby Club, que más que un club de rugby, es un grupo de amigos. Del orden académico, quisiera agradecer a aquellos profesores que me formaron tanto en lo profesional como en lo personal. Con respecto al trabajo final, primero que nada agradecer a Juan Pablo que siempre me ayudó durante el trabajo, disponiendo siempre de buen humor y voluntad, dedicándole más tiempo de lo que le era posible y transmitiéndome la tranquilidad de que se iba a completar el trabajo. También a Florencia, por su paciencia y dedicación en la parte de laboratorio y por sus constantes aportes al trabajo. Agradecer a Rodolfo, que aportó su experiencia y conocimiento para que el trabajo resultará lo más completo posible. Es importante agradecer a la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (FCE2626-ANII) que financió el proyecto pudiendo realizar el trabajo sin problemas. Por último, quería agradecer a César, Guillermo, Carol, Natalia, Laura, Santiago y a los funcionarios de la unidad de ovinos de INIA-La Estanzuela que aportaron de diferentes maneras para que este trabajo se pudiera llevar a cabo.

TABLA DE CONTENIDO

	Páginas
PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE FIGURAS	5
RESUMEN	6
SUMMARY	7
INTRODUCCIÓN	8
HIPOTESIS	20
OBJETIVOS	21
MATERIALES Y MÉTODOS	22
RESULTADOS	26
DISCUSIÓN	39
CONCLUSIONES	42
BIBLIOGRAFÍA	43
ANEXOS	54
Tabla 1 Sistema de valoración de la onda de motilidad masal	54
Tabla 2 Planilla utilizada para evaluación de morfología espermática e integridad de acrosoma	55
Tabla 3 Escala de los componentes que forman parte del índice de calidad espermática (I.C.E.)	56

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Peso corporal	26
Figura 2. Circunferencia escrotal	27
Figura 3. Relación circunferencia escrotal/peso corporal	28
Figura 4. Concentración sérica de testosterona	29
Figura 5. Motilidad Masal	30
Figura 6. Porcentaje de espermatozoides motiles	31
Figura 7. Porcentaje de espermatozoides motiles progresivos	32
Figura 8. Volumen	33
Figura 9. Concentración	34
Figura 10. Total de espermatozoides en el eyaculado	35
Figura 11. Porcentaje de espermatozoides vivos	35
Figura 12. Porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales	36
Figura 13. Acrosomas íntegros	37
Figura 14. Índice de Calidad Espermiática (I.C.E.)	38

RESUMEN

Dentro de los factores sociales, la presencia y el vínculo entre la madre y la cría es de fundamental importancia para el desarrollo posterior de la cría. El destete temprano (separación de la madre de su cría) es una práctica de manejo que se realiza en los establecimientos ovejeros con el objetivo de lograr una temprana recuperación de la madre. Sin embargo, existe poca información sobre el efecto que tiene el destete temprano sobre el desarrollo sexual de los corderos. El objetivo de la tesis fue determinar si la presencia o no de la madre durante la lactancia altera el desarrollo sexual y la edad a la pubertad de los corderos machos. Se utilizaron 27 carneros de raza Ideal, de los cuales 14 fueron separados de sus madres al día de nacido y criados artificialmente (CA) con leche de oveja, y 13 criados por su madre (CM). El destete se realizó cuando los corderos tenían en promedio 75 días de edad. Las madres de los corderos CM se trasladaron a otro potrero donde no tenían contacto visual ni acústico con los corderos en experimentación. En ese mismo momento los corderos CA dejaron de recibir la leche materna. El experimento se realizó desde noviembre del 2011 hasta junio del 2012. Los animales eran pesados y se les extraía sangre semanalmente. Las concentraciones séricas de testosterona fueron analizadas por RIA, utilizando un kit comercial. La medición de la circunferencia escrotal y la colección y evaluación de muestras de semen se realizaron cada 7-15 días. Se consideró que los animales habían alcanzado la pubertad cuando en el eyaculado presentaban 50×10^6 espermatozoides/mL y un 10% de los espermatozoides eran motiles. El peso corporal, la relación circunferencia escrotal/peso corporal, los parámetros seminales, el índice de calidad espermática (I.C.E.), la circunferencia escrotal y las concentraciones séricas de testosterona entre ambos grupos (CA y CM) fueron comparadas por ANOVA para mediciones repetidas, donde se incluyó el efecto del grupo (CA vs CM), del tiempo y la interacción entre ambos. La edad a la pubertad entre ambos grupos fue comparada por ANOVA. No hubo efecto grupo en las variables circunferencia escrotal, peso corporal, relación circunferencia escrotal/peso corporal, concentración sérica de testosterona y en los parámetros seminales. Los corderos CM tendieron a alcanzar antes la pubertad ($22,9 \pm 0,7$ vs $25,1 \pm 1,1$ semanas, respectivamente; $p=0,087$) y a alcanzar antes la circunferencia escrotal máxima que los CA ($27,7 \pm 1,0$ vs $29,9 \pm 0,5$ semanas, respectivamente; $p=0,06$). La relación circunferencia escrotal/peso corporal fue mayor en los corderos CM que en los corderos CA en las semanas 9 (CM: $0,59 \pm 0,02$ vs CA: $0,54 \pm 0,01$, cm/kg, respectivamente; $p=0,002$), 16 (CM: $0,73 \pm 0,02$ vs CA: $0,68 \pm 0,02$, cm/kg, respectivamente; $p=0,03$) y 19 (CM: $0,76 \pm 0,01$ vs CA: $0,71 \pm 0,01$, cm/kg, respectivamente; $p=0,02$). Los CM tuvieron mayor concentración sérica de testosterona en la semana 18 (CM: $512,05 \pm 50,4$ vs $290,88 \pm 47,3$, ng/dL, respectivamente; $p=0,003$) y en la semana 21 (CM: $395,39 \pm 48,1$ vs CA: $240,81 \pm 51,5$, ng/dL, respectivamente; $p=0,004$). Los animales CM presentaron mayor I.C.E en la semana 21 (CM: $1,45 \pm 0,27$ vs CA: $0,59 \pm 0,13$, $p=0,04$). En conclusión, la presencia y el vínculo con la madre afectan el desarrollo reproductivo de los corderos machos. Los corderos criados con la madre tuvieron un desarrollo reproductivo más precoz que aquellos criados artificialmente.

SUMMARY

Among the social factors, the presence and the bond between the mother and her lamb is of fundamental importance for the subsequent development of the offspring. Early weaning (separation of the mother and her lamb) is a practice done in ovine establishments in order to achieve an early return of the mother to sexual cycling activity. However, there is little information on the effect of early weaning on the sexual development of male lambs. The purpose of the thesis was to determine if the presence or not of the mother during lactation alters the sexual development and the age at puberty in male lambs. In this study 27 Polwarth rams were used, 14 of which were separated from their mothers a day old and artificially reared (CA) with sheep's milk and 13 were raised by their mothers (CM). Weaning was performed when the lambs were an average 75 days of age. CM lambs` dams were moved to another paddock making it impossible for the lambs to have any visual or acoustic contact with their mothers. At the same time the CA lambs stopped receiving milk. The experiment was carried out from November of 2011 to June of 2012. Animals were weighed and blood samples were collected weekly. Serum testosterone concentrations were analyzed by RIA, using a commercial kit. The scrotal circumference measurement and the collection and evaluation of semen samples were performed every 7-15 days. It was considered that the animals reached puberty when the ejaculate had 50×10^6 sperm/mL and 10% of the sperm were motile. Body weight; scrotal circumference; scrotal circumference/body weight ratio; serum testosterone concentrations; semen characteristics and spermatid quality index between groups (CA and CM) were compared by ANOVA for repeated measures, which included the effect of the group (CA vs. CM), time and the interaction between them. There was no group effect on scrotal circumference; body weight; scrotal circumference/body weight ratio; serum testosterone concentrations and sperm characteristics. The age at puberty between the two groups was compared by ANOVA. CM lambs tended to reach puberty earlier (22.9 ± 0.7 vs 25.1 ± 1.1 weeks, respectively, $p=0.087$) and achieve maximum scrotal circumference before the CA (27.7 ± 1.0 vs 29.9 ± 0.5 weeks, respectively, $p=0.06$). Scrotal circumference/body weight ratio was higher in CM animals than in CA at week 9 (CM: 0.59 ± 0.02 vs CA: 0.54 ± 0.01 , cm/kg, respectively, $p=0.002$), 16 (CM: 0.73 ± 0.02 vs CA: 0.68 ± 0.02 , cm/kg, respectively, $p=0.03$) and 19 (CM: 0.76 ± 0.01 vs CA: 0.71 ± 0.01 , cm/kg, respectively, $p=0.02$). CM had higher serum testosterone levels at week 18 (CM: 512.05 ± 50.4 vs 290.88 ± 47.3 , ng/dL, respectively, $p = 0.003$) and week 21 (CM: 395.39 ± 48.1 vs CA: 240.81 ± 51.5 , ng/dL, respectively, $p = 0.0039$). The CM animals had higher spermatid quality index in week 21 (CM: 1.45 ± 0.27 vs CA: 0.59 ± 0.13 , $p=0.04$). In conclusion, the presence and bond with the mother affects reproductive development of male lambs. The lambs reared with their mothers had earlier reproductive development than those reared artificially.

INTRODUCCIÓN

En condiciones naturales, el destete en la especie ovina se da en forma progresiva e implica dos procesos: 1) la separación física y social de la madre y su cría y 2) la modificación de los hábitos alimenticios del cordero (dejar de ingerir sólo leche y pasar a una dieta sólida y agua) (Orgeur y col., 1998; Orihuela y col., 2004; Weary y col., 2008). En la mayoría de los establecimientos ovejeros los corderos son separados física y socialmente de sus madres antes que en condiciones naturales (Arnold y col., 1979). Esto se realiza con el objetivo de que las madres retornen más rápidamente a la actividad cíclica reproductiva (Newberry y Swanson, 2008), existiendo poca información de cómo afecta esta medida de manejo el desarrollo sexual y la precocidad de los corderos machos.

Existen factores como la raza, la edad, el estado nutricional, la presencia de enfermedades, temperatura, la estación y los factores sociales que pueden influir en la edad en la que los corderos machos llegan a la pubertad y en su actividad reproductiva (Mandiki y col., 1998). Dentro de los factores ambientales, los factores sociales cobran importancia en la especie ovina durante el período prepuberal. Se observó que diversas interacciones sociales como la dominancia (Ungerfeld y González-Pensado, 2008), el contacto o no con hembras (Zenchak y col., 1981; Casteilla y col., 1987), y la exposición o no a hembras en celo (Price y col., 1996) modifican el comportamiento sexual y alteran el desarrollo sexual y la actividad sexual en la etapa adulta.

La presencia y el vínculo entre la madre y la cría son de fundamental importancia para el desarrollo posterior de la cría. La madre provee comida, calor, refugio y protección de los depredadores, por lo que influye en la supervivencia del cordero hasta el destete. La madre también influye en el desarrollo fisiológico, sensorial, emocional y social de los recién nacidos (Lévy y Keller, 2008).

La determinación de la edad de la pubertad y el comienzo del desarrollo sexual es una herramienta valiosa para la selección dentro de los machos de una misma raza (Land, 1977, citado por Madani y col., 1989). El uso de machos más jóvenes puede reducir costos de producción, acelerar los beneficios de la selección genética, y permitir que se puedan realizar pruebas de progenie y libido de forma más temprana (Wheaton y Godfrey, 2003). Las principales características a evaluar para la selección de reproductores incluyen la calidad seminal, las características testiculares y el comportamiento reproductivo (Pacheco y Quirino, 2010). Como criterio adicional se realiza la medición de la circunferencia escrotal, ya que es fácil realizarlo a campo y presenta alta correlación tanto con las características reproductivas como con las características productivas (Snowder y col., 2002). Además cobra importancia a nivel productivo en la especie ovina debido a que es un parámetro que está relacionado con la fertilidad y fecundidad de las futuras hijas de determinado carnero (Land y Carr, 1975). Existe una correlación positiva elevada entre la circunferencia escrotal y la producción espermática (Lino, 1972). Esto significa que se puede utilizar la circunferencia escrotal como un índice para predecir la producción espermática en los carneros (Toe y col., 2000).

Desarrollo sexual y pubertad en corderos

La maduración postnatal del aparato reproductor masculino implica una serie de cambios en las características morfológicas, funcionales y bioquímicas que son un requisito previo para la producción y la transferencia de gametos viables (Desjardins, 1978). Esta serie de cambios dan como resultado el desarrollo testicular, la diferenciación de las células germinales en el testículo, la activación de las células de Sertoli y de las células de Leydig y el desarrollo de las glándulas sexuales accesorias. Con respecto al desarrollo sexual en corderos, Dyrmondsson (1973) establece que tanto el desarrollo sexual como la edad a la pubertad están controlados por mecanismos que afectan al cerebro y a la glándula pituitaria anterior, que regula tanto la síntesis como la liberación de hormonas gonadotrópicas. La espermatogénesis completa, marcada por la liberación de los espermatozoides, es precedida por un aumento constante en el nivel de secreción de andrógenos y un mayor desarrollo, como descenso de los testículos y la ruptura de las adherencias prepuciales. El desarrollo sexual, tal como se indica por el crecimiento de los órganos reproductivos y por la realización de la espermatogénesis en forma completa, parece estar más estrechamente relacionado con el crecimiento del cuerpo que por la edad cronológica (Dyrmondsson, 1973). Por lo tanto el nivel de nutrición durante la cría, o cualquier alteración en el crecimiento, puede tener una marcada influencia en el desarrollo puberal.

La pubertad se ha definido de varias maneras en corderos machos basándose en el desarrollo del pene, parámetros de la espermatogénesis, cambios testiculares y cambios hormonales (Davis y col., 1986). Sin embargo, a efectos prácticos, aunque la pubertad es un proceso paulatino, en carneros se puede definir que alcanzan la pubertad a la edad cuando el eyaculado contiene 50×10^6 espermatozoides/mL y presenta por lo menos un 10% de células móviles (Amann y Schanbacher, 1983). Es un proceso dinámico gradual y progresivo que, aunque delimitado, no es un evento puntual. Se considera que todos los componentes del aparato reproductor masculino han alcanzado ya una etapa de desarrollo lo suficientemente avanzada para que el sistema en su conjunto sea funcional. Esto ocurre mientras el animal está creciendo y aún no se ha completado su desarrollo corporal (Rattray, 1984). También cabe destacar que durante el período puberal ocurre el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios, debido a la función androgénica de los testículos (Courot, 1978). La mayoría de los carneros alcanzan la pubertad entre los 5 y los 9 meses de edad dependiendo del peso corporal, la nutrición, la raza, y de diversos factores ambientales como la duración del día y el clima (Eilts, 2004, citado por Elmaz y col., 2008).

En el trabajo realizado por Skinner y Rowson (1968) se describieron los cambios que ocurren durante el desarrollo sexual en corderos machos de la raza Suffolk. Los autores constataron que la libido se manifiesta antes de que haya comenzado la actividad espermatogénica. Las primeras colecciones de muestras seminales que pudieron obtenerse coincidieron con un aumento de la secreción de andrógenos por parte de los testículos a los 126 días de edad. Con respecto a los cambios observados en el eyaculado, la concentración espermática fue aumentando durante el período experimental al igual que la motilidad individual y el porcentaje de espermatozoides vivos, mientras que la

incidencia de anomalías espermáticas disminuyó. La morfología de los espermatozoides refleja la funcionalidad de los túbulos seminíferos y en parte la de los epidídimos (Barth y Oko, 1989). Estas mejoras en los parámetros seminales a medida que el animal avanza en edad y se desarrolla corporalmente están relacionadas con un mayor potencial de fertilización del semen (Dun, 1955; Skinner y Rowson, 1968). Esto último coincide con lo mencionado por Dyrmondsson (1973), quien considera que la calidad espermática de los carneros púberes es relativamente pobre en comparación con la de los carneros adultos.

En el cordero inmaduro, el glándulo del pene y el apéndice vermiforme de la uretra están completamente adheridos al prepucio (Dyrmondsson, 1973). La separación de estas adherencias ocurre en forma gradual, dándose primero a nivel del proceso uretral y a continuación en el glándulo. En la pubertad, el pene se encuentra totalmente libre dentro del prepucio y se puede exponer. Este proceso se puede ver acelerado si los animales son sujetos a un régimen de colección seminal mediante electroeyaculador (Skinner y Rowson, 1968).

El ritmo de crecimiento testicular en los corderos machos es lento durante los 2 primeros meses de vida y luego se incrementa a medida que se va desarrollando la actividad espermatogénica (Dyrmondsson, 1973). Después de la pubertad el ritmo disminuye nuevamente, dando una curva de crecimiento en forma sigmoidea. Se estableció que el aumento del peso testicular está relacionado de forma positiva con el peso de la hipófisis y con el contenido de gonadotropinas de la misma (Skinner y col., 1968). El incremento postnatal en el peso testicular se debe principalmente al alargamiento y ensanchamiento del diámetro de los túbulos seminíferos que acompaña a la proliferación de células germinales (Macmillan y Hafs, 1968). Al nacimiento, los túbulos seminíferos ocupan 50% del volumen testicular (Courot, 1961, citado por Dyrmondsson, 1973). Esta proporción se ve aumentada al momento de la pubertad, pasando a ser los túbulos seminíferos al menos un 80% del volumen testicular.

En los corderos machos, la producción de andrógenos y el desarrollo de las glándulas accesorias comienzan antes que el inicio de la espermatogénesis (Skinner y col., 1968, Skinner y Rowson, 1968). El desarrollo de las glándulas accesorias es altamente dependiente de la concentración de andrógenos. El mayor crecimiento de la próstata y de las glándulas vesiculares se da en el período durante el cual la concentración de testosterona plasmática aumenta (entre 8 y 14 semanas de edad) (Chandolia y col., 1997).

Regulación endócrina del desarrollo sexual

La GnRH desempeña un papel fundamental en el desarrollo y mantenimiento de la actividad reproductiva. Está demostrado que animales tratados con un agonista de esta hormona presentan un retraso en su desarrollo sexual (Tilbrook y col., 1993). Como su nombre lo indica la función más conocida es el control de la secreción de las hormonas gonadotrópicas, como son la hormona luteinizante (LH) y la folículo estimulante (FSH) (Lincoln, 1979). El número de células que secretan la GnRH, su morfología y distribución dentro del hipotálamo ya se encuentra establecido antes de que el animal

llegue a la pubertad. Sin embargo, su grado de funcionalidad empieza a incrementarse a medida que comienza la pubertad (Senger, 2003).

La maduración sexual involucra modificaciones en los efectos que ejercen los esteroides gonadales y los factores no esteroideos sobre la secreción de la LH y de la FSH (Senger, 2003). Al principio, el hipotálamo es extremadamente sensible a la retroalimentación negativa que ejercen los esteroides, de manera que cantidades muy bajas de estas hormonas (testosterona y estradiol) pueden ejercer esta acción. En el macho las neuronas que secretan GnRH se vuelven menos sensibles a la retroalimentación negativa que ejercen la testosterona y el estradiol sobre el hipotálamo a medida que se acerca la pubertad. Cuando esto ocurre se requieren cantidades relativamente grandes de esteroides para ejercer la misma acción (Foster y col., 2006). Como respuesta a esto, el hipotálamo secreta mayores cantidades de GnRH que estimula la secreción de LH por parte de la hipófisis (Wood y Foster, 1998). Esta disminución en la sensibilidad ocurre en los machos ovinos entre las 10-15 semanas de vida (Olster y Foster, 1986, Claypool y Foster, 1990).

El desarrollo de la secreción postnatal de LH se ha clasificado en tres fases. Una primera fase de aumento de LH durante las dos primeras semanas de vida. El aumento de los niveles de LH durante esta fase es debido a un aumento en la amplitud de los picos de la misma (Savoie y col., 1981). Luego le sigue una segunda fase caracterizada por altas concentraciones sanguíneas de LH con alta variación entre semanas (desde la tercera semana después del nacimiento hasta la semana 8-11) y la fase post puberal cuando baja la concentración sanguínea de LH (Wilson y Lapwood, 1979; Pelletier y col., 1981). A medida que avanza el desarrollo, aumenta la secreción de testosterona, y su acción de retroalimentación negativa es responsable de la baja secreción de LH post puberal (Crim y Geschwind, 1972; D'Occhio y col., 1982).

Con respecto a la FSH, los niveles plasmáticos aumentan a partir del nacimiento hasta las 8-10 semanas de edad. Este aumento es esencial para el desarrollo normal de los testículos, establecimiento de la población de células de Sertoli y el comienzo y mantenimiento de la espermatogénesis (Kilgour y col., 1998). Luego disminuye en forma similar al perfil de secreción de la LH (Lee y col., 1976; Savoie y col., 1979; Walton y col., 1980).

En los testículos, las células de Leydig producen la hormona sexual masculina conocida como testosterona. Existe una estrecha relación entre la secreción de LH y la de testosterona (Lee y col., 1976, Hochereau de Reviere y col., 1980, Savoie y col., 2008). Cada pulso de LH induce un aumento de testosterona plasmática. El establecimiento de esta relación es un elemento clave en la maduración sexual de los corderos (Wilson y Lapwood, 1979). Sin embargo, durante el primer mes de vida el testículo no es capaz de responder a todos los pulsos de LH (Lafortune y col., 1984a). Luego del primer mes de vida aumenta la capacidad de las células de Leydig de responder a la LH, alcanzando su plenitud hacia las ocho semanas de edad (Foster y col., 1978), a consecuencia del incremento de la frecuencia de pulsos de LH (Foster y col., 1978; Savoie y col., 2008), el número de receptores de LH (Barenton y col.,

1983) y la cantidad de células de Leydig (Monet-Kuntz y col., 1984). Aunque la testosterona presenta cierta acción local a nivel testicular (estimulación de la espermatogénesis), la mayor parte de esta hormona se conduce a la circulación general (Evans y Maxwell, 1990). Aquí resulta de importancia para el desarrollo y mantenimiento de la libido, la actividad secretoria de los órganos sexuales accesorios y las características secundarias asociadas al fenotipo masculino, tales como el aumento de la masa muscular y esquelética (anabolismo) (Ungerfeld, 2002).

Espermatogénesis

El ciclo de la espermatogénesis en el carnero tiene una duración de aproximadamente 47 días (Senger, 2003) y se define como el desarrollo de la célula germinal masculina en el mamífero adulto, o como la suma de las transformaciones que resultan en la formación de espermatozoides a partir de espermatogonias, al mismo tiempo que se mantiene constante la cantidad de éstas últimas (Cavestany, 1986). Este proceso se lleva a cabo dentro de los túbulos seminíferos. Si bien la aparición de los primeros espermatozoides en el eyaculado de los carneros varía según las razas, en general se observan entre los 3 y 5 meses de edad (Fernández Abella, 1993).

Control de la espermatogénesis

Las principales hormonas hipofisarias que controlan la espermatogénesis son la LH y la FSH (Amann y Schanbacher, 1983). Este soporte hipofisario es esencial, dado que la hipofisectomía produce la regresión de los testículos y la involución de los túbulos seminíferos y del tejido intersticial en el cordero impúber (Courot, 1967). La LH gobierna la actividad de las células de Leydig, mientras que la FSH actúa sobre las células de Sertoli. En el cordero prepúber ambas hormonas estimulan al testículo. La iniciación de la espermatogénesis depende más del desarrollo del animal que de su edad (Courot, 1962). Incluso al comienzo de la espermatogénesis los cambios cíclicos del epitelio seminífero son similares a los que se observan en el adulto, pero su eficiencia máxima sólo se alcanza transcurridos algunos meses.

Los cordones sexuales (túbulos seminíferos inmaduros) contienen células de sostén y gonocitos. Estos últimos proliferan activamente durante la vida fetal, pero su actividad mitótica cesa previo al comienzo de la espermatogénesis (Desjardins, 1978). Las células de sostén detienen su división aproximadamente a los 4 meses de edad para volverse células de Sertoli, altamente especializadas (Courot, 1971). El número de células de Sertoli en los testículos de un animal condiciona el número de células germinales que dicho animal puede producir, lo que limita la capacidad de producción espermática (Orth y col., 1988). Los gonocitos retoman su actividad mitótica y comienzan a diferenciarse aproximadamente a los 2 meses de edad en los corderos machos, lo que lleva a un incremento del tamaño testicular (Courot, 1962).

La presencia constante de LH es necesaria para que la actividad espermatogénica sea normal, debido a que de esta hormona depende la producción de testosterona. Evans y Maxwell (1990) detallan que la FSH es necesaria para iniciar la producción de espermatozoides en la pubertad o al

comienzo de la estación reproductiva, pero no parece ser necesaria para el mantenimiento de la espermatogénesis. La FSH parece cobrar mayor importancia en el establecimiento de la población normal de células de Sertoli durante el período prepuberal (Kilgour y col., 1998).

Existen otras hormonas que pueden influir en la actividad espermatogénica. Tal es el caso de la prolactina, que estimula la espermatogénesis a través de un incremento del número de receptores a LH presentes en las células de Leydig (Sharpe, 1982). En el caso del carnero, esta hormona tendría un papel importante en el período de recuperación de las células de Leydig, previo al inicio de la temporada reproductiva. La prolactina estimularía la capacidad de estas células para responder al mayor estímulo por parte de la LH que será secretada posteriormente.

Factores que afectan el desarrollo sexual y la espermatogénesis en machos

Nutrición

Está demostrado que el sistema neuroendocrino reproductivo de los carneros es altamente sensible a cambios en la nutrición (Wood y col., 1991a) y en los corderos machos, afecta marcadamente el inicio de la pubertad (Pretorius y Marincowitz, 1968). En una revisión realizada por Brown (1994) se reúne información sobre los efectos que tiene la nutrición sobre la actividad reproductiva en los animales domésticos machos. Altos consumos de energía pueden tener efectos beneficiosos, tales como un avance en el inicio de la pubertad, un aumento del tamaño testicular y en la producción de esperma tanto en animales jóvenes como en adultos. Sin embargo, un excesivo consumo de energía que sobrepase los requerimientos del animal puede tener efectos perjudiciales sobre la reproducción (Fourie y col., 2004). La alimentación intensiva de carneros jóvenes tiene un efecto perjudicial sobre la calidad del semen como resultado de la excesiva deposición de grasa escrotal. Esta grasa puede interferir con los mecanismos termorreguladores testiculares, esenciales para la espermatogénesis.

Por otro lado, los animales inmaduros son más susceptibles que los adultos a deficiencias nutricionales y en algunas circunstancias pueden sufrir daños permanentes en la función reproductiva (Ferrel, 1991). En el período prepuberal, la desnutrición da como resultado generalmente un desarrollo sexual retardado, caracterizado por un retraso en el inicio de la pubertad, por la aparición tardía de los genitales externos y supresión de la espermatogénesis (Reid, 1960; Baronos y col., 1969; Leathem, 1975). Esto estaría explicado porque una subnutrición retrasa el proceso de maduración a nivel de hipotálamo e hipófisis (Short y Adams, 1988), donde se inhibe la liberación de GnRH, disminuye las reservas hipofisarias (Alkass y col., 1982) y disminuye la cantidad de picos plasmáticos de LH (Lindsay y col., 1984), con la consecuente caída de la producción de testosterona (Setchell et al., 1965).

Estacionalidad

El ovino ha desarrollado un método de contracepción natural impidiendo la reproducción en periodos no favorables (Lincoln y Short, 1980). Los mensajes del fotoperiodo provocan una acción sobre el eje hipotálamo-

hipófisis, previo pasaje por la glándula pineal, determinando una menor sensibilidad a la retroalimentación negativa de los esteroides gonadales, tanto en machos como en hembras. La información lumínica es transmitida de las células de la retina del ojo, a través de los nervios ópticos al núcleo supraquiasmático (NSQ), localizado en el hipotálamo anterior (Forsberg, 2002). La información generada en el NSQ es transmitida vía el núcleo paraventricular y el ganglio cervical superior a la glándula pineal, ésta secreta melatonina, hormona que participa en la regulación de la actividad hipotálamo-hipofisogonadal (Hastings y col., 1985; Arendt, 1986). La duración de la secreción nocturna de la melatonina sigue un ritmo circadiano endógeno y actúa como un mensaje pasivo que provee información al eje hipotálamo-hipófisis-gonadal, activando o inhibiendo su acción (Reiter, 1993).

Por ejemplo, en carneros castrados, las concentraciones circulantes de LH aumentaron cuando los animales fueron transferidos de fotoperiodos largos (inhibitorios) a fotoperiodos cortos (estimulantes) (Lincoln y Short, 1980; Lincoln, 1984). Pelletier y Ortavant (1975) encontraron una relación inversa entre la concentración plasmática de LH y la duración del día para carneros enteros y castrados. Concentraciones séricas elevadas de LH y FSH en los carneros expuestos a fotoperiodos cortos tienen un efecto directo sobre el crecimiento y la función testicular (Schanbacher y Ford, 1979). Estas hormonas serían las responsables del crecimiento testicular que se da en los fotoperiodos cortos, ya que aumentan la síntesis proteica y el número celular dentro de la gónada.

Los cambios estacionales del fotoperiodo son determinantes de la actividad reproductiva en la especie ovina. Los carneros presentan fluctuaciones estacionales en el comportamiento sexual, en la actividad hormonal, en la espermatogénesis, en el peso y volumen testicular (Schanbacher y Lunstra, 1976; Lincoln y Davidson, 1977; Ortavant y col., 1985). Generalmente, los parámetros anteriormente mencionados son altos al final del verano y en otoño, y bajos en el final del invierno y en primavera (Lincoln y Short, 1980; Pelletier y Almeida, 1987). Sin embargo, estos cambios comportamentales y fisiológicos no son tan pronunciados en el macho como en la hembra. A diferencia de la oveja, el carnero produce gametos durante todo el año. Pero está comprobado que durante los días largos de primavera e inicio de verano la producción de semen es inferior en cantidad y en calidad (Fowler, 1965; Schanbacher, 1979). Ortavant (1958) y Dacheux y col. (1981) registraron que la producción del parénquima testicular es 50 a 80% menor en primavera que en otoño. Los cambios estacionales en la actividad reproductiva en los carneros son menos evidentes cuando se mantienen cerca de la zona ecuatorial. Esto se debe a que, en estas áreas, los cambios en el fotoperiodo son menos pronunciados (Souza y col., 2007).

Hay notorias diferencias entre razas ovinas, y existe un vínculo entre el origen geográfico de una raza ovina y su grado de estacionalidad. En términos generales, cuanto más cercano a los polos geográficos es el origen de una raza, más marcada es la estacionalidad reproductiva que presenta (Bronson, 1988). En un estudio realizado por Fernández Abella y col. (1993) se estudió las variaciones estacionales en la producción espermática de cuatro de las

razas ovinas más utilizadas en Uruguay (Corriedale, Ideal, Merilin y Merino). En la raza Ideal se registraron cambios en el eyaculado que acompañaron las variaciones del fotoperíodo. Bajo fotoperíodo decreciente, la concentración espermática y la producción de semen aumentó, mientras que el volumen del eyaculado no presentó diferencias. También se registró un aumento de la libido durante el mismo período. Esto evidenciaría que la raza Ideal en las condiciones de nuestro país presenta estación reproductiva (octubre-noviembre a junio-julio). Las otras 2 razas de lana fina (Merino y Merilin) presentan una estación reproductiva similar, mientras que la raza Corriedale presentaría una estación reproductiva más corta (diciembre-enero a junio-julio).

No existen diferencias entre corderos nacidos en otoño o en primavera con respecto al desarrollo testicular, a pesar de que los animales nacidos en primavera presentan mayor secreción de LH y los animales nacidos en otoño presentan mayor secreción de FSH (Lafortune y col., 1984b; Cook y Rawlings, 1986). La maduración sexual en el cordero macho estaría compuesta por 2 fases, una independiente del fotoperíodo y otra dependiente (Wood y col., 1991b). El aumento precoz de gonadotropinas en el cordero joven, que deriva en un aumento en la concentración de testosterona y en el comienzo de la actividad espermatogénica, se considera que es menos dependiente del fotoperíodo. Una vez que la función testicular del cordero se aproxima a la del adulto, la posterior maduración sexual para alcanzar la plena fertilidad es más fotoperíodo dependiente (Howles y col., 1980). Esta sensibilidad al fotoperíodo del cordero macho parece desarrollarse entre los 4 y 6 meses de edad (Courot y col., 1975; Olster y Foster, 1986).

Raza

En los ovinos existe una gran variedad de razas que difieren genotípicamente y fenotípicamente. En los genotipos de mayor fertilidad (razas denominadas prolíficas), la pubertad se manifiesta antes en ambos sexos en comparación con otras razas (Dickerson y Lusted, 1975; Belibasaki y Kouimtzis, 2000). Ejemplo de estas razas son la Finnish Landrace y la Friesland. Estas diferencias en la precocidad estarían relacionadas con una mayor secreción de LH de los genotipos “prolíficos” (Land, 1978; Sanford y col., 1982; Lafortune y col., 1984b). Como vimos anteriormente, también está descrito que las diferentes razas de ovejas difieren sustancialmente en su respuesta a los cambios en el fotoperíodo (Lincoln y col., 1990).

Existen variaciones importantes entre razas en la concentración espermática, siendo los eyaculados de las razas carniceras más concentrados que los observados en razas laneras (Hochereau de Reviere y col., 1985). Con respecto a las razas más utilizadas en Uruguay (Merino, Corriedale, Ideal y Merilin), la raza Corriedale presentó una menor concentración en el eyaculado en comparación con las otras tres razas evaluadas en el trabajo realizado por Fernández Abella y col. (1993). En el mismo trabajo, respecto a la circunferencia escrotal, no se encontraron diferencias entre razas. Esto coincide con los resultados descritos anteriormente por Bonino Morlán y col. (1987).

Sanidad

Existen enfermedades infecciosas y metabólicas que afectan varios procesos reproductivos, principalmente la producción espermática en el carnero (Castrillejo, 1987). Además, se considera que cualquier evento que limite la tasa de crecimiento de un carnero durante su desarrollo prepuberal (ya sea desorden metabólico, enfermedad o lesión) retrasa, pero no impide que eventualmente se manifieste la pubertad (Bester, 2006).

Clima

En el carnero las elevadas temperaturas actúan directamente sobre el testículo, disminuyendo la síntesis de testosterona, alterando la espermatogénesis y afectando la fase de maduración en el epidídimo (Dutt y Hamm, 1957). Esto conlleva una disminución en la fertilidad (Howarth, 1969). Cuanta más alta es la temperatura interna del testículo y la duración de esta temperatura, mayor será el daño producido (Dun, 1956; Moule, 1970; Rathore, 1970). Cupps y col. (1960) reportaron que la actividad espermatogénica se vio afectada en los períodos de mayor temperatura durante el año. En los animales evaluados en el estudio anteriormente mencionado, las altas temperaturas causaron una disminución en los siguientes parámetros del eyaculado: volumen, concentración de espermatozoides, motilidad, porcentaje de espermatozoides vivos y de espermatozoides normales.

En nuestro país, experiencias realizadas por López Pérez y col. (2011) observaron que los mayores porcentajes de anomalías se registraban en verano, en los meses de mayor calor (diciembre a febrero). A pesar de esto, la incidencia de la temperatura sobre la producción espermática sería de escasa magnitud, actuando principalmente sobre la calidad a partir de la primavera e intensificando sus efectos en diciembre y enero (Fernández Abella y col., 1993). Esto lleva a pérdidas en la fertilidad potencial, principalmente en los animales jóvenes.

Factores sociales

En ovinos, se ha observado que existen efectos sociales que pueden afectar el comportamiento y el desarrollo sexual. La exposición temprana a ovejas en celo, en corderos prepúberes, es un estímulo positivo para el desarrollo del comportamiento sexual (Price y col., 1996). Price y col. (1991) reportaron que una o dos exposiciones breves a hembras en celo en carneros jóvenes, mejoran el desempeño sexual comparable a los registrados en animales adultos.

En tal sentido, ha sido reportado que el contacto heterosexual con la madre y corderas de edad similar es necesario para el desarrollo del comportamiento sexual del macho (Zenchak y col., 1981; Casteilla y col., 1987). Zenchak y col. (1973) (citado por Zenchak y Anderson, 1980) reportaron que 5 de 10 carneros criados en grupos sólo de machos, cuando adultos, fracasaron en el apareamiento con hembras en celo. Esto evidencia que machos criados en estas condiciones muestran poco interés en hembras

cuando son usados como reproductores (Zenchak y Anderson, 1980), y cuando adultos son menos eficientes para obtención de semen con vagina artificial (Casteilla y col., 1987).

Se observó que el rango social de los corderos influye sobre su desarrollo reproductivo. Ungerfeld y González-Pensado (2008) observaron que corderos de alto rango social maduran sexualmente antes que corderos de bajo rango. Los animales de mayor rango social en este estudio aumentaron su peso corporal y su circunferencia escrotal antes que los animales de bajo rango. La producción de semen y el comportamiento sexual entre macho y hembra también se manifestaron antes en los corderos de alto rango que en los de bajo rango. A su vez, se ha determinado que ese desarrollo diferencial previo a la pubertad tiene consecuencias en la actividad sexual que despliegan los carneros de adultos (Ungerfeld y Lacuesta, 2010).

Dentro de los factores sociales, la presencia y el vínculo entre la madre y la cría es de fundamental importancia para el desarrollo posterior de la cría. En los mamíferos, una función fundamental de las madres es amamantar a sus hijos y promover el desarrollo de las preferencias sociales y sexuales (Kendrick y col., 1998). En ovinos, a las pocas horas de haber nacido, los corderos desarrollan una relación fuerte y selectiva con sus madres (Poindron y Le Neindre, 1980), siendo este el modelo social más importante para el recién nacido (Mirza y Provenza, 1992). Este vínculo que se desarrolla entre la madre y su cordero se mantiene al menos por las siguientes 4 semanas (Morgan y Arnold, 1974). Separar al cordero de su madre antes de este tiempo es considerado un estresor, el cual se evidencia por el aumento en la frecuencia de locomoción y de las vocalizaciones, tanto del cordero como de su madre (Alexander, 1977).

La interrupción del vínculo entre la madre y su cría en el período de lactancia temprana ha sido bien caracterizada y se sabe que tiene efecto sobre el desarrollo en el animal. Existen trabajos en otras especies que evalúan cómo el vínculo con la madre puede afectar el desarrollo sexual. Experiencias realizadas en roedores evaluaron el efecto que producía el lamido de la madre en la región ano genital y su repercusión en la vida adulta. Birke y Sadler (1987) observaron que aquellas crías que no fueron lamidas por la madre en la región ano-genital, presentaron intervalos mayores entre montas cuando llegaron a la etapa adulta que aquellos que sí lo fueron. A lo mismo se refiere Moore (1984), quien concluyó que la estimulación del lamido materno a las crías contribuye al desarrollo de la tasa de copulación cuando adultos, lo que significa una menor cantidad de penetraciones por eyaculado. Esta alteración a nivel reproductivo estaría dada porque el lamido maternal en la región perineal de la cría afecta el desarrollo del núcleo espinal del bulbocavernoso. Esta estructura que se encuentra en la médula espinal lumbar, controla los reflejos del pene involucrados en la cópula (Lenz y Sengelaub, 2006). La separación maternal también afecta a nivel central al eje hipotálamo-hipófiso-adrenocortical con la consecuente secreción de corticosterona, la que tendría un efecto de depresión y alteración de la actividad de los correspondientes sistemas fisiológicos en la etapa adulta (Nishi y col., 2012).

En otro estudio realizado en ratas por Lau y col. (1996) se comparó el efecto que tenía sobre la maduración de los órganos reproductivos y el desarrollo sexual la separación entre la cría y su madre durante 6 horas diarias desde los 4 días de edad hasta los 21 días de edad. Los animales privados de sus madres presentaron testículos 8% más livianos que los animales controles. Estas diferencias en el peso testicular no se vieron reflejadas en la función testicular, ya que la producción diaria espermática estimada no presentó diferencias entre ambos grupos. Es de importancia destacar que en este estudio no se realizaron evaluaciones de muestras del eyaculado de los animales y no se realizó determinación de concentración de testosterona plasmática.

En los ovinos, el vínculo emocional entre la madre y su descendencia masculina, más que otros factores sociales o genéticos, puede determinar alteraciones irreversibles, tanto en el ámbito social como sexual, mientras que en hembras esta influencia es más leve y reversible (Kendrick y col., 1998). En el mencionado trabajo, se criaron corderos con cabras pero permitiendo el contacto social con ovejas en todo momento. Durante la etapa de cría, su comportamiento de juego era más parecido al de las cabras, sin embargo parámetros específicos de agresión, vocalización, escalada y alimentación no fueron afectados. No obstante, en la etapa adulta, los corderos machos criados por cabras prefirieron socializar y montar a cabras que a ovejas. Esta tendencia se mantuvo, inclusive después de haber convivido 3 años con animales de su misma especie. Esto evidencia que el comportamiento sexual en los ovinos está vinculado con el ambiente y la experiencia social (más concretamente, el vínculo madre-cría) que tuvieron los animales durante el período prepuberal.

Como antecedente en la especie ovina, Al-Nakib y col. (1986) estudiaron los efectos que tenían los diferentes métodos de crianza (ya sea criado por la madre o criado artificialmente) y la presencia o no de hembras de la misma edad durante la crianza sobre el desarrollo sexual en corderos machos. Los animales criados con las madres presentaron un mayor crecimiento corporal, mayor tamaño testicular y mayor concentración sérica de testosterona en comparación con los animales criados artificialmente. Con respecto al semen, los animales criados con las madres presentaron semen con mayor concentración en comparación con los animales criados artificialmente (a los 6, 7 y 8 meses de edad). La presencia o no de hembras de la misma edad durante los primeros 2 meses de vida no tuvo ningún efecto sobre las características medidas. Sin embargo, sí tuvo efecto la presencia luego de los 2 meses de edad sobre el peso corporal, el diámetro de los testículos y la concentración sérica de testosterona. Por otro lado, los animales que tuvieron contacto con las hembras de edad similar durante los 2 primeros meses de vida vieron afectada su calidad espermática, ya que se evidenció un menor porcentaje de espermatozoides normales a los 6 meses de edad y menor concentración en el eyaculado a los 7 y 8 meses. También se comprobó menor motilidad espermática y menor porcentaje de espermatozoides vivos a los 8 meses de edad, en comparación con los animales que no tuvieron contacto con hembras de la misma edad antes del destete. Los resultados registrados por Al-Nakib y col. (1986) con respecto a la concentración sérica de testosterona no coinciden con los registrados anteriormente por Illius y col. (1976), los

cuales no encontraron diferencias entre los tratamientos planteados en su trabajo. Estos autores plantearon diferentes situaciones en el ambiente social y en el método de crianza de los corderos machos para ver si esto afectaba o no el patrón de secreción de testosterona durante el desarrollo sexual. Por lo tanto, no estaría claro qué ocurre con la concentración sérica de testosterona durante el desarrollo sexual del cordero macho sometido a diferentes métodos de crianza, ya que existen resultados contradictorios.

Como fue planteado anteriormente, fue observado que la presencia y el vínculo con la madre durante la crianza afecta el peso corporal, la concentración sérica de testosterona, la circunferencia escrotal y los parámetros seminales del cordero pero resta por dilucidar qué sucede con la precocidad y/o desarrollo sexual en machos. En el presente estudio se plantea evaluar cómo se afecta la precocidad y el desarrollo sexual de la cría con la ausencia de la madre en los primeros meses de vida. Comparando la metodología del trabajo con respecto al trabajo de Al-Nakib y col. (1986) se plantea: realizar muestreos más frecuentes (cada 7-15 días) de las características a evaluar (peso corporal, circunferencia escrotal, concentración sérica de testosterona y parámetros seminales), comenzando con estos muestreos desde una edad más temprana (a partir de los 2,5 meses de edad) y determinar la edad a la pubertad mediante el seguimiento de las características seminales. También, tomando en cuenta que el crecimiento de los corderos criados artificialmente fue menor que aquellos criados naturalmente, entre varios factores porque le dieron sustituto lácteo y no propiamente leche de oveja, planteamos ajustar la cantidad de alimento ingerida y utilizar leche de oveja. Además, si hay diferencias de peso durante la lactancia es difícil obtener conclusiones si los efectos reproductivos a observar o a evaluar son debidos a las diferencias de peso y nutrición o a los efectos sociales. De manera de reducir las diferencias sociales entre grupos, se colocarán ovejas con cordero al pie de edad similar con los animales criados artificialmente. Se propone generar dos condiciones bien diferentes y extremas en el sistema de crianza de corderos, utilizando la herramienta productiva del destete como una manera de interrumpir en forma temprana el vínculo madre-cría.

HIPÓTESIS

Los corderos criados con sus madres presentan un desarrollo sexual más temprano que aquellos criados artificialmente.

OBJETIVOS

Determinar si corderos criados artificialmente y con sus madres durante los primeros 2,5 meses de vida presentan diferencias en la circunferencia escrotal, la concentración sérica de testosterona y los parámetros seminales durante la primera estación reproductiva.

MATERIALES Y MÉTODOS

Manejo de los animales

El trabajo se realizó en la Unidad de Ovinos del INIA - La Estanzuela, Colonia. Se utilizaron 27 carneros de raza Ideal, nacidos en el mes de setiembre del 2011 (hijos de 3 carneros y nacidos de parto único con un máximo de 12 días de diferencia). Antes de la parición las madres permanecieron en el mismo lugar y se les brindaron las mismas condiciones. Los corderos fueron asignados a dos grupos experimentales homogéneos de acuerdo al día de nacidos y el peso al nacer: 1) corderos criados artificialmente (grupo CA, n=14) los cuales fueron separados de las madres a las 24-36 horas después de nacidos; 2) corderos criados por su madre (grupo CM, n=13) los cuales permanecieron con la misma hasta los 75 días de vida.

Los corderos criados artificialmente succionaban la leche de sus propias madres que fueron previamente ordeñadas u ordeñes de otras ovejas, las cuales se administraron a través de tetinas artificiales. La cantidad de leche se ajustó para mantener un peso corporal similar al de los corderos CM, de manera que no existiera diferencias en el peso corporal para evitar ese efecto. Durante los primeros 7 días de vida se les suministró 0,5-0,7 L divididos en 6 tomas diarias, a las 8:00 h, 10:00 h, 12:00 h, 14:00 h, 16:00 h y 19:00 h. Desde el día 8 al 15 se les dio 0,8-1 L divididos en 4 tomas diarias a las 8:00 h, 12:00 h, 16:00 h y 19:00 h. Desde el día 16 hasta el día de destete se les suministró 3 tomas diarias 8:00 h, 12:00 h y 19:00 h. A partir del día 16 hasta el día 30 se les suministró 1,0-1,3 L, y desde el día 31 hasta el día 75, se les dio 1,4-1,6 L. Durante la alimentación los corderos CA tenían solo el mínimo contacto necesario con los seres humanos. Los animales de ambos grupos se pesaron semanalmente.

Durante los primeros 15 días de vida, todos los corderos se alojaron en dos corrales cerrados durante la noche, con una temperatura ambiental de 20 a 23°C. A partir de los 15 días, los dos grupos se manejaron en diferentes potreros de 25x50 m cada uno. Los corderos tenían libre acceso a sombra artificial hecha con una tela de sombra con el apoyo de un cuadrante de hierro (área= 4,5m², altura= 0,8m) y un pedazo de madera (0,2m de alto x 0,2m de ancho x 2m de largo), que se colocó en el potrero de los corderos que podían usarlo para jugar. Para reducir las diferencias en las relaciones sociales, se alojaron 4 ovejas adultas que tenían corderos de edad similar con los corderos CA. Todos los corderos recibieron ración sólida desde el día 20 de nacidos, pastoreando sobre pasturas mejoradas y tuvieron libre acceso al agua.

El destete se realizó cuando los corderos tenían en promedio 75 días de vida (entre 69 y 81 días de edad). Las madres de los corderos CM y las 4 ovejas con corderos alojadas en el potrero de los corderos CA fueron trasladadas a otro potrero donde no tenían contacto visual ni acústico con los corderos en experimentación. En ese mismo momento los corderos CA dejaron de recibir la leche materna.

Extracción de semen, determinación de parámetros seminales y circunferencia escrotal

La determinación de la circunferencia escrotal y la colecta de muestras de semen de los animales se realizaron cada 15-20 días, desde las 9 semanas de vida de los animales (noviembre de 2011) hasta las 39 semanas de vida (junio de 2012). Se determinó la circunferencia escrotal, en centímetros, con una cinta métrica. Para ello se procedió de acuerdo a la metodología descrita por McGowan y col. (1995): con el animal en posición "sentada", primero se descendieron ambos testículos dentro de la bolsa escrotal colocándose los dedos en la zona craneo lateral del cuello del escroto sosteniéndolos firmemente en esta posición, y posteriormente se procedió a colocar la cinta a la altura del diámetro mayor debiendo estar ajustada a la piel. La tensión debe ser tal que los testículos permanezcan juntos, repitiéndose la operación para confirmar la medida obtenida. Las muestras seminales se obtuvieron mediante electroeyaculador (Fuhijira Industry, Tokyo, Japón) equipado con un vástago de 30 x 1,5 cm con 4 electrodos circulares de 1 cm de ancho. Se comenzaba con un estímulo de 5 V durante 2-3 segundos, descansando 2 segundos. Se iba aumentando progresivamente el voltaje hasta 10 V, realizando un promedio de 15 a 20 electroestimulaciones. Previo a la obtención de las muestras seminales se realizó la limpieza de la zona prepucial. Inmediatamente de obtenido el semen se determinó:

- a) motilidad masal (MM). La valoración se realizó colocando una gota de semen sobre un portaobjeto limpio, seco y templado (37°C), se cubrió y se observó la onda producida a bajo aumento (40x o 100x) (Evans y Maxwell, 1990). La estimación de la motilidad de los espermatozoides se hace sobre la base del vigor o potencia de la onda según si está o no presente dicho movimiento. Normalmente se valora en una escala de 0 a 5 puntos. A pesar de ser una forma de valoración subjetiva, con la práctica se puede realizar una estimación bastante segura (Evans y Maxwell, 1990). Para obtener una descripción más precisa de la escala ver la tabla 1 (anexos).
- b) porcentaje de espermatozoides motiles y con motilidad progresiva: se realizó utilizando microscopio óptico de contraste de fase. Se depositaba una gota de la muestra de semen sobre un portaobjeto previamente atemperado a 37°C en platina térmica. Las muestras fueron observadas a un aumento de 400x y se estimaba qué porcentaje de espermatozoides eran motiles y presentaban movimiento progresivo.
- c) volumen: para realizar la determinación de este parámetro se utilizó micropipeta (Gilson).
- d) pH (mediante tira colorimétrica).
- e) color. El color normal del semen del carnero varía entre un blanco lechoso a un crema pálido (Bag y col., 2002).
- f) consistencia.

Se fijaron muestras en formol-citrato para su posterior evaluación morfológica y acrosómica. A su vez, se incubó una muestra en solución hiposmótica Host (100 mOsm) durante 15 minutos a 37°C (posteriormente fijadas en formol-citrato) para la determinación de porcentaje de espermatozoides vivos. Todas las muestras se observaron utilizando un

microscopio óptico con contraste de fase (Nikon, Japón, Modelo Eclipse E200, China) a un aumento de 400x en el Laboratorio de Fisiología de la Facultad de Veterinaria, donde se determinó:

- a) la concentración de espermatozoides en el eyaculado mediante cámara de Neubauer.
- b) la cantidad de espermatozoides por eyaculado: este valor se obtuvo multiplicando la concentración (espermatozoides/mL) por el volumen del eyaculado.
- c) el porcentaje de espermatozoides morfológicamente anormales: las anomalías presentes en el eyaculado se clasificaron en primarias (anomalías que se producen durante la espermatogénesis en el testículo) y secundarias (que ocurren durante la maduración en el epidídimo) (Barth y Oko, 1989). (tabla 2, ver anexos).
- d) la integridad del acrosoma (íntegros, dañados y perdidos) (Pursel y Johnson, 1974).
- e) porcentaje de espermatozoides vivos: se utilizó la técnica desarrollada por Jeyendran y col. (1984). Los espermatozoides que presentan su membrana intacta cuando son colocados en una solución hiposmótica reaccionan permitiendo el ingreso de agua por diferencia de presiones. A la observación microscópica, los espermatozoides que presentan su membrana intacta se evidenciaron por presentar “hinchazón” a nivel de la cola.

Se evaluaron 100 espermatozoides tanto para el porcentaje de anomalías espermáticas, como para la integridad acrosómica y Host. Se consideró que los animales habían alcanzado la pubertad cuando en el eyaculado presentaban 50×10^6 espermatozoides/mL y un 10% de los espermatozoides eran motiles.

Índice de calidad espermática (I.C.E.)

El I.C.E fue originalmente desarrollado para bovinos por Godfrey y col. (1990) y adaptado para carneros por Fernández Abella y col. (1993). Se calculó para cada animal en cada muestreo combinando los valores de: motilidad masal, porcentaje de espermatozoides vivos, porcentaje de espermatozoides normales y concentración. El índice se calcula utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{I.C.E.} = \frac{\text{Motilidad masal} + \% \text{ spz vivos} + \% \text{ spz normales} + \text{concentración}}{4}$$

Los tres últimos componentes son llevados a una escala de 0 a 5 según el siguiente criterio que se puede observar en la tabla 3 (ver anexos).

Muestras de sangre y determinación de la concentración de testosterona

Las muestras de sangre se obtuvieron cada 7-15 días mediante venopunción yugular. A partir de las mismas se determinó las concentraciones séricas de testosterona por RIA, utilizando un kit comercial de fase sólida (TKPG, Count-A Count, Siemens, Los Ángeles, CA, EEUU). El coeficiente de variación intra-ensayo e inter-ensayo fueron menores al 6% y la sensibilidad fue de 4,7 ng/dL.

Análisis estadísticos

Los parámetros seminales, el peso, la circunferencia escrotal, la relación circunferencia escrotal/peso y las concentraciones séricas de testosterona entre ambos grupos (CA y CM) fueron comparados por ANOVA para mediciones repetidas, donde se incluyó el efecto del grupo (CA vs CM), del tiempo y la interacción entre ambos. La edad a la pubertad entre ambos grupos fue comparado por ANOVA.

RESULTADOS

No se observó efecto grupo en las variables evaluadas en este trabajo, aunque se observaron diferencias significativas entre grupos en momentos puntuales en algunas de ellas que serán detalladas a continuación.

Peso

No hubo efecto grupo en los cambios de peso hasta la semana 39 ($p=0,4$). Se encontró efecto de tiempo en los cambios de peso ($p<0,0001$) el cual se incrementó significativamente desde la semana 11 hasta la semana 25 ($p<0,0001$), manteniéndose luego relativamente constante hacia el final del periodo (Figura 1). Hubo interacción entre grupo y tiempo ($p=0,0028$) en los cambios de peso, pero no se encontró diferencia en el peso entre grupos en ninguna semana.

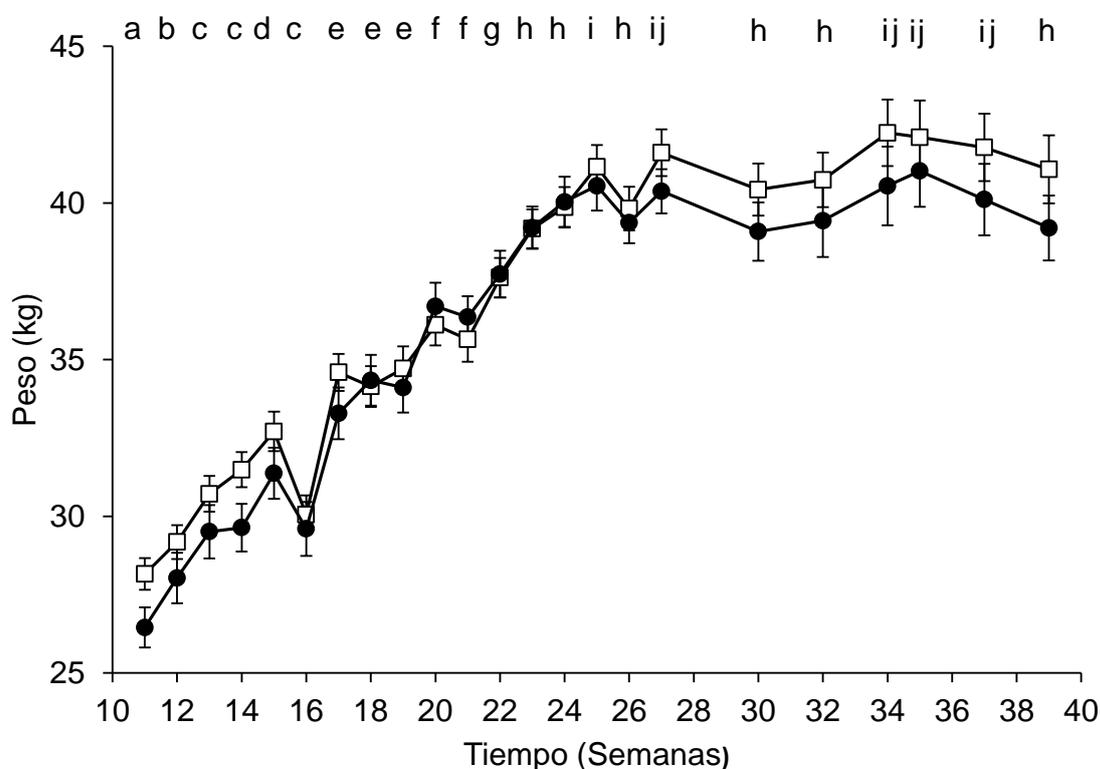


Figura 1. Peso corporal de corderos criados artificialmente (CA: -□-) y criados con sus madres (CM: -●-) a lo largo del desarrollo. Diferentes letras entre semanas difieren ($p<0,05$).

Circunferencia escrotal

No hubo efecto grupo en los cambios de circunferencia escrotal ($p=0,8$), pero sí hubo diferencias significativas entre semanas ($p<0,001$). La CE se incrementó desde la semana 9 llegando a su máximo valor a la semana 29 de edad ($p<0,0001$) (Figura 2). Hubo interacción entre grupo y tiempo ($p=0,036$) en los cambios de circunferencia escrotal, pero no se encontró diferencia significativa en la circunferencia escrotal entre grupos en ninguna semana. Los corderos CM tendieron a alcanzar antes la circunferencia escrotal máxima que los CA ($27,7 \pm 1,0$ vs $29,9 \pm 0,5$ semanas, respectivamente; $p=0,06$).

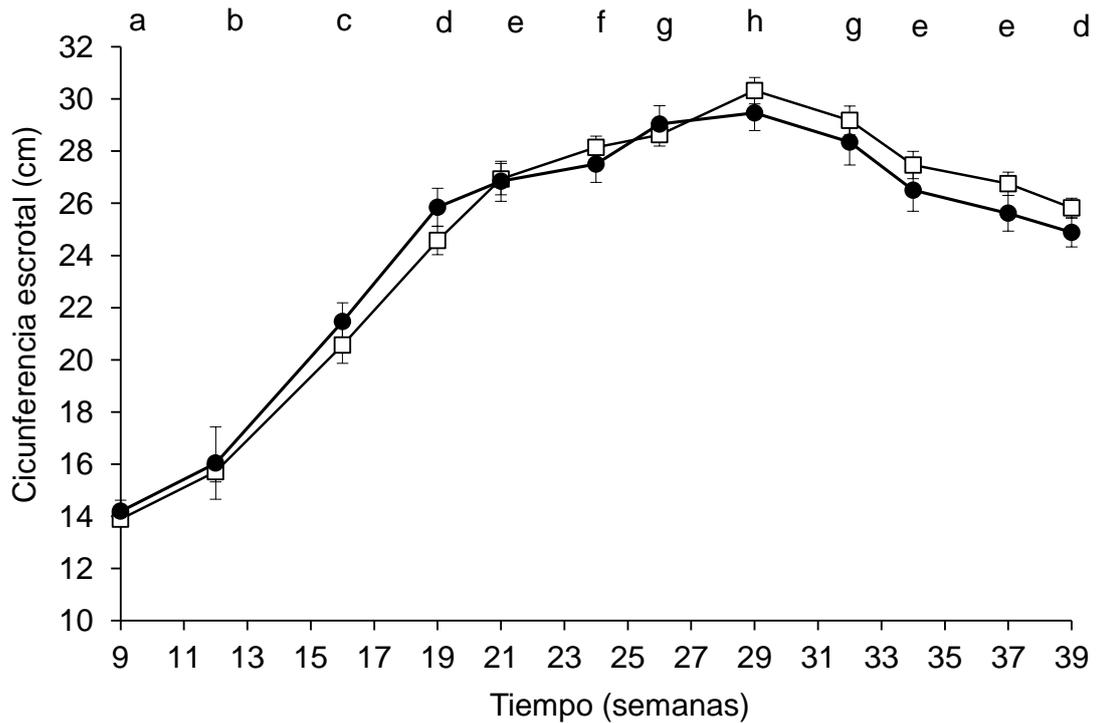


Figura 2. Circunferencia escrotal de corderos criados artificialmente (CA: -□-) y criados con sus madres (CM: -●-) a lo largo del desarrollo. Diferentes letras entre semanas difieren ($p < 0,05$).

Relación circunferencia escrotal/peso corporal

Hubo efecto tiempo ($p < 0,0001$), pero no hubo efecto grupo ($p = 0,2$) en las variaciones de la relación circunferencia escrotal/peso corporal. Sí se evidenció interacción entre grupo y tiempo ($p = 0,01$), la cual puede ser explicada por los mayores valores del grupo CM en las semanas 9 (CM: $0,59 \pm 0,02$ vs CA: $0,54 \pm 0,008$, $p = 0,002$), 16 (CM: $0,73 \pm 0,02$ vs CA: $0,68 \pm 0,02$, $p = 0,03$) y 19 (CM: $0,76 \pm 0,01$ vs CA: $0,71 \pm 0,01$, $p = 0,02$) a favor de los animales CM.

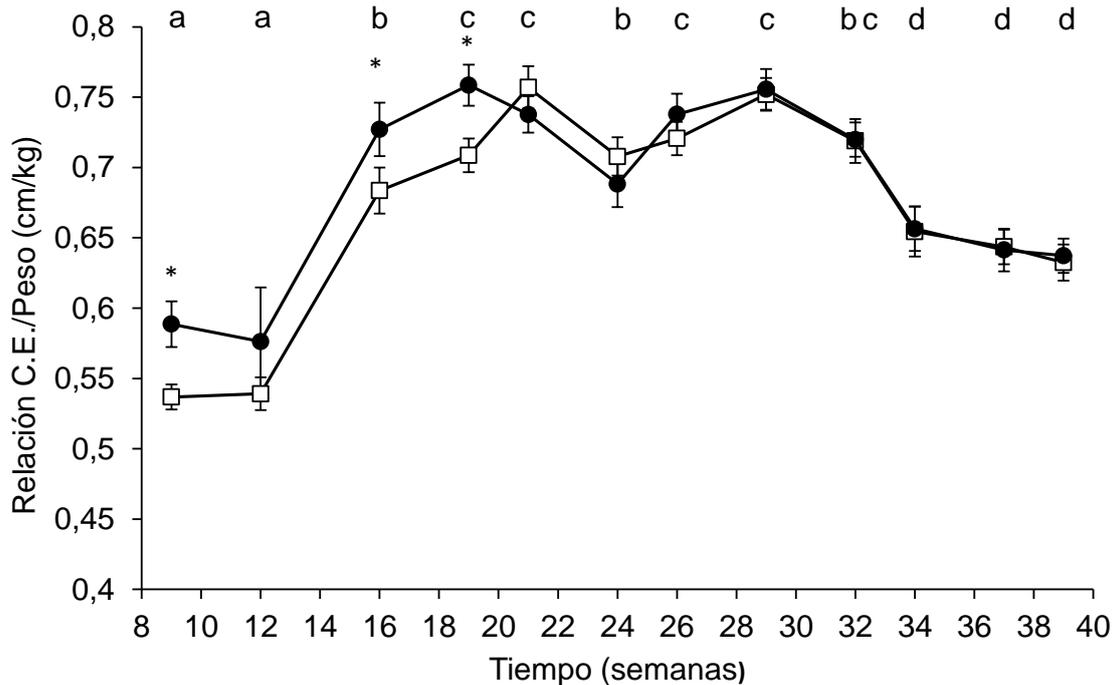


Figura 3. Relación circunferencia escrotal/peso corporal de corderos criados artificialmente (CA: -□-) y criados con sus madres (CM: -●-) a lo largo del desarrollo. Diferentes letras entre semanas difieren ($p < 0,05$). Diferencias en la relación C.E./Peso entre grupos para una misma semana difieren: * $p < 0,05$.

Edad a la pubertad

Los corderos CM tendieron a alcanzar antes la pubertad que los CA ($22,9 \pm 0,7$ vs $25,1 \pm 1,1$ semanas, respectivamente; $p = 0,087$).

Concentración sérica de testosterona

No hubo efecto grupo ($p = 0,9$), pero sí efecto tiempo ($p < 0,0001$) en la concentración de testosterona sérica. La concentración sérica de testosterona se mantuvo relativamente estable desde la semana 0 a la semana 17 (Figura 4). De la semana 17 a la 18 se registró el primer aumento (un pico) importante en la concentración ($p < 0,0001$). A partir de la semana 19 fue mostrando variaciones, hasta llegar a la semana 26, donde se observó el valor máximo ($p = 0,0009$). La concentración disminuyó hasta la semana 37 ($p < 0,0001$), registrándose un nuevo pico en la semana 39 ($p < 0,0001$). Hubo una interacción entre grupo y tiempo ($p < 0,0001$) en los cambios de concentración sérica de testosterona durante el período experimental, el cual puede ser explicado por mayores concentraciones del grupo CM en las semanas 18 (CM: $512,05 \pm 50,4$ vs $290,88 \pm 47,3$, $p = 0,003$), 21 (CM: $395,39 \pm 48,1$ vs CA: $240,81 \pm 51,5$, $p = 0,004$), 26 (CM: $738,1 \pm 139,3$ vs CA: $392,42 \pm 81,3$, $p < 0,0001$) y 30 (CM: $424,36 \pm 118,6$ vs CA: $227,7 \pm 48,2$, $p = 0,01$). Por otro lado, en la semana 25 (CA: $521,58 \pm 138,0$ vs CM: $302,41 \pm 64,2$, $p = 0,01$), en la semana 27 (CA: $513,0 \pm 114,0$ vs CM: $184,82 \pm 68,6$, $p < 0,0001$) y en la semana 38 (CA: $298,25 \pm 73,1$ vs CM: $155,02 \pm 29,0$, $p = 0,05$) se registraron mayores valores en los animales CA.

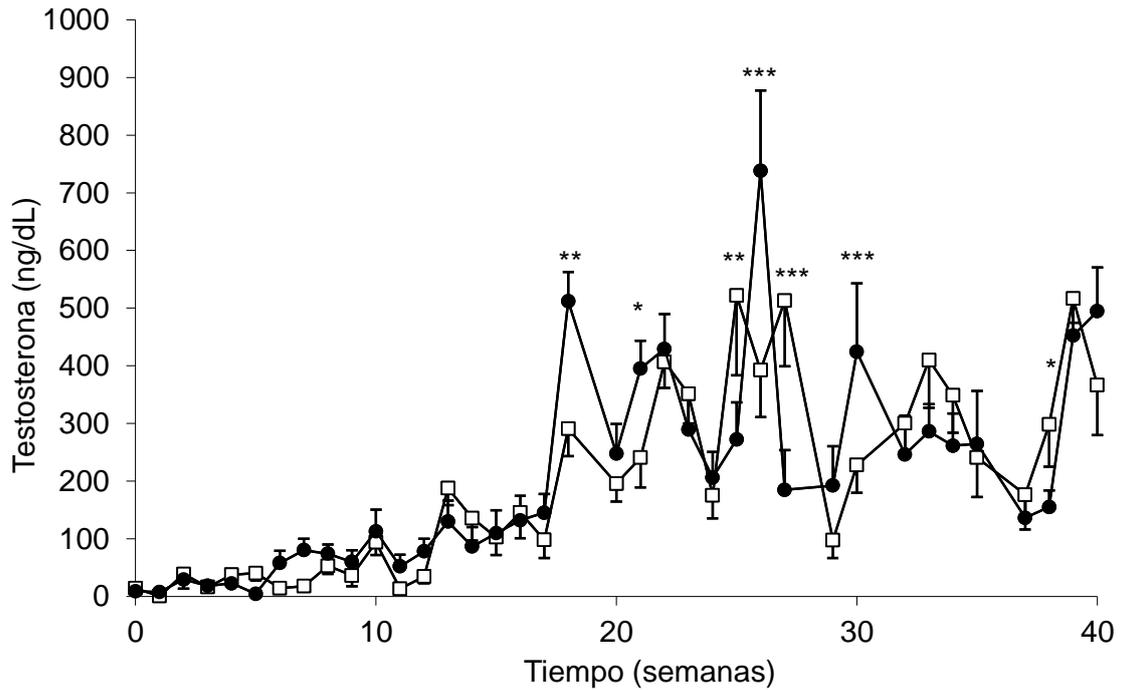


Figura 4. Concentración sérica de testosterona desde la semana 0 a la semana 40 de corderos criados artificialmente (CA: -□-) y criados con sus madres (CM: -●-). Diferencias ente grupos para una misma semana difieren: * $p<0,05$, ** $p<0,01$ y *** $<0,001$.

Parámetros seminales

Motilidad masal

Hubo efecto tiempo ($p<0,0001$), pero no hubo efecto grupo ($p=0,2$) en la MM. La MM se incrementó desde la semana 16 hasta la semana 29 ($p<0,0001$), manteniéndose luego relativamente constante hacia el final del periodo (Figura 5). Hubo tendencia en la interacción entre grupo y tiempo para la MM ($p=0,09$).

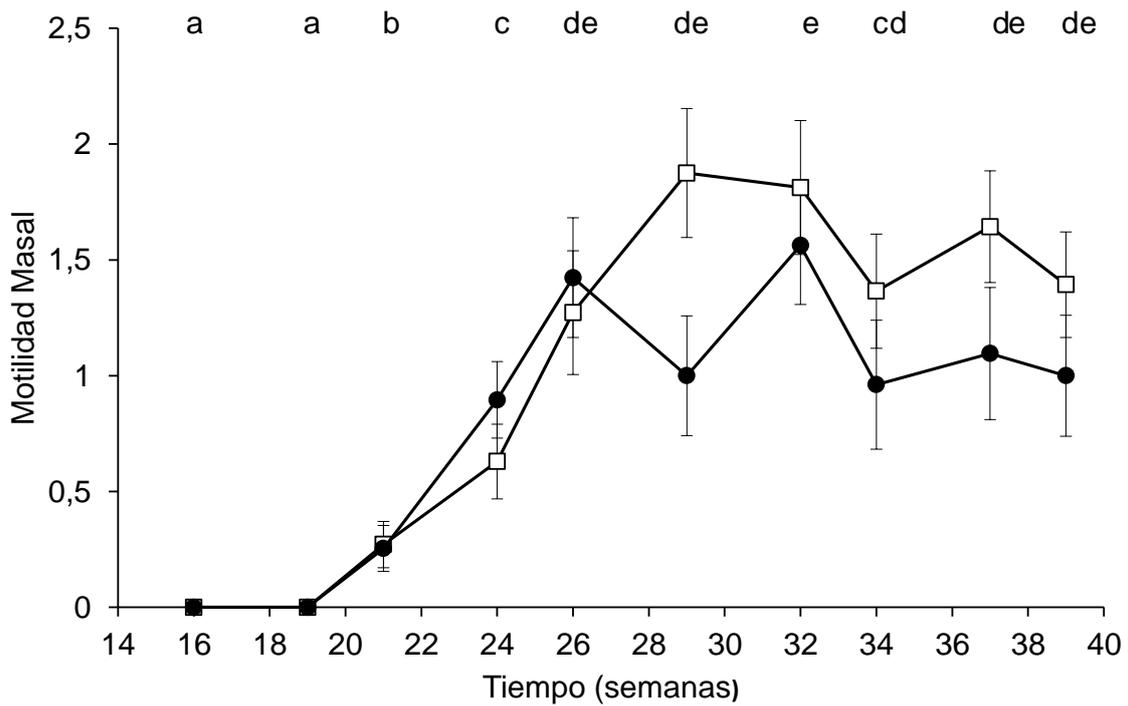


Figura 5. Motilidad masal del eyaculado de corderos criados artificialmente (CA: -□-) y criados con sus madres (CM: -●-) a lo largo del desarrollo. Diferentes letras entre semanas difieren ($p < 0,05$).

Porcentaje de espermatozoides motiles

No hubo efecto grupo ($p = 0,1$) pero sí efecto tiempo ($p < 0,001$) en el porcentaje de espermatozoides motiles. Este se incrementó desde la semana 19 hasta la semana 29 ($p < 0,0001$), manteniéndose luego relativamente constante hacia el final del periodo (Figura 6). No existió interacción entre grupo y tiempo en este parámetro ($p = 0,2$), por lo que los resultados se presentan agrupados para el total de animales.

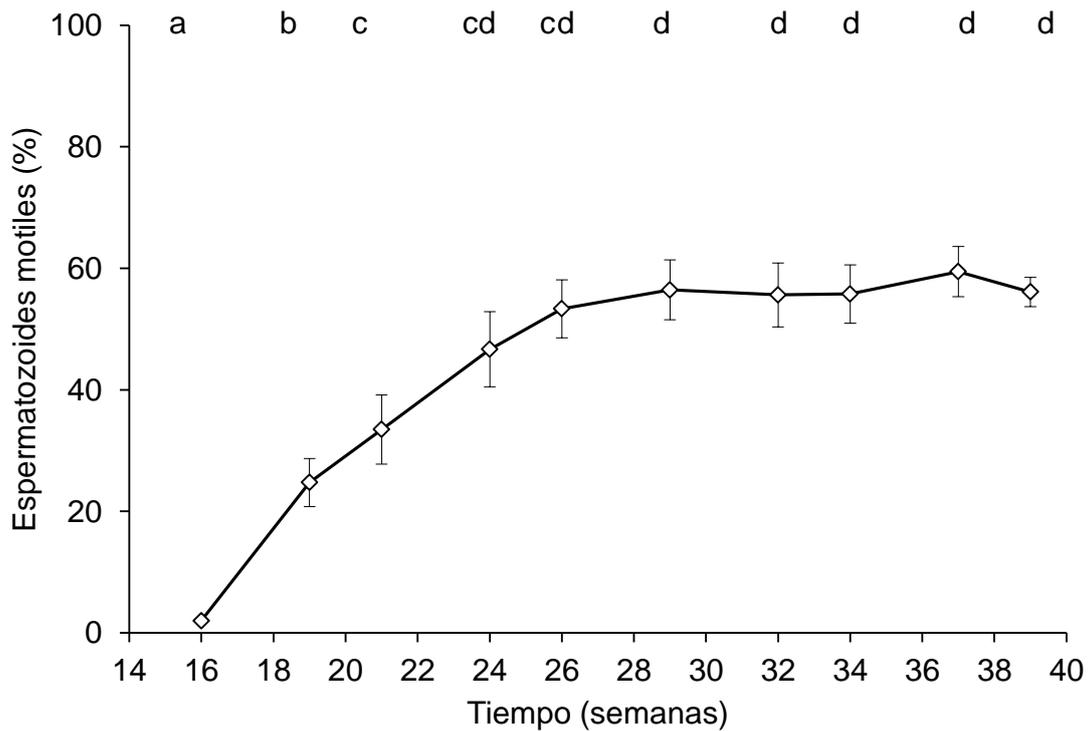


Figura 6. Porcentaje de espermatozoides motiles en el semen de los corderos a lo largo del desarrollo. Diferentes letras entre semanas difieren ($p < 0,05$).

Porcentaje de espermatozoides motiles progresivos

No hubo efecto grupo ($p=0,1$) y sí hubo efecto tiempo ($p < 0,0001$) en este parámetro. El porcentaje de espermatozoides motiles progresivos se incrementó desde la semana 19 hasta la semana 29 ($p < 0,0001$), manteniéndose luego relativamente constante hacia el final del periodo (Figura 7). Se evidenció interacción entre grupo y tiempo ($p=0,04$), la cual puede ser explicada por la diferencia entre grupos en la semana 29 (CA: $61,25 \pm 6,41$ vs CM: $37,91 \pm 6,14$, $p=0,003$).

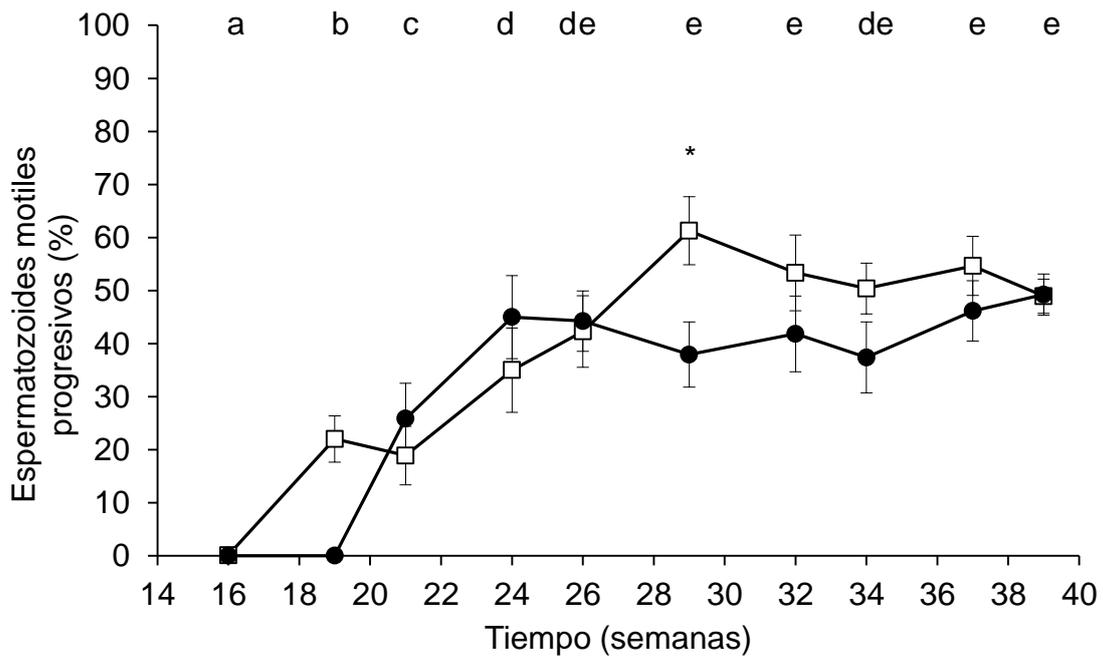


Figura 7. Porcentaje de espermatozoides motiles progresivos de corderos criados artificialmente (CA: -□-) y criados con sus madres (CM: -●-) a lo largo del desarrollo. Diferentes letras entre semanas difieren ($p < 0,05$). Diferencias en el porcentaje de espermatozoides motiles progresivos entre grupos para una misma semana difieren: * $p < 0,05$.

Volumen

No hubo efecto grupo ($p = 0,7$) pero sí efecto tiempo ($p < 0,001$) en el volumen del eyaculado. Este se incrementó desde la semana 9 hasta la semana 34 ($p < 0,0001$), disminuyendo la semana 39 ($p = 0,0170$). (Figura 8). No existió interacción entre grupo y tiempo en este parámetro ($p = 0,4$), por lo que los resultados se presentan agrupados para el total de animales.

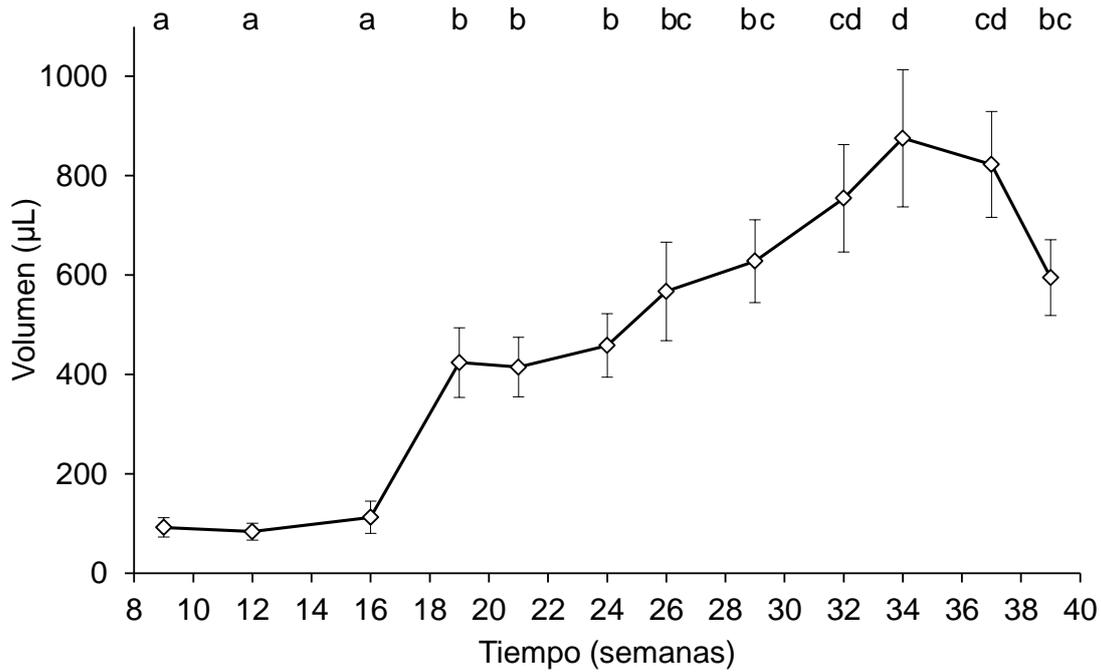


Figura 8. Volumen del eyaculado de los corderos a lo largo del desarrollo. Diferentes letras entre semanas difieren ($p < 0,05$).

pH

No hubo efecto grupo ($p=0,1$) ni efecto tiempo ($p=0,5$) en el pH del semen durante el período experimental. No existió interacción entre grupo y tiempo en este parámetro ($p=0,5$).

Concentración

No hubo efecto grupo ($p=0,8$) pero sí efecto tiempo ($p < 0,001$) en la concentración del eyaculado. Este parámetro se incrementó desde la semana 19 hasta la semana 32 ($p < 0,001$), disminuyendo en la semana 34 ($p < 0,001$) y luego manteniéndose relativamente constante hacia el final del periodo (Figura 9). No existió interacción entre grupo y tiempo en este parámetro ($p=0,3$), por lo que los resultados se presentan agrupados para el total de animales.

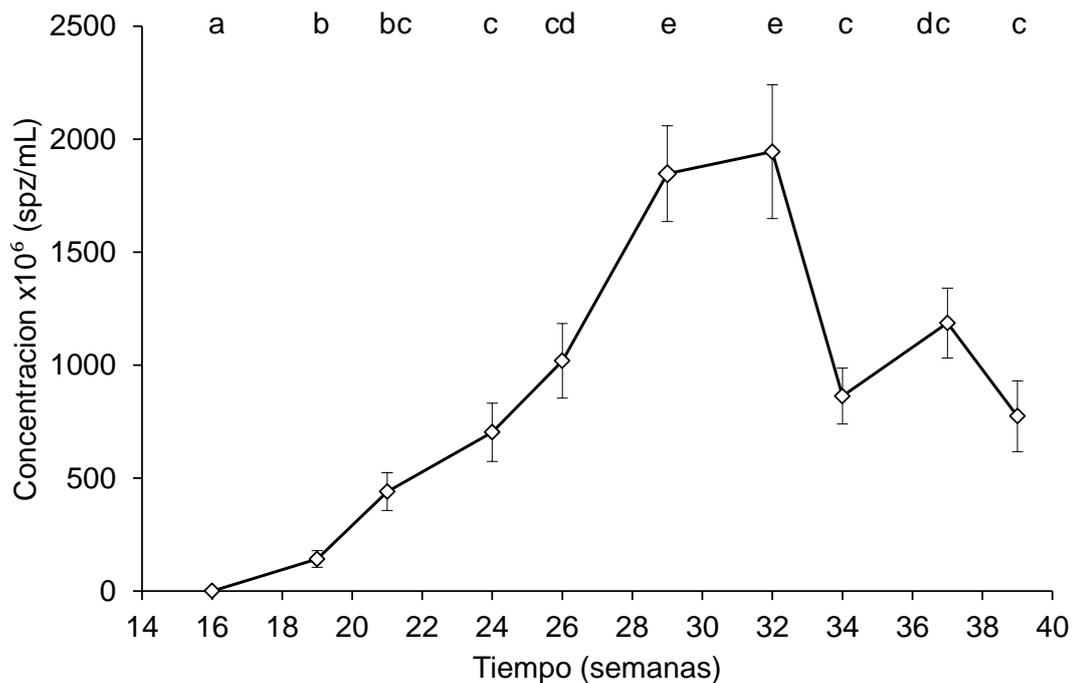


Figura 9. Concentración espermática del eyaculado de los corderos a lo largo del desarrollo. Diferentes letras entre semanas difieren ($p < 0,05$).

Total de espermatozoides en el eyaculado

No hubo efecto grupo ($p=0,6$) pero sí efecto tiempo ($p=0,003$) en esta variable. El total de espermatozoides en el eyaculado se incrementó desde la semana 19 hasta la semana 32 ($p < 0,001$), para luego disminuir hasta la semana 39 ($p=0,006$) (Figura 10). No existió interacción entre grupo y tiempo en este parámetro ($p=0,7$), por lo que los resultados se presentan agrupados para el total de animales.

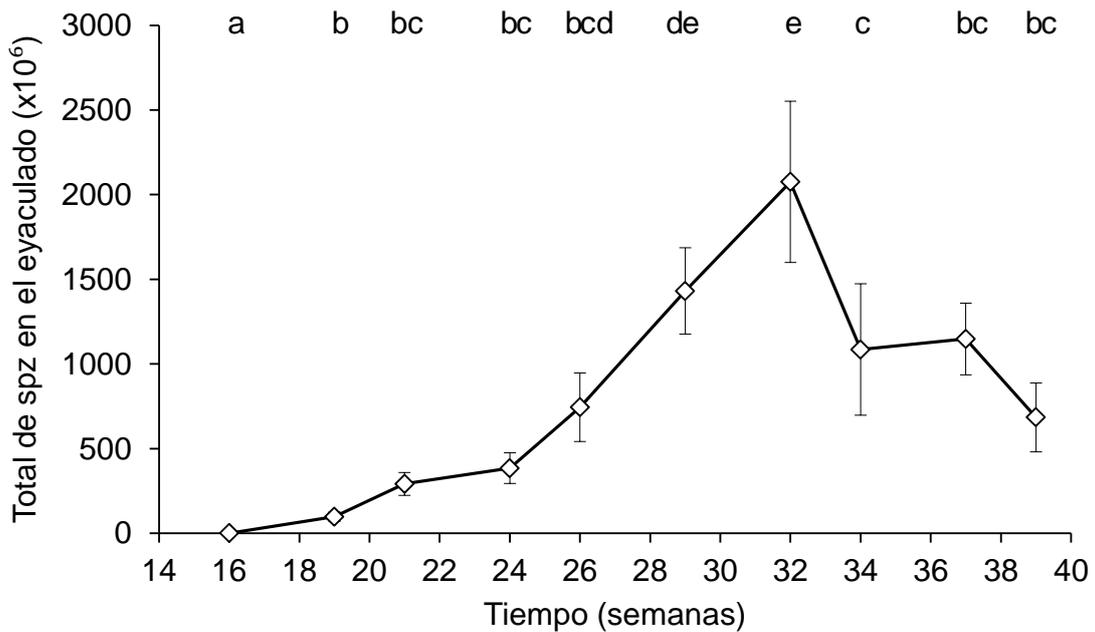


Figura 10. Número total de espermatozoides en el eyaculado de los corderos (◊-) a lo largo del desarrollo. Diferentes letras entre semanas difieren ($p < 0,05$).

Porcentaje de espermatozoides vivos

No hubo efecto grupo ($p=0,1$) pero sí efecto tiempo ($p=0,0002$) en este parámetro. No existió interacción entre grupo y tiempo ($p=0,1$), por lo que los resultados se presentan agrupados para el total de animales.

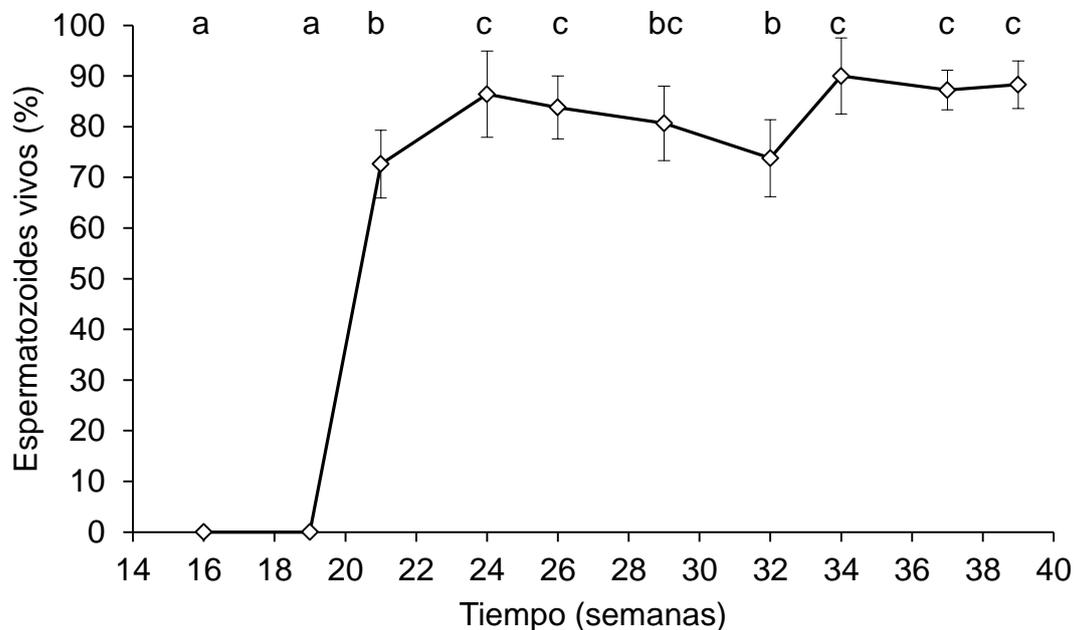


Figura 11. Porcentaje de espermatozoides vivos en el semen de los corderos a lo largo del desarrollo. Diferentes letras entre semanas difieren ($p < 0,05$).

Porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales

Hubo efecto tiempo ($p < 0,0001$), pero no hubo efecto grupo ($p = 0,2$) en esta variable. El porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales aumentó desde la semana 19 hasta la semana 39 ($p < 0,0001$) (Figura 12). Como no hubo efecto de grupo ni interacción entre grupo y tiempo, los resultados para esta variable se presentan agrupados para el total de animales.

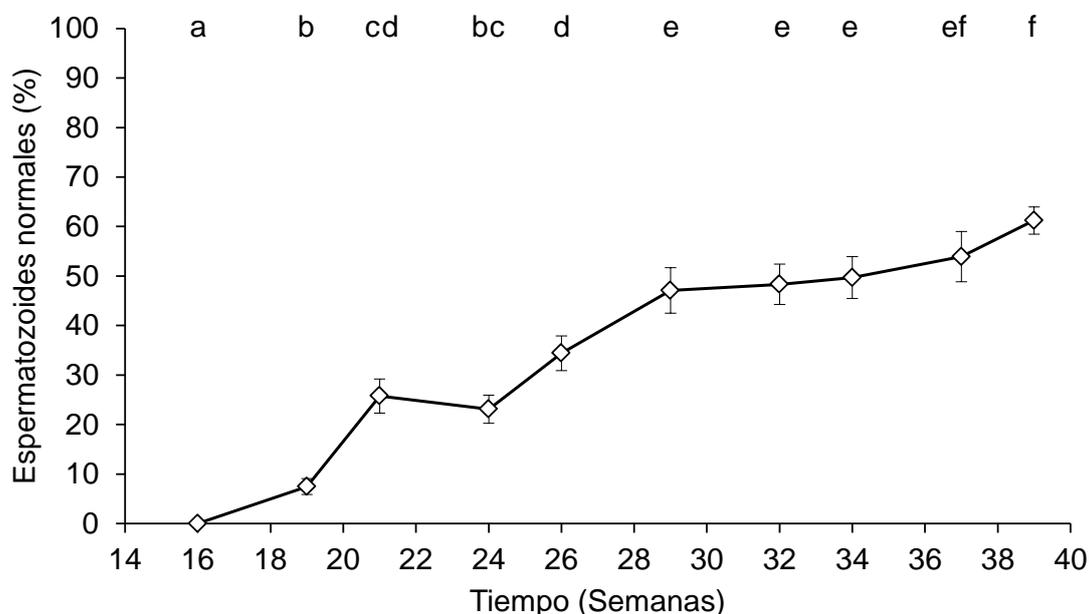


Figura 12. Porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en el eyaculado de los corderos a lo largo del desarrollo. Diferentes letras entre semanas difieren ($p < 0,05$).

Acrosomas íntegros

Hubo efecto tiempo ($p < 0,0001$), pero no hubo efecto grupo ($p = 0,3$) en este parámetro. El porcentaje de acrosomas íntegros aumentó de forma desde la semana 19 hasta la semana 39 ($p < 0,0001$) (Figura 13). No existió interacción entre grupo y tiempo en el porcentaje de acrosomas íntegros de los espermatozoides ($p = 0,3$). Como no hubo efecto de grupo ni interacción entre grupo y tiempo, los resultados para esta variable se presentan agrupados para el total de animales.

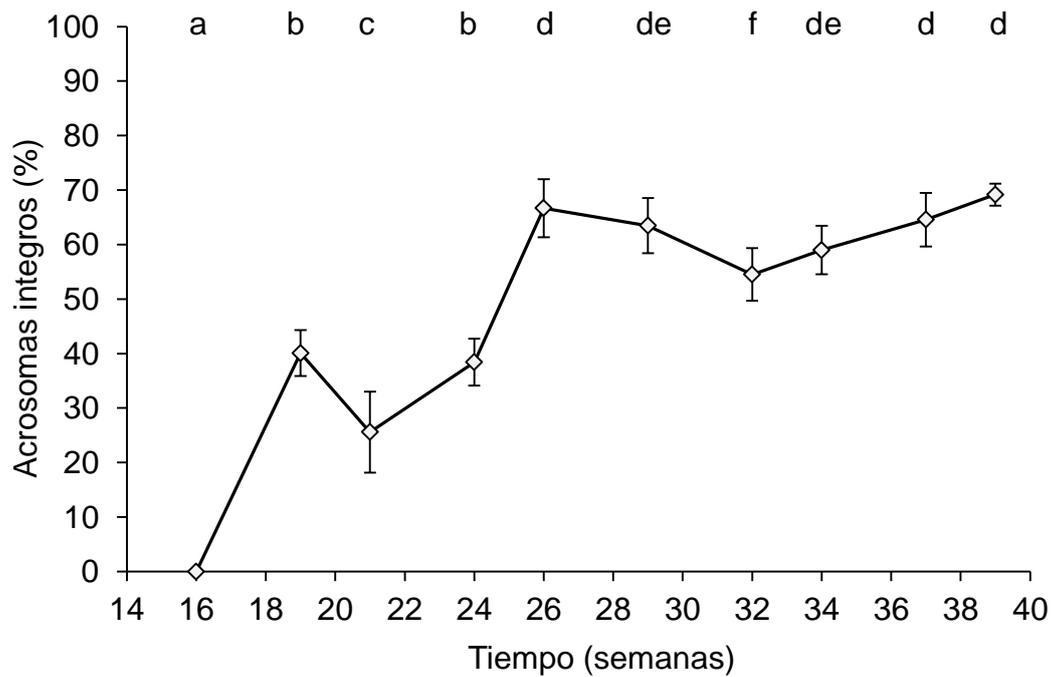


Figura 13. Porcentaje de acrosomas íntegros de los espermatozoides de los corderos a lo largo del desarrollo. Diferentes letras entre semanas difieren ($p < 0,05$).

I.C.E.

No hubo efecto grupo en los cambios de I.C.E. ($p=0,6$), pero si hubo diferencias significativas entre semanas ($p < 0,001$). El índice se incrementó hasta un máximo desde la semana 16 hasta la semana 29 ($p < 0,001$), manteniéndose luego estable hasta la semana 39 (Figura 14). Hubo interacción entre grupo y tiempo ($p=0,003$) en los cambios del I.C.E., el cual puede ser explicado por los mayores valores del grupo CM en las semanas 21 (CM: $1,45 \pm 0,27$ vs CA: $0,59 \pm 0,13$, $p=0,04$) y 29 mayor en los animales CA (CA: $2,99 \pm 0,38$ vs CM: $2,31 \pm 0,32$, $p=0,03$).

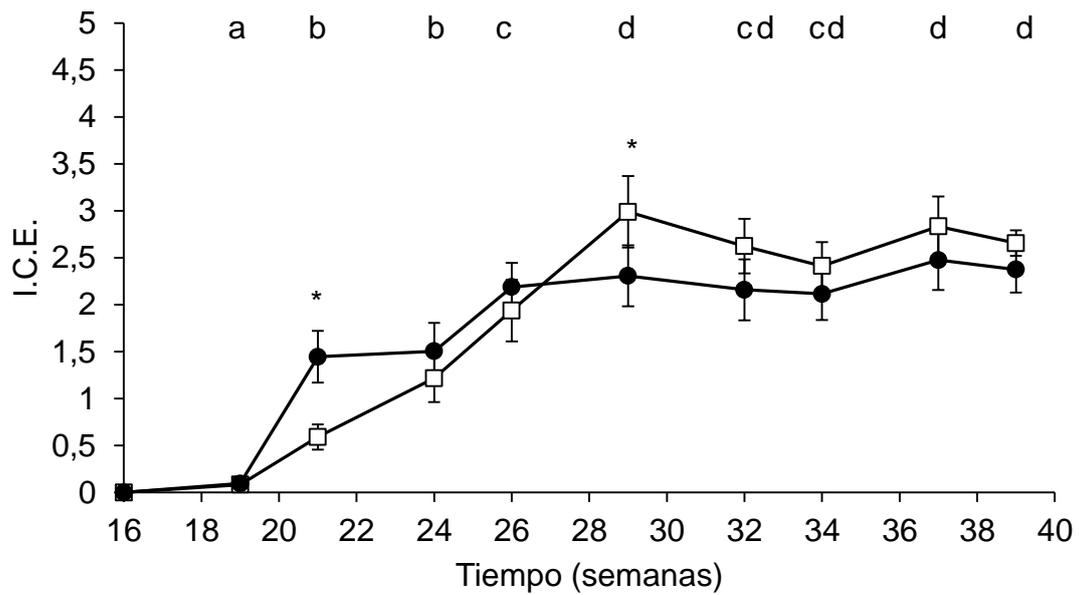


Figura 14. Índice de calidad espermática (I.C.E.) de corderos criados artificialmente (CA: -□-) y criados con sus madres (CM: -●-) a lo largo del desarrollo. Diferentes letras entre semanas difieren ($p < 0,05$). Diferencias en el I.C.E. entre grupos para una misma semana difieren: $*p < 0,05$.

DISCUSIÓN

En esta tesis se demostró que el desarrollo sexual y la edad a la pubertad fueron afectados diferencialmente de acuerdo a la presencia y vínculo que tuvieron los corderos criados con su madre durante la etapa de lactancia. De acuerdo con la hipótesis propuesta, los animales CM tendieron a alcanzar antes la pubertad y tuvieron un desarrollo sexual más precoz que los animales CA, lo cual fue evidenciado por la edad a la pubertad, relación circunferencia escrotal/peso, concentración sérica de testosterona y en el I.C.E. Es importante destacar que en las mencionadas variables las diferencias a favor de los CM se manifestaron antes en estos mismos corderos y además, las diferencias observadas en la edad a la pubertad, la concentración sérica de testosterona y en el I.C.E. coinciden en el tiempo que se observaron. Por otro lado, las diferencias registradas a favor de los animales CA (en la concentración sérica de testosterona y en el I.C.E.) se manifestaron posteriormente en el trabajo. Por lo tanto, los animales CA tuvieron un desarrollo sexual más tardío que los CM.

Estas diferencias nos hacen especular sobre alteraciones en los diferentes mecanismos que regulan el desarrollo sexual, las cuales podrían estar a nivel del hipotálamo (secreción de GnRH), de la hipófisis (diferencias en la secreción de las hormonas FSH y/o LH) o a nivel testicular, o diferencias en más de uno de estos mecanismos. Las diferencias encontradas en el desarrollo sexual y en la edad a la pubertad entre los CA y CM pueden ser parcialmente explicadas por cambios a nivel cerebral durante el desarrollo de los corderos. Se conoce que la separación de la cría de su madre provoca alteraciones hormonales a nivel cerebral. Neumann (2009) encontró diferencias en las concentraciones locales de vasopresina, serotonina y oxitocina entre ratas que fueron separadas de sus madres a las 2 semanas de vida con ratas que permanecieron con las mismas, demostrando cambios comportamentales en la rata adulta, resultando en ratas más agresivas y con una menor actitud maternal. También se sabe que la separación maternal en ratas modifica la funcionalidad del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal de las crías, alterando la capacidad de las mismas de responder y adaptarse a estímulos estresantes (Aisa y col., 2007). La separación de la madre puede interferir con el crecimiento y desarrollo normal de la cría. Zhang y col. (2002) obtuvieron resultados que indican que la privación materna puede alterar el desarrollo normal del cerebro mediante el aumento de la muerte celular de neuronas y células gliales. También a nivel cerebral, Monroy y col. (2010) describieron que la separación maternal altera la morfología dendrítica de las neuronas en la corteza prefrontal y en el hipocampo en su progenie masculina. Por lo cual, en base a los trabajos mencionados, es posible especular que la ausencia de la madre durante la lactancia haya afectado negativamente en diferentes niveles (ya sea en redes neuronales o ambiente hormonal a nivel cerebral) durante el desarrollo de los corderos. Por otro lado, a nivel reproductivo no hay estudios hasta el momento que fundamenten de manera directa las razones de las diferencias entre aquellos corderos que permanecieron con sus madres de aquellos que no permanecieron.

Los animales CM presentaron una relación circunferencia escrotal/peso corporal mayor en las semanas 9, 16 y 19 (semanas que se encuentran dentro

del período prepuberal en el experimento). Es normal que antes y durante el período puberal los testículos crezcan a un ritmo relativamente más rápido que el cuerpo (Dyrmundsson, 1973). Este ritmo de crecimiento fue mayor en los animales CM en comparación con los animales CA. Las diferencias encontradas en esta relación se vieron reflejadas en la secreción de testosterona. Por lo tanto, el aumento de la circunferencia escrotal evidenciaría un desarrollo más precoz de la función espermatogénica en los animales CM.

Con respecto a la concentración sérica de testosterona, no se encontró efecto grupo durante el período experimental. La función de síntesis androgénica a nivel testicular no se encontró afectada por el manejo hecho en el trabajo. Estos resultados coinciden con lo anteriormente reportado por Illius y col. (1976), quienes evidenciaron que el patrón de secreción de testosterona en corderos machos de hasta 21 meses de edad no se ve modificado por el método de crianza (criados naturalmente o artificialmente). Aunque en nuestro trabajo en momentos puntuales se observaron diferencias. Es de importancia destacar que en las semanas 18 y 21 se observaron diferencias a favor de los animales CM, diferencias que precedieron a la edad en la que los animales CM llegaron a la pubertad. Estas semanas en que se observan estas diferencias a favor de los animales ocurren antes que las diferencias a favor de los animales CA y están relacionadas con las otras medidas a favor de los CM (relación circunferencia escrotal/peso corporal e I.C.E.). Esto estaría evidenciando que la función testicular se habría desarrollado más precozmente en los animales criados naturalmente, resultando en una secreción más precoz de mayores niveles de testosterona.

Dentro de los parámetros seminales, los animales CM presentaron mayor I.C.E. en la semana 21. Este índice toma en consideración las variables que afectan en mayor proporción la capacidad de fertilización del semen (concentración, porcentaje de espermatozoides vivos, porcentaje de espermatozoides normales y motilidad masal), haciendo evidente que los animales CM presentaron mejor calidad espermática más tempranamente. Esto estaría relacionado con la mayor secreción de testosterona por parte de los animales CM, dado que en la semana 21 existieron diferencias a favor de los animales criados con la madre, habiendo determinado una mayor actividad espermatogénica.

No se presentaron diferencias en el peso corporal entre los dos grupos de animales, aunque registraron una variación durante el tiempo que duró el experimento. Esto discierne con los resultados obtenidos por Al-Nakib y col. (1986), quienes observaron los animales criados naturalmente presentaron mayor peso corporal que los animales criados artificialmente. El propio autor adjudica esto a que durante el período que duró la crianza artificial (desde las 24-48 h hasta los 30 días del nacimiento), nunca se ajustó la cantidad de alimento que se les ofrecía a los criados artificialmente, y a que los animales criados naturalmente fueron destetados a los 2 meses, en contraposición a los animales criados artificialmente, que fueron deslechados a los 30 días. En comparación, animales criados artificialmente con sustituto lácteo presentan un menor desarrollo corporal que aquellos criados artificialmente con leche de oveja (Lanza y col., 2006), pero se ha reportado que cuando los animales criados artificialmente poseen acceso *ad libitum* al sustituto lácteo no presentan

diferencias en el desarrollo corporal con respecto a aquellos criados naturalmente (Large, 1965). Estas diferencias en la cantidad de alimento ingerido por parte de los animales explicarían las diferencias encontradas en el peso corporal. Los corderos criados naturalmente también pudieron haber tenido una ventaja sobre los animales criados artificialmente, ya que habrían estado más adaptados a utilizar las pasturas antes de ser destetados y por lo tanto más capaces de compensar el cese de ingestión de leche. Las diferencias encontradas en circunferencia escrotal, parámetros seminales y concentración sérica de testosterona a favor de los animales criados naturalmente podrían estar explicadas por el peso y no tanto por el ambiente social. Dado que en nuestro trabajo se tuvo especial cuidado con el control del peso corporal durante la lactancia, en el cual se fue ajustando la cantidad de leche ingerida por los animales criados de manera artificial, podemos sugerir que la nutrición no fue un factor que afectará en forma diferencial el desarrollo reproductivo.

Se observó que la influencia del fotoperíodo afectó la producción espermática de los animales, evidenciándose una disminución marcada en los parámetros de volumen del eyaculado, concentración espermática y motilidad masal a partir de la semana 32. Esto estaría asociado a la disminución de la circunferencia escrotal registrada en ambos grupos al final del experimento. En cambio, el porcentaje de espermatozoides vivos fue aumentando y el porcentaje de espermatozoides anormales fue disminuyendo durante el período experimental para ambos grupos. Esto se encuentra en concordancia con lo descrito por Skinner y Rowson (1968) y Kridli y col. (2010).

Mediante este trabajo se ha generado información que confirmó que la presencia o no de la madre durante la lactancia afecta el desarrollo sexual y la edad a la pubertad en los corderos machos. Esto se vio evidenciado en la edad a la pubertad, en la concentración sérica de testosterona, en la relación circunferencia escrotal/peso corporal y en el I.C.E. En tal sentido, la crianza artificial no presentaría ninguna ventaja desde el punto de vista del desarrollo reproductivo en relación a aquellos criados con la madre y destetados en forma tradicional entre los 2 a 3 meses de edad. Si bien el contacto con los humanos fue mínimo en el grupo CA durante la cría, no se puede descartar el efecto que pueden generar las personas sobre los corderos (ambos grupos) en los diferentes manejos experimentales.

CONCLUSIONES

En conclusión, la presencia y el vínculo con la madre afectan el desarrollo reproductivo de los corderos machos. Los corderos criados con la madre tuvieron un desarrollo reproductivo más precoz que aquellos criados artificialmente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aisa, B., Tordera, R., Lasheras, B., Del Río, J., Ramírez, M. J. (2007). Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 32(3): 256-266.
2. Alexander, G. (1977). Role of auditory and visual cues in mutual recognition between ewes and lambs in Merino sheep. *Applied Animal Ethology*, 3(1): 65-81.
3. Alkass, J. E., Bryant, M. J., Walton, J. S. (1982). Some effects of level of feeding and body condition upon sperm production and gonadotropin concentrations in the ram. *Animal Production*, 34: 265-277.
4. Al-Nakib, F. M. S., Lodge, G. A., Owen, J. B. (1986). A study of sexual development of ram lambs. *Animal Production*, 43: 459-468.
5. Amann, R. P., Schanbacher, B. D. (1983). Physiology of male reproduction. *Journal of Animal Science*, 57 (Suppl.2): 380-403.
6. Arendt, J. (1986). Role of the pineal gland and melatonin in seasonal reproductive function in mammals. *Oxford Reviews of Reproductive Biology*, 8: 266-320.
7. Arnold, G. W., Wallace, S. R., Maller, R. A. (1979). Some factors involved in natural weaning processes in sheep. *Applied Animal Ethology*, 5(1): 43-50.
8. Bag, S., Joshi, A., Naqvi, S. M. K., Rawat, P. S., Mittal, J. P. (2002). Effect of freezing temperature, at which straws were plunged into liquid nitrogen, on the post-thaw motility and acrosomal status of ram spermatozoa. *Animal Reproduction Science*, 72(3): 175-183.
9. Barenton, B., Hochereau-de Reviers, M. T., Perreau, C., Saumande, J. (1983). Changes in testicular gonadotropin receptors and steroid content through postnatal development until puberty in the lamb. *Endocrinology*, 112: 1447-1453.
10. Baronos, S., Mann, T., Rowson, L. E. A., Skinner, J. D. (1969). The effect of nutrition and androgens on the composition of bovine blood plasma and seminal plasma at puberty. *British Journal of Nutrition*, 23: 191-201.
11. Barth, A. D., Oko, R. J. (1989). Abnormal morphology of bovine spermatozoa. Iowa. Iowa State University Press. 285 p.
12. Belibasaki, S., Kouimtzis, S. (2000). Sexual activity and body and testis growth in prepubertal ram lambs of Friesland, Chios, Karagouniki and Serres dairy sheep in Greece. *Small Ruminant Research*, 37(1): 109-113.
13. Bester, N. (2006). Effect of different dietary energy levels on productive and reproductive traits in Dorper rams. Doctoral dissertation, University of the Free State. 158 p.
14. Birke, L., Sadler, D. (1987). Differences in maternal behavior of rats and the sociosexual development of the offspring. *Developmental Psychobiology*, 20: 85-99.

15. Bonino Morlán, J. Cavestany, D., Sienna, R. (1987) Circunferencia escrotal en los carneros según la raza, edad, peso y época del año e incidencia de Brucelosis genital. En: Bonino Morlán, J.; Durán del Campo, A. y Mari, J.J. Enfermedades de los lanares. Montevideo, Hemisferio Sur. V: 3. p: 192-207.
16. Bronson, F.H. (1988) Mammalian reproductive strategies: genes, photoperiod and latitude. *Reproduction, Nutrition, Development*. 28 (2B): 335-347.
17. Brown, B. W. (1994). A review of nutritional influences on reproduction in boars, bulls and rams. *Reproduction, Nutrition, Development*, 34(2): 89-114.
18. Casteilla, L., Orgeur, P., Signoret, J. P. (1987). Effects of rearing conditions on sexual performance in the ram: practical use. *Applied Animal Behaviour Science*, 19(1): 111-118.
19. Castrillejo, A. (1987). Enfermedades de los órganos genitales de los carneros. En: Bonino Morlán J., Duran del Campo A., Mari J.J. Enfermedades de los lanares. Montevideo, Hemisferio Sur. V. 3: 1-47.
20. Cavestany, D. (1986) Algunos Aspectos de la Fisiología Reproductiva del Toro. En: Queirolo, L.; Geymonant, D.; Gómez, G. Aptitud Reproductiva del Toro. Calidad Seminal. Tema II. Montevideo. Series de Publicaciones Misceláneas. p: 1-28.
21. Chandolia, R. K., Bartlewski, P. M., Omeke, B. C., Beard, A. P., Rawlings, N. C., Pierson, R. A. (1997). Ultrasonography of the developing reproductive tract in ram lambs: effects of a GnRH agonist. *Theriogenology*, 48(1): 99-117.
22. Claypool, L. E., Foster, D. L. (1990). Sexual differentiation of the mechanism controlling pulsatile secretion of luteinizing hormone contributes to sexual differences in the timing of puberty in sheep. *Endocrinology*, 126(2): 1206-1215.
23. Cook, S. J., Rawlings, N. C. (1986). Serum androgen and gonadotropin profiles over the first year of life in ram lambs and the effect of season of birth. *Canadian Journal of Animal Science*, 66(1): 67-75.
24. Courot, M. (1962). Développement du testicule chez l'agneau. Etablissement de la spermatogenèse. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 2: 25-42.
25. Courot, M. (1967). Endocrine control of the supporting and germ cells of the impuberal testis. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 2: 89-101.
26. Courot, M. (1971). Etablissement de la spermatogenèse chez l'agneau (*Ovis aries*): étude expérimentale de son contrôle gonadotrope; importance des cellules de la lignée sertolienne. Doctoral dissertation, Université de Paris VI. 200 p.
27. Courot, M., De Reviens, M. M., Pelletier, J. (1975). Variations in pituitary and blood LH during puberty in the male lamb. Relation to time of birth. *Annales De Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 15: 509-516.

28. Courot, M. (1978). Prepubertal development and puberty: comparative aspects. *International Journal of Andrology*, 1(s1): 11-20.
29. Crim, L. W., Geschwind, I. I. (1972). Patterns of FSH and LH secretion in the developing ram: the influence of castration and replacement therapy with testosterone propionate. *Biology of Reproduction*, 7(1): 47-54.
30. Cupps, P. T., McGowan, B., Rahlmann, D. F., Reddon, A. R., Weir, W. C. (1960). Seasonal changes in the semen of rams. *Journal of Animal Science*, 19(1): 208-213.
31. Dacheux, J. L., Pisselet, C., Blanc, M. R., Hochereau-de-Reviere, M. T., Courot, M. (1981). Seasonal variations in rete testis fluid secretion and sperm production in different breeds of ram. *Journal of Reproduction and Fertility*, 61: 363-371.
32. Davis, G. P., Hinch, G. N., Thwaites, C. J., Kinghorn, B. P. (1986). Attainment of puberty in rams selected on weaning weight. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 16: 175-178
33. Desjardins, C. (1978). Endocrine regulation of reproductive development and function in the male. *Journal of Animal Science*, 47(Supplement II): 56-79.
34. Dickerson, G. E., Lusted, D. B. (1975). Breed, heterosis and environmental influences on growth and puberty in ewe lambs. *Journal of Animal Science*, 41(1): 1-9.
35. D'occhio, M. J., Schanbacher, B. D., Kinder, J. E. (1982). Relationship between serum testosterone concentration and patterns of luteinizing hormone secretion in male sheep. *Endocrinology*, 110(5): 1547-1554.
36. Dun, R. B. (1955). Puberty in Merino rams. *Australian Veterinary Journal*, 31(4): 104-107.
37. Dun, R.B. (1956). Temporary infertility of rams associated with flooding. *Australian Veterinary Journal*, 32:1-3.
38. Dutt, R. H., Hamm, P. T. (1957). Effect of exposure to high environmental temperature and shearing on semen production of rams in winter. *Journal of Animal Science*, 16(2): 328-334.
39. Dyrmondsson, O. R. (1973). Puberty and early reproductive performance in sheep rams lambs. *Animal Breeding Abstracts*, 41(9): 419-430.
40. Elmaz, O., Dikmen, S., Cirit, U., Demir, H. (2008). Prediction of postpubertal reproductive potential according to prepubertal body weight, testicular size, and testosterone concentration using multiple regression analysis in Kivircik ram lambs. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 32: 335-343.
41. Evans, G., Maxwell, W. M. C. (1990). Inseminación artificial de ovejas y cabras. Madrid. Acibia, 192 p.
42. Fernández Abella, D.H. (1993) *Principios de Fisiología Reproductiva Ovina*. Montevideo. Hemisferio Sur – Universidad de la República. 247 p.

43. Fernández Abella, D.H., Villegas, N., Echeverría, Robaina, J. (1993). Evaluación de las variaciones estacionales en la producción espermática de cuatro razas ovinas. *Boletín Técnico de Ciencias Biológicas*, 3: 23-34.
44. Ferrell, C. L. (1991). Nutritional influences on reproduction. En: Cole, H.H.; Cupps, P.T. *Reproduction in domestic animals*, 4a ed, San Diego, California, Academic Press, pp. 577-604.
45. Fourie, P. J., Schwalbach, L. M., Nesor, F. W. C., Van der Westhuizen, C. (2004). Scrotal, testicular and semen characteristics of young Dorper rams managed under intensive and extensive conditions. *Small Ruminant Research*, 54(1): 53-59.
46. Forsberg, M. (2002). Estacionalidad Reproductiva: El Significado de la Luz. En: Ungerfeld, R. *Reproducción en los animales domésticos*. Montevideo. Melibea. V. 1. p. 121-138
47. Foster, D. L., Mickelson, I. H., Ryan, K. D., Coon, G. A., Drongowski, R. A., Holt J. A. (1978). Ontogeny of pulsatile luteinizing hormone and testosterone secretion in male lambs. *Endocrinology*, 102:1137-1146.
48. Foster, D. L., Jackson, L. M., Padmanabhan, V. (2006). Programming of GnRH feedback controls timing puberty and adult reproductive activity. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 254: 109-119.
49. Fowler, D. G. (1965). Semen quality of Merino rams. 2. The effects of seasonal changes in day length on semen quality. *Animal Production Science*, 5(18): 247-251.
50. Godfrey, R. W., Lunstra, D. D., Jenkins, T. G., Berardinelli, J. G., Guthrie, M. J., Neuendorff, D. A., Long, C.D., Randel, R. D. (1990). Effect of season and location on semen quality and serum concentrations of luteinizing hormone and testosterone in Brahman and Hereford bulls. *Journal of Animal Science*, 68(3), 734-749.
51. Hastings, M. H., Herbert, J., Martensz, N. D., Roberts, A. C. (1985). Melatonin and the brain in photoperiodic mammals. *Ciba Found Symposium*. Vol. 117: 57-77.
52. Hochereau de Reviere, M. D., Blanc M. R., Courot M., Garnier D. H., Pelletier J., Poirier J. C. (1980). Hormonal profiles and testicular parameters in the lamb. Testicular development, structure and function. *New York, Raven Press*, pp. 237-247.
53. Hochereau-de Reviere, M. T., Blanc, M. R., Colas, G., Pelletier, J. (1985). Parameters of male fertility and their genetic variation in sheep. En: Land, R.B.; Robinson, D.W. *Genetics of Reproduction in Sheep*. Letchworth. Garden City Press Ltd, pp: 301-314.
54. Howarth, B. (1969). Fertility in the ram following exposure to elevated ambient temperature and humidity. *Journal of Reproduction and Fertility*, 19(1): 179-183.
55. Howles, C. M., Webster, G. M., Haynes, N. B. (1980). The effect of rearing under a long or short photoperiod on testis growth, plasma testosterone and prolactin concentrations, and the development of

- sexual behaviour in rams. *Journal of Reproduction and Fertility*, 60(2): 437-447.
56. Jeyendran, R. S., Van der Ven, H. H., Perez-Pelaez, M., Crabo, B. G., Zaneveld, L. J. D. (1984). Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *Journal of Reproduction and Fertility*, 70(1): 219-228.
 57. Kendrick, K.M., Hinton, M.R., Atkins, K. (1998). Mothers determine sexual preferences. *Nature Magazine*, 395: 229-230.
 58. Kilgour, R. J., Pisselet, C., Dubois, M. P., Courot, M. (1998). Ram lambs need FSH for normal testicular growth, Sertoli cell numbers and onset of spermatogenesis. *Reproduction, Nutrition, Development*, 38(5): 539-550.
 59. Kridli, R. T., Abdullah, A. Y., Shaker, M. M., Al-Momani, A. Q. (2010). Age at puberty and some biological parameters of Awassi and its first crosses with Charollais and Romanov rams. *Italian Journal of Animal Science*, 5(2): 193-202.
 60. Lafortune, E., Blanc, M. R., Pelletier, J., Perreau, C., Terqui, M., Hochereau-de Reviers, M. T. (1984). Variations in the plasma levels of gonadotrophin and testosterone and in Leydig and Sertoli cell populations between birth and adulthood in Romanov lambs born in spring or autumn. *Reproduction, Nutrition, Development*, 24: 937-946.
 61. Lafortune, E., Blanc, M.R., Orgeur, P., Pelletier, J., Perreau, C., Terqui, M. (1984) Comparison of the evolution of LH, FSH and testosterone in male spring born lambs of two different breeds. *Reproduction, Nutrition, Development*. 24: 947–952.
 62. Land, R. B. (1978). Reproduction in young sheep: some genetic and environmental sources of variation. *Journal of Reproduction and Fertility*, 52(2): 427-436.
 63. Land, R. B., Carr, W. R. (1975). Testis growth and plasma LH concentration following hemicastration and its relation with female prolificacy in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*, 45(3): 495-501.
 64. Lanza, M., Bella, M., Priolo, A., Barbagallo, D., Galofaro, V., Landi, C., Pennisi, P. (2006). Lamb meat quality as affected by a natural or artificial milk feeding regime. *Meat Science*, 73(2): 313-318.
 65. Large, R. V. (1965). The effect of concentration of milk substitute on the performance of artificially reared lambs. *Animal Production*, 7(03): 325-332.
 66. Lau, C., Klinefelter, G., Cameron, A. M. (1996). Reproductive development and functions in the rat after repeated maternal deprivation stress. *Toxicological Sciences*, 30(2): 298-301.
 67. Leathem, J. H. (1975). Nutritional influences on testicular composition and function in mammals. En: Hamilton, D.W. y Greep, D.O. *Handbook of Physiology*, sect 7: Endocrinology, vol 5, Male Reproductive System. American Phisiology Society, Bethesda, MD: 225-232.

68. Lee V. W., Cumming I. A., De Kretser D. M., Findlay J. K., Hudson B., Keogh E. J. (1976). Regulation of gonadotrophin secretion in rams from birth to sexual maturity. *Journal of Reproduction and Fertility*, 46: 1-6.
69. Lenz, K. M., Sengelaub, D. R. (2006). Maternal licking influences dendritic development of motoneurons in a sexually dimorphic neuromuscular system. *Brain Research*, 1092(1): 87-99.
70. Lévy, F., Keller, M. (2008). Neurobiology of Maternal Behavior in Sheep. *Advances in the Study of Behavior*, 38:399-437.
71. Lincoln, G. A. (1979). Use of a pulsed infusion of luteinizing hormone releasing hormone to mimic seasonally induced endocrine changes in the ram. *Journal of Endocrinology*, 83(2): 251-260.
72. Lincoln, G. A. (1984). Central effects of photoperiod on reproduction in the ram revealed by the use of a testosterone clamp. *Journal of Endocrinology*, 103(2): 233-241.
73. Lincoln, G. A., Davidson, W. (1977). The relationship between sexual and aggressive behaviour, and pituitary and testicular activity during the seasonal sexual cycle of rams, and the influence of photoperiod. *Journal of Reproduction and Fertility*, 49(2): 267-276.
74. Lincoln, G. A., Short, R. V. (1980). Seasonal breeding: nature's contraceptive. *Recent Progress in Hormone Research*, 36: 1-43.
75. Lincoln, G. A., Lincoln, C. E., McNeilly, A. S. (1990). Seasonal cycles in the blood plasma concentration of FSH, inhibin and testosterone, and testicular size in rams of wild, feral and domesticated breeds of sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*, 88(2): 623-633.
76. Lindsay, D. R., Pelletier, J., Pisselet, C., Courot, M. (1984). Changes in photoperiod and nutrition and their effect on testicular growth of rams. *Journal of Reproduction and Fertility*, 71(2): 351-356.
77. Lino, B. F. (1972). The Output of Spermatozoa in Rams II. Relationship to Scrotal Circumference, Testis Weight, and the Number of Spermatozoa in Different Parts of the Urogenital Tract. *Australian Journal of Biological Sciences*, 25(2): 359-366.
78. López Pérez, G. A., Regueiro, M., Castrillejo, P. C. A., Pérez Clariget, R. (2011). La época del año y el plano nutricional y su influencia sobre la morfología espermática en carneros Corriedale en pastoreo. *Veterinaria*, (181): 13-20.
79. Macmillan, K. L., Hafs, H. D. (1968). Gonadal and extra gonadal sperm numbers during reproductive development of Holstein bulls. *Journal of Animal Science*, 27(3): 697-700.
80. Madani, M. O. K., Rahal, M. S., Zawia, M. T., Eluwhaishi, B. A. (1989). Puberty and early sexual development in Libyan fat-tailed ram lambs. *British Veterinary Journal*, 145(3): 276-288.
81. Mandiki, S. N. M., Derycke, G., Bister, J. L., Paquay, R. (1998). Influence of season and age on sexual maturation parameters of Texel, Suffolk and Ile-de-France rams: 1. Testicular size, semen quality and reproductive capacity. *Small Ruminant Research*, 28(1): 67-79.

82. McGowan M., Galloway D., Taylor E., Entwistle K., Johnston P. (1995). *The Veterinary Examination of Bulls*. Brisbane, Ed. Lesley Marman AACV, 81 p.
83. Mirza, S. N., Provenza, F. D. (1992). Effects of age and conditions of exposure on maternally mediated food selection by lambs. *Applied Animal Behaviour Science*, 33(1): 35-42.
84. Monet-Kuntz, C., Hochereau-de Reviers, M. T., Terqui, M. (1984). Variations in testicular androgen receptors and histology of the lamb testis from birth to puberty. *Journal of Reproduction and Fertility*, 70:203-210.
85. Monroy, E., Hernández-Torres, E., Flores, G. (2010). Maternal separation disrupts dendritic morphology of neurons in prefrontal cortex, hippocampus, and nucleus accumbens in male rat offspring. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 40(2): 93-101.
86. Moore, C. (1984). Maternal contributions to the development of masculine sexual behavior in laboratory rats. *Developmental Psychobiology*, 17: 347-356.
87. Morgan, P.D., Arnold, G.W. (1974). Behavioural relationships between merino ewes and lambs during the four weeks after birth. *Animal Production*, 19: 169-176.
88. Moule, G.R. (1970). Australian research into reproduction in the ram. *Animal Breeding Abstracts*, 38: 185-202.
89. Neumann, I.D. (2009). The advantage of social living: Brain neuropeptides mediate the beneficial consequences of sex and motherhood. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 30: 483–496.
90. Newberry, R. C., Swanson, J. C. (2008). Implications of breaking mother–young social bonds. *Applied Animal Behaviour Science*, 110(1): 3-23.
91. Nishi, M., Horii-Hayashi N., Sasagawa T., Matsunaga W. (2012). Effects of early lifestress on brain activity: Implications from maternal separation model in rodents. *General and Comparative Endocrinology*, 181: 306-309.
92. Olster, D. H., Foster, D. L. (1986). Control of gonadotropin secretion in the male during puberty: a decrease in response to steroid inhibitory feedback in the absence of an increase in steroid-independent drive in the sheep. *Endocrinology*, 118(6): 2225-2234.
93. Orgeur, P., Mavric, N., Yvone, P., Bernard, S., Nowak, R., Schaal, B., Levy, F. (1998). Artificial weaning in sheep: consequences on behavioural, hormonal and immuno-pathological indicators of welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, 58(1): 87-103.
94. Orihuela, A., Suárez, E., Vázquez, R. (2004). Effect of restricting suckling on the social bond between ewes and their 10-week-old lambs. *Livestock Production Science*, 87(2): 259-264.
95. Ortavant, R., Pelletier, J., Ravault, J.P., Thimonier, J., Volland-Nail, P. (1985). Photoperiod: main proximal and distal factor of the circannual

cycle of reproduction in farm mammals. *Oxford Reviews of Reproductive Biology*. 7: 306–345.

96. Orth, J. M., Gunsalus, G. L., Lamperti, A. A. (1988). Evidence from Sertoli cell-depleted rats indicates that spermatid number in adults depends on numbers of Sertoli cells produced during perinatal development. *Endocrinology*, 122(3): 787-794.
97. Pacheco, A., Quirino, C. R. (2010). Comportamento sexual em ovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 34(2): 87-97.
98. Pelletier, J., Ortavant, R. (1975). Photoperiodic control of LH release in the ram. *Acta Endocrinologica*, 78(3): 442-450.
99. Pelletier, J., Almeida, G. (1987). Short light cycles induce persistent reproductive activity in Ile-de-France rams. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 34: 215.
100. Pelletier, J., Carrez-Camous, S., Thiery, J. C. (1981). Basic neuroendocrine events before puberty in cattle, sheep and pigs. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 30: 91.
101. Poindron, P., Le Neindre, P. (1980). Endocrine and sensory regulation of maternal behavior in the ewe. *Advances in the Study of Behavior*, 11: 75-119.
102. Pretorius, P. S., Marincowitz, G. (1968). Post-natal penis development, testes descent and puberty in Merino ram lambs on different planes of nutrition. *South African Journal of Agricultural Science*, 11: 319-334.
103. Price, E. O., Estep, D. Q., Wallach, S. J., Dally, M. R. (1991). Sexual performance of rams as determined by maturation and sexual experience. *Journal of Animal Science*, 69(3): 1047-1052.
104. Price, E. O., Borgwardt, R., Dally, M. R. (1996). Heterosexual experience differentially affects the expression of sexual behavior in 6-and 8-month-old ram lambs. *Applied Animal Behaviour Science*, 46(3): 193-199.
105. Pursel, V. G., Johnson, L. A. (1974). Glutaraldehyde fixation of boar spermatozoa for acrosome evaluation. *Theriogenology*, 1(2): 63-68.
106. Rathore, A. K. (1970). Fertility of rams heated for 1, 2, 3, and 4 days, mated to superovulated ewes. *Australian Journal of Agricultural Economics*, 21: 355-358.
107. Rattray, P.V. Nutrición y capacidad reproductora. En: Cole, H.H.; Cupss, P.T. *Reproducción de los Animales Domésticos*. Zaragoza. Acribia. p:473-492
108. Reid, J. T. (1960). Effect of energy intake upon reproduction in farm animals. *Journal of Dairy Science. Supplement*, 43: 103-122.
109. Reiter, R. J. (1993). The melatonin rhythm: both a clock and a calendar. *Experientia*, 49(8): 654-664.
110. Sanford, L. M., Palmer, W. M., Howland, B. E. (1982). Influence of age and breed on circulating LH, FSH and testosterone levels in the ram. *Canadian Journal of Animal Science*, 62(3): 767-776.

111. Savoie S., Forest M. G., Bourel B., Saez J. M., Collu R., Bertrand J., Ducharme J. R. (1979). Perinatal activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in the lamb. I. Circulating levels of LH, FSH, prolactin and testosterone and in vivo response to hCG in the first two months of life. *Biology of Reproduction*, 21:1051-1056.
112. Savoie, S., Polychronakos, C., Forest, M. G., Haour, F., Collu, R., Ducharme, J. R. (1981). Perinatal activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in the lamb. III. LH, testosterone and prolactin secretory pattern in newborn lambs. *Hormone Research*, 15(3): 167-178.
113. Savoie S., Bourel B., Hamel R., Buithieu M., Jequier J. C., Bertrand J., Ducharme J. R. (2008). Circulating LH, FSH, Prolactin, Testosterone, 4-Androstenedione, Dehydroepiandrosterone Sulfate and Cortisol Levels in the Fetus in Late Gestation and in Newborn Male and Female Lambs. *Hormone Research in Pediatrics*, 15:122-132.
114. Schanbacher, B. D. (1979). Increased lamb production with rams exposed to short daylengths during the nonbreeding season. *Journal of Animal Science*, 49 (4): 927-932.
115. Schanbacher, B. D., Ford, J. J. (1979). Photoperiodic regulation of ovine spermatogenesis: relationship to serum hormones. *Biology of Reproduction*, 20(4): 719-726.
116. Schanbacher, B. D., Lunstra, D. D. (1976). Seasonal changes in sexual activity and serum levels of LH and testosterone in Finish Landrace and Suffolk rams. *Journal of Animal Science*, 43(3): 644-650.
117. Senger, P.L. (2003). *Pathways to Pregnancy and Parturition*. 2a ed. Washington. Current Conceptions, 373 p.
118. Setchell, B. P., Waites, G. M. H., Lindner, H. R. (1965). Effect of undernutrition on testicular blood flow and metabolism and the output of testosterone in the ram. *Journal of Reproduction and Fertility*, 9(2): 149-162.
119. Sharpe, R. M. (1982). The hormonal regulation of the Leydig cell. *Oxford Reviews of Reproductive Biology*, 4: 241-317.
120. Short, R. E., Adams, D. C. (1988). Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. *Canadian Journal of Animal Science*, 68(1): 29-39.
121. Skinner, J. D., Rowson, L. E. A. (1968). Puberty in Suffolk and cross-bred rams. *Journal of Reproduction and Fertility*, 16(3): 479-488.
122. Skinner, J. D., Booth, W. D., Rowson, L. E. A., Karg, H. (1968). The post-natal development of the reproductive tract of the Suffolk ram, and changes in the gonadotrophin content of the pituitary. *Journal of Reproduction and Fertility*, 16(3): 463-477.
123. Snowden, G. D., Stellflug, J. N., Van Vleck, L. D. (2002). Heritability and repeatability of sexual performance scores of rams. *Journal of Animal Science*, 80(6): 1508-1511.
124. Souza, J. D., Campelo, J. E. G., Macedo, N. D., Leal, T. M., Sousa JR, A., Medeiros, R. M., Chaves, R. (2007). Biometria testicular,

- características seminais, libido e concentração de testosterona em ovinos da raça Santa Inês, criados a campo, na microrregião de Campo Maior, Piauí. *Ciência Veterinária Tropical*, 10(1): 1-8.
125. Tilbrook, A. J., Galloway, D. B., Williams, A. H., Clarke, I. J. (1993). Treatment of young rams with an agonist of GnRH delays reproductive development. *Hormones and Behavior*, 27(1): 5-28.
 126. Toe, F., Rege, J. E. O., Mukasa-Mugerwa, E., Tembely, S., Anindo, D., Baker, R. L., Lahlou-Kassi, A. (2000). Reproductive characteristics of Ethiopian highland sheep: I. Genetic parameters of testicular measurements in ram lambs and relationship with age at puberty in ewe lambs. *Small Ruminant Research*, 36(3): 227-240.
 127. Ungerfeld, R. (2002). Reproducción en los animales domésticos. Montevideo, Melibea, V. 1, 291 p.
 128. Ungerfeld, R., González-Pensado, S. P. (2008). Social rank affects reproductive development in male lambs. *Animal Reproduction Science*, 109(1): 161-171.
 129. Ungerfeld, R., Lacuesta, L. (2010). Social rank during pre-pubertal development and reproductive performance of adult rams. *Animal Reproduction Science*, 121(1): 101-105.
 130. Walton J. S., Evins J. D., Hillard M. A., Waites G. M. (1980). Follicle-stimulating hormone release in hemicastrated prepubertal rams and its relationship to testicular development. *Journal of Endocrinology*, 84:141-152.
 131. Weary, D. M., Jasper, J., Hötzel, M. J. (2008). Understanding weaning distress. *Applied Animal Behaviour Science*, 110(1): 24-41.
 132. Wheaton, J. E., Godfrey, R. W. (2003). Plasma LH, FSH, testosterone, and age at puberty in ram lambs actively immunized against an inhibin α -subunit peptide. *Theriogenology*, 60(5): 933-941.
 133. Wilson, P. R., Lapwood, K. R. (1979). Studies of reproductive development in Romney rams: I. Basal levels and plasma profiles of LH, testosterone and prolactin. *Biology of Reproduction*, 20(4): 965-970.
 134. Wood, R. I., Foster, D. L. (1998). Sexual differentiation of reproductive neuroendocrine function in sheep. *Reviews of Reproduction*, 3(2): 130-140.
 135. Wood, R. I., Ebling, F. J., Foster, D. L. (1991). Sex differences in nutritional modulation of gonadotropin secretion during development: studies in the growth-retarded lamb. *Biology of Reproduction*, 44(4): 632-639.
 136. Wood, R. I., Ebling, F. J., l'Anson, H., Foster, D. L. (1991). The timing of neuroendocrine sexual maturity in the male lamb by photoperiod. *Biology of Reproduction*, 45(1): 82-88.
 137. Zenchak, J. J., Anderson, G. C. (1980). Sexual performance levels of rams (*Ovis aries*) as affected by social experiences during rearing. *Journal of Animal Science*, 50(1): 167-174.

138. Zenchak, J. J., Anderson, G. C., Schein, M. W. (1981). Sexual partner preference of adult rams (*Ovis aries*) as affected by social experiences during rearing. *Applied Animal Ethology*, 7(2): 157-167.
139. Zhang, L. X., Levine, S., Dent, G., Zhan, Y., Xing, G., Okimoto, D., Gordon, M.K., Post, R.M., Smith, M. A. (2002). Maternal deprivation increases cell death in the infant rat brain. *Developmental Brain Research*, 133(1): 1-11.

ANEXOS

Tabla 1. Sistema de valoración de la onda de motilidad masal (Tomado de Evans y Maxwell, 1990)

Valor	Clase	Descripción
5	Muy buena	Densa, ondas de movimiento muy rápidas. No se pueden observar las células individuales. El 90% o más de los espermatozoides están activos.
4	Buena	Movimiento vigoroso, pero las ondas y los remolinos no son rápidos como los de valor 5. Alrededor de 75-80 % de células activas.
3	Regular	Sólo aparecen ondas de movimiento lento. Se pueden ver espermatozoides aislados. El 45-65 % de las células son activas
2	Pobre	No aparecen ondas aunque se observan movimientos de espermatozoides. Sólo viven el 20-40 % de las células espermáticas y su movilidad es pobre
1	Muy pobre	Muy pocos espermatozoides (alrededor del 10%) presentan signos de vida, pero con movimientos débiles.
0	Muertos	Ningún espermatozoide presenta movimiento.

Tabla 2. Planilla utilizada para evaluación de morfología espermática e integridad de acrosoma.

MORFOLOGÍA CORDEROS

Fecha muestra:
Fecha evaluación:

Macho:

		Normales	
		Anormalidades	
PRIMARIAS	Cabeza	Macrocefalia	
		Microcefalia	
		Redondeada	
		Piriforme	
		Otros	
	Cola	En ovillo	
		Biflagelado	
Corta			
SECUNDARIAS	Cabeza	Suelta	
	Pieza media	Gota citoplásmica	
		Plegada	
	Cola	Gota citoplásmica	
		Plegada	
		Gancho	
		Otros	

Observaciones morfología:

ACROSOMAS	Íntegros		
	Dañados		
	Perdidos		

Observaciones acrosomas:

Tabla 3. Escala de los componentes que forman parte del índice de calidad espermática (I.C.E.). (Tomado de Fernández Abella et al., 1993)

Grado	% vivos	% normales	Concentración (x10 ⁹)
0	0	0-30	<1,00
1	1-20	31-40	1,00-1,50
2	21-40	41-50	1,51-2,50
3	41-60	51-60	2,51-3,50
4	61-80	61-80	3,51-4,00
5	81-100	81-100	>4,00