



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

LA NUTRICIÓN Y SU EFECTO EN LAS CÉLULAS TESTICULARES DEL CARNERO

TANIA ARELLANO LEZAMA

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2015

LA NUTRICIÓN Y SU EFECTO EN LAS CÉLULAS TESTICULARES DEL CARNERO



La presente tesis titulada: “**La nutrición y su efecto en las células testiculares del carnero**”, realizada por la alumna: **Tania ARELLANO LEZAMA**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:

DR. JAIME GALLEGOS SÁNCHEZ

ASESOR:

DR. ARTURO PRO-MARTÍNEZ

ASESOR:

DR. FERNANDO GÓMEZ MERINO

ASESOR:

DR. CÉSAR CORTÉZ ROMERO

ASESOR:

DR. JAVIER DE JESÚS VALENCIA MÉNDEZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, 17 de Agosto de 2015

A la memoria de mi Abuelita, *que suena y suena...*

...a mis hermanas, que siempre la escuchan conmigo.

A mis Padres, presencia eterna y constante en mi corazón, pensamiento y espíritu.

AGRADECIMIENTOS

Gracias Fabian, porque a pesar de lo largo y adverso de este camino, siempre recibí tu apoyo y tus palabras de aliento para seguir adelante.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, por permitirme llevar a cabo mis estudios doctorales.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el financiamiento otorgado.

Al Dr. Jaime GALLEGOS SÁNCHEZ, gracias por sus enseñanzas y por dirigirme en este trabajo de tesis; quiero corroborarle que todo lo aprendido durante estos años, vivirá siempre en mi memoria. Espero que continúe guiando en la investigación, a muchas generaciones más.

Al Dr. Arturo PRO MARTÍNEZ y al Dr. Humberto VAQUERA HUERTA, considero que son ustedes un ejemplo de sabiduría y humildad, gracias por su importante participación y asesoría para la realización de este trabajo de tesis.

A mis queridos compañeros de LaROCa y del INIFAP-Querétaro: MVZ Carla DÍAZ, Dr. José Antonio HERNÁNDEZ, MC. Silvia FRAIRE, MVZ Jesús Mateo HOYOS, MC Francisco CRUZ, MC Anahy VARGAS, MC Yair LÓPEZ, MC Isabel MONTIEL, MC Hadaila Zadi MÉNDEZ y MVZ Reyna SÁNCHEZ, porque sin su apoyo, no hubiera sido posible culminar el trabajo experimental, gracias por permitirme conocerlos, por las experiencias compartidas y por lo mucho que de ustedes aprendí como personas y como profesionistas.

Al Técnico Víctor PAREDES y a la Biól. Greta ROSAS, Técnicos del Laboratorio de Fisiología Animal, Depto. de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo y del Laboratorio de Microscopía Electrónica del ColPos-Montecillo, respectivamente. Gracias por el tiempo dedicado a enseñarme, por su ayuda y de igual forma a los Laboratorios e Instituciones mencionadas.

Al Dr. César CORTEZ ROMERO, Dr. Fernando GÓMEZ MERINO y Dr. Javier de Jesús VALENCIA MÉNDEZ, por sus acertados comentarios, críticas y sugerencias para la realización de esta tesis, así como también, al Dr. Juan SALAZAR ORTIZ, por su desempeño como mi sinodal y por su valiosa opinión para este proyecto de tesis.

Al Inifap-Campus Ajuchitlán, Querétaro y al Dr. Héctor JIMÉNEZ SEVERIANO, por las facilidades otorgadas para la realización de una parte del trabajo experimental.

Al emblemático integrante de LaROCa, por su ayuda y por alegrar, con su presencia, mi estancia en el módulo ovino, gracias querido newton.

“La experiencia más hermosa que tenemos a nuestro alcance, es el misterio, es la emoción fundamental que está en la cuna del verdadero arte y de la verdadera ciencia. La certeza de que existe algo que no podemos alcanzar, nuestra percepción de la razón más profunda y la belleza más deslumbradora, a la que nuestras mentes sólo pueden comprender en sus formas más primitivas... este conocimiento, este sentimiento, es el que se encuentra en el centro de la auténtica religiosidad.

Yo me doy por satisfecho con el misterio de la eternidad de la vida y con la conciencia de un vislumbre de la estructura maravillosa del mundo real, junto con el esfuerzo decidido por abarcar una parte, aunque sea muy pequeña, de la razón que se manifiesta en la naturaleza”.

ALBERT EINSTEIN, Lo que creo (1930).

LA NUTRICIÓN Y SU EFECTO EN LAS CÉLULAS TESTICULARES DEL CARNERO

Tania Arellano Lezama, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2015

RESUMEN

Se realizaron dos estudios para determinar el efecto de la restricción alimenticia en el epitelio seminífero y en el semen de los machos durante la etapa lactante y adulta. En el estudio I, se administró una dieta experimental con la finalidad de observar el cambio en la calidad seminal de carneros Pelibuey (R1) y East Friesian (R2) durante la época reproductiva (ER) y el anestro estacional (AE). Se registró el peso corporal y la circunferencia escrotal de forma semanal, así como las variables con las que se realiza una evaluación seminal de campo. Se observaron diferencias ($p < 0.05$) en la R1 en las variables tiempo al eyaculado (TE) y concentración, y en el anestro estacional, se observaron diferencias en el volumen y el porcentaje de vivos por efecto de la dieta experimental. Para la R2 se observaron diferencias ($p < 0.05$) en la ER, en las variables Volúmen, TE %vivos, normalidad y concentración y en la AE únicamente en la variable TE. En el estudio II, se trataron 28 ovinos machos desde la etapa neonatal hasta los 12 meses, de estos, se restringieron 12 machos desde los 0 hasta los 2 meses de edad, que corresponde a la etapa de lactancia, se evaluó la prolificidad del testículo, el cambio de cordones a túbulos y el número de espermátidas elongadas, como un parámetro de prolificidad por unidad de área, además del incremento en el peso corporal y en el diámetro del saco escrotal. El cambio de cordones a túbulos comenzó a observarse a los 3 meses de edad en los animales testigo y a los 6 meses de edad en los restringidos ($p < 0.05$) y de la misma forma, la aparición de espermátidas elongadas comenzaron a presentarse en los individuos testigos de 3 meses y a los 6 meses en los individuos restringidos ($p < 0.05$). El incremento en el peso corporal y en

el diámetro del saco escrotal, generaron una curva de crecimiento con una relación entre ambas variables de $r=0.97$ para los testigo y $r=0.93$ para los restringidos. Por lo que se concluye que la nutrición y el fotoperiodo afectan la calidad seminal en las R1 y R2 y que una restricción alimenticia durante la lactancia afecta el desarrollo y fisiología del epitelio seminífero, en etapas puberales y adultas.

Palabras clave: Carneros, fotoperiodo, nutrición, semen, epitelio seminífero.

NUTRITION AND ITS EFFECT ON TESTICULAR CELLS OF THE RAM

Tania Arellano Lezama, PhD.

Colegio de Postgraduados, 2015

ABSTRACT

Two studies were conducted to determine the effect of food restriction in the seminiferous epithelium and in the semen of male sheep during infant and adult stage. In the first study, an experimental diet in order to observe the change in semen quality of Pelibuey rams (R1) and East Friesian rams (R2) during the breeding season (ER) and the seasonal anoestrus (AE) was administered. Body weight and scrotal circumference weekly, as well as variables with a seminal field assessment is carried out is recorded. ($P < 0.05$) were observed in the R1 in the variable time to ejaculate (TE) and concentration, and the seasonal anoestrus, differences in volume and the percentage of living due to the experimental diet were observed. For the R2 differences ($p < 0.05$) in the ER, in the volume variables, TE% alive, normal and concentration and AE were observed only in the TE variable. In study II, 28 male sheep were treated from the neonatal period up to 12 months, of these, 12 males were restricted from 0 to 2 months of age, which corresponds to the stage of lactation, litter size was evaluated testicle, changing strings to tubules and the number of elongated spermatids, as a parameter of prolificacy per unit area, besides the increase in body weight and diameter of the scrotal sac. The change began laces tubules observed at 3 months of age in the control animals and 6 months of age in the restricted ($p < 0.05$) and in the same way, the appearance of elongated spermatids began to occur in individuals witnesses 3 months and 6 months in the restricted individuals ($p < 0.05$). The increase in body weight and the diameter of the scrotum, a growth curve generated with a relationship between the two

variables r and $r = 0.97$ for control = 0.93 for restricted. So we conclude that nutrition and photoperiod affect semen quality in the R1 and R2 and a dietary restriction during lactation affects the development and physiology of the seminiferous epithelium in pubertal and adult stages.

Keywords: Rams, photoperiod, nutrition, semen, seminiferous epithelium.

CONTENIDO

RESUMEN	vii
ABSTRACT	ix
LISTA DE FIGURAS	xv
LISTA DE CUADROS	xvi
LISTA DE GRÁFICAS	xvi
ABREVIATURAS	xviii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 GENERALIDADES ANATÓMICAS Y FISIOLÓGICAS DE LA GÓNADA DEL MACHO: EL TESTÍCULO	3
2.1.1 Escroto.....	3
2.1.2 Testículos.....	3
2.1.2.1 Túbulos seminíferos.....	5
2.1.2.2 Las células de Sertoli.....	6
2.1.2.2a Proliferación y diferenciación de las células de Sertoli.....	7
2.1.2.3 La barrera hematotesticular.....	10
2.1.2.4 Las células germinales y las células mioides peritubulares.....	11
2.1.2.5 El tejido intersticial y las células de Leydig.....	12
2.1.2.6 El espermatozoide y el semen.....	12
2.1.2.6a El espermatozoide.....	14
2.1.2.6b El plasma seminal.....	14
2.1.2.6c Proteínas del plasma seminal.....	15
2.2 ESPERMATOGÉNESIS	15

2.2.1 Espermatogénesis.....	16
2.2.2 Espermatocitogénesis.....	18
2.2.3 Meiosis I y II.....	19
2.2.4 Espermiogénesis.....	19
2.3 LA COMUNICACIÓN DE LAS CÉLULAS TESTICULARES Y LA REGULACIÓN DEL AMBIENTE INTRATUBULAR.....	21
2.3.1 La importancia de las células de Sertoli en la comunicación intercelular	23
2.3.2 La comunicación celular en el intersticio.....	24
2.4 REGULACIÓN HORMONAL DE LA ESPERMATOGÉNESIS.....	25
2.4.1 Mecanismo de acción de las gonadotropinas.....	27
2.4.2 La acción hormonal en el testículo.....	29
2.4.3 Transporte de LH y testosterona en plasma.....	31
2.5 EVALUACIÓN SEMINAL.....	32
2.5.1 Obtención de semen por vagina artificial.....	32
2.5.2 Características cualitativas para una evaluación de campo.....	32
2.5.3 Características cuantitativas para una evaluación de campo.....	35
2.5.4 La circunferencia escrotal.....	36
2.6 EL FOTOPERIODO DEL MACHO.....	37
2.6.1 El sistema del reloj circadiano.....	40
2.6.2 El efecto del fotoperiodo en las gonadotropinas y hormonas esteroideas...	42
2.7 LA NUTRICIÓN Y SU EFECTO EN LA FISIOLÓGÍA REPRODUCTIVA DEL MACHO.....	44
2.7.1 Interacciones entre nutrición y reproducción.....	45
2.7.2 Efectos de la nutrición en la función testicular.....	47

2.8 EFECTOS DE LA NUTRICIÓN DURANTE LA ETAPA LACTANTE Y ADULTA EN EL MACHO.....	51
2.8.1 Mecanismos fisiológicos de una etapa restringida en adultos.....	53
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	56
IV. ESTUDIOS REALIZADOS.....	58
4.1 ESTUDIO I. La nutrición y su efecto en la calidad seminal del macho Pelibuey.....	58
4.1.1 Resumen.....	58
4.1.2 Abstract.....	59
4.1.3 Introducción.....	60
4.1.4 Materiales y Métodos.....	62
4.1.4.1 Ubicación.....	62
4.1.4.2 Metodología y tratamientos.....	62
4.1.4.3 Variables seminales y procedimiento de evaluación.....	65
4.1.4.4 Análisis estadístico.....	66
4.1.5 Resultados.....	67
4.1.5.1 Peso corporal y circunferencia escrotal.....	67
4.1.5.2 Producción y calidad de semen.....	69
4.1.6 Discusión.....	72
4.1.7 Conclusiones.....	76
4.2 ESTUDIO II. Descripción del desarrollo del epitelio seminífero del macho pelibuey restringido en la lactación durante el primer año de vida.....	77
4.2.1 Resumen.....	77
4.2.2 Abstract.....	78
4.2.3 Introducción.....	79

4.2.4 Materiales y métodos.....	81
4.2.4.1 Ubicación.....	81
4.2.4.2 Manejo general y alimentación de los animales.....	81
4.2.4.3 Gonadectomía bilateral, tratamiento quirúrgico y posquirúrgico.....	82
4.2.4.4 Preparación del tejido testicular.....	83
4.2.4.5 Procedimiento para la toma de fotografías histológicas.....	84
4.2.4.6 Análisis estadístico.....	86
4.2.5 Resultados y discusión.....	87
4.2.5.1 Incremento o prolificidad testicular: cambio de cordones a túbulos....	87
4.2.5.2 Presencia de espermátidas elongadas por edad.....	90
4.2.5.6 Correlación entre la ganancia de peso corporal y el diámetro escrotal	93
4.2.5 Conclusiones.....	95
V. DISCUSIÓN GENERAL.....	96
VI. CONCLUSIONES GENERALES.....	100
VII. LITERATURA CITADA.....	101
VIII. ANEXOS.....	116

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Esquema que muestra las diferentes capas ó túnicas que integran al testículo y su vascularización	4
Figura 2	Esquema que muestra la disposición del tejido testicular.....	7
Figura 3	Esquema de las principales regiones y estructuras que presenta el espermatozoide.....	13
Figura 4	Esquema que muestra el proceso de espermatogénesis.....	17
Figura 5	El ciclo del epitelio seminífero en la rata.....	23
Figura 6	Esquema que muestra el eje de regulación neuroendócrina en el macho	26
Figura 7	Las gonadotropinas procedentes de la adenohipófisis ejerciendo su efecto en las células de Sertoli y Leydig testiculares, mediante su unión a receptores específicos localizados en la membrana celular.....	28
Figura 8	Esquema que muestra a una célula de Leydig hipotética en donde se describe cómo los andrógenos se originan y secretan a partir de esta estructura en el testículo.....	30
Figura 9	El ciclo anual reproductivo.....	38
Figura 10	Representación esquemática de una sección sagital del cerebro de oveja que representa la información luminosa del ojo.....	42
Figura 11	Diagrama en el que se ilustra a los sistemas sensoriales (auditivo, olfativo y visual), que son capaces de captar estímulos del medio y transformarlo en señales visuales.....	50
Figura 12	Machos de 3 meses. Testigo (izquierda) y Restringido (derecha).....	53
Figura 13	El efecto de la abundancia de energía metabolizable disponible en el macho.....	55
ESTUDIO I.		
Figura 14	Representación esquemática de los tratamientos (tipos de alimentación) alimentación restringida (AR; periodo 1; P1) y alimentación con dieta experimental (DE; periodo 2; P2); durante la época reproductiva (ER) a una latitud norte de 19°29'.....	63
Figura 15	Representación esquemática de los tratamientos (tipos de alimentación)	

	alimentación restringida (AR; periodo 1; P1) y alimentación con dieta experimental (DE; periodo 2; P2); durante anestro estacional (AE) a una latitud norte de 19°29'.....	65
	ESTUDIO II.	
Figura 16	Diagrama de una preparación histológica que representa las cuatro coordenadas realizadas a través de los ejes X e Y de la platina, para la toma de fotografías histológicas.....	84
Figura 17	Diseño del experimento y representación esquemática de los tratamientos a lo largo de 2 años de duración.....	86
	LISTA DE CUADROS	
Cuadro 1	Se especifica la relación de los valores, clase y descripción de las características para una prueba de calidad de semen.....	34
Cuadro 2	Consecuencias metabólicas y los efectos en la reproducción determinados por el balance positivo y negativo de energía en ovinos.....	47
	ESTUDIO I	
Cuadro 3	Dieta experimental (DE).....	64
Cuadro 4	Variaciones en la calidad de semen de carneros Pelibuey (R1) durante el año, época reproductiva (ER) y época de anestro estacional (AE) con dos periodos de alimentación, alimentación restringida (AR) y un periodo con dieta experimental (DE) en una latitud norte de 19°.....	69
Cuadro 5	Variaciones en la calidad de semen de carneros East Friesian (R2) durante el año, época reproductiva (ER) y época de anestro estacional (AE) con dos periodos de alimentación, alimentación restringida (AR) y un periodo con dieta experimental (DE) en una latitud norte de 19°.....	71
	LISTA DE GRÁFICAS	
	ESTUDIO I	
Gráfica 1	Época reproductiva (ER), se representan los cambios en el peso corporal (kg; líneas solida negra y azul para Pelibuey (R1) y East Friesian (R2); respectivamente) se observa, que en la semana 9, es donde los sementales alcanzaron el mayor peso durante la fase experimental y en relación a la circunferencia escrotal (cm; línea punteada gris y azul claro para R1 y R2; respectivamente), se observó, que en la semana 11, fue cuando se presentó el mayor diámetro testicular.....	68
Gráfica 2	Anestro Estacional (AE), se representan los cambios en el peso corporal (kg; líneas solida negra y azul para Pelibuey (R1) y East Friesian (R2);	

	respectivamente) se observa, una disminución gradual en el peso corporal (semana 1 a la 3; AR; P1) y un incremento gradual de la semana 4 a la 11 (DE; P2) y en relación a la circunferencia escrotal (cm; línea punteada gris y azul claro para R1 y R2; respectivamente), se observó la misma tendencia que en el peso corporal.....	69
Gráfica 3	Época reproductiva (ER), se representan los cambios en la circunferencia escrotal (cm; línea punteada gris y azul claro para R1 y R2; respectivamente), y la concentración espermática ($10^6 \times \text{mL}^{-1}$) barra negras (R1) y azules (R2) durante la evaluación experimental.....	70
Gráfica 4	Época de anestro estacional (ER), se representan los cambios en la circunferencia escrotal (cm; línea punteada gris y azul claro para R1 y R2; respectivamente), y la concentración espermática ($10^6 \times \text{mL}^{-1}$) barra negras (R1) y azules (R2) durante la evaluación experimental.....	71
	ESTUDIO II	
Gráfica 5	Describe la presencia/ausencia de túbulos seminíferos en testigos a lo largo de un año.....	88
Gráfica 6	Describe la presencia/ausencia de cordones en testigos a lo largo de un año.....	88
Gráfica 7	Describe la presencia/ausencia de cordones en individuos restringidos a lo largo de un año.....	89
Gráfica 8	Describe la presencia/ausencia de túbulos seminíferos en individuos restringidos a lo largo de un año.....	89
Gráfica 9	Describe el número de espermátidas elongadas encontradas en el área tubular evaluada en individuos testigo a lo largo de un año.....	91
Gráfica 10	Describe el número de espermátidas elongadas encontradas en el área tubular en individuos restringidos a lo largo de un año.....	92
Gráfica 11	Comparación entre el número de espermátidas elongadas encontradas en el área tubular en individuos testigos y restringidos a lo largo de un año.....	92
Gráfica 12	Describe el incremento en peso corporal durante un año para individuos testigos y restringidos.....	93
Gráfica 13	Describe el incremento en el diámetro del saco escrotal para individuos testigos y restringidos a lo largo de un año.....	94

ABREVIATURAS

ABP: Proteína que se une a Andrógenos.	LN: Latitud Norte.
AC: Amamantamiento Continuo.	LS: Latitud Sur.
AE: Anestro Estacional.	M: Macrófago.
AMH: Hormona Antimülleriana.	MIS: Sustancia Inhibidora de los conductos de Müller.
AMPc: Adenosín monofosfato cíclico.	NAT: N-Acetil-Transferasa.
AR: Alimentación Restringida.	NSQ: Núcleo Supraquiasmático.
ARNm: Ácido Ribonucleico mensajero.	PKC: Proteína Kinasa.
BE₂: Benzoato de Estradiol.	P-Mod-S A y B: Factor Peritubular que regula a las células de Sertoli, tipo A y B.
C: Cordones.	RA: Receptores de Andrógenos.
Ca: Capilar.	Rt: Rete Testis.
DE: Dieta Experimental.	R1: Raza 1, Pelibuey.
ER: Época Reproductiva.	R2: Raza 2, East Friesian.
FSH: Hormona Folículo Estimulante.	SHGB: Globulina que enlaza Hormonas Sexuales.
GABA: Ácido gama-aminobutírico.	SNC: Sistema Nervioso Central.
GnRH: Hormona Liberadora de Gonadotropinas.	SRY: Región Determinante del Sexo Y.
HG: Hormona del Crecimiento.	T: Testosterona.
H-R: Complejo Hormona-Receptor.	Ti: Tejido Intersticial.
Id: Identificación.	TRP: Triptofano
IGF-I: Factor de Crecimiento tipo Insulina I.	Ts: Túbulos seminíferos.
L: Lúmen.	T₃: Hormona Tiroidea.
Lb: Lámina basal.	
LDL: Lipoproteínas de Baja Densidad.	
LH: Hormona Luteinizante.	

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

El espermatozoide aporta el 50% de la información genética del individuo, por tal razón, los eventos físicos y fisiológicos que involucra el proceso de espermatogénesis son muy importantes; estos incluyen, las variaciones en talla y desarrollo testicular y en la producción seminal, que son factores que tienen una estrecha relación con la eficiencia reproductiva y que se encuentran asociados a otros, como es la raza, el fotoperiodo y la nutrición (**Blache *et al.*, 2000; Martin *et al.*, 2010**).

En ovinos, así como en otras especies domésticas, la eficiencia reproductiva es considerada, uno de los aspectos importantes en términos de valor económico (**Bilgin *et al.*, 2004**) y uno de los factores esenciales que lo determinan, es la nutrición, ya que puede estimular a los individuos a expresar su potencial genético, disminuir los efectos negativos en un ambiente físicamente hostil y además, puede minimizar los efectos de un manejo deficiente (**Fourie *et al.*, 2004**). La nutrición es tan importante, que una alimentación inadecuada, por ejemplo, una restricción, afecta todas las variables reproductivas, desde la gametogénesis hasta la presentación de la pubertad, en machos y hembras (**Scaramuzzi *et al.*, 2006**). Razón por la cual, existen muchos estudios que se han realizado con la finalidad de determinar los efectos de la nutrición en la eficiencia reproductiva de rumiantes en diferentes etapas fisiológicas; por ejemplo, en hembras, estos estudios se han realizado en las últimas etapas de la gestación, durante el periodo postparto, entre otras y en el macho, durante el anestro estacional y el empadre, por otra parte, en corderos, se han realizado durante el periodo neonatal, de desarrollo y crecimiento (**Gunn *et al.*, 1995; Rhind *et al.*, 1998**). Estas son etapas durante las cuales, la demanda de nutrientes es elevada y por lo tanto, tienen un impacto directo en el desarrollo del sistema reproductivo (**Rhind, 2004**).

Además, los requerimientos de nutrientes para el desarrollo fetal y la lactancia, demandan en la hembra, principalmente, la utilización de la energía almacenada; por ello, los efectos de la nutrición en la reproducción están prácticamente regulados por suplementos nutricionales, y de las reservas energéticas. Así, una dieta mal balanceada en cuanto a requerimientos nutricionales se refiere en animales en las diferentes etapas fisiológicas, tiene como consecuencia el desequilibrio homeostático del individuo, y por tanto efectos negativos que pueden alterar de manera temporal o permanente, la función reproductiva del individuo (**Scaramuzzi et al., 2006**).

También, se ha observado que la mortalidad neonatal, tanto en sistemas extensivos, como intensivos, es un problema que enfrenta la producción ovina. La mortalidad de 15 a 25% es común en los sistemas de producción y esto suele ocurrir durante la etapa de lactancia, por ello, la supervivencia del neonato, depende en parte de la habilidad que tenga para adaptarse a las diversas condiciones ambientales y de las reservas de energía que posea (**Alexander, 1984; Nowak et al., 2000**). Algo muy importante, es que la restricción de la nutrición, ya sea en etapas neonatales, puberales o adultas, puede influenciar la actividad endócrina del animal y por tanto, alterar la eficiencia espermatogénica (**Brown, 1994**). De esta forma, la comprensión del cómo y en qué momento la nutrición afecta los diferentes eventos reproductivos en el macho facilita la aplicación de programas de nutrición dirigida a los sistemas de producción ovina, con la finalidad de optimizar la eficiencia reproductiva (**Martin et al., 1994; Scaramuzzi et al., 2006**). Por lo cual, el objetivo del presente estudio fue describir y analizar los efectos de la restricción alimenticia en la función testicular de machos ovinos durante la etapa lactante y adulta.

II. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1 GENERALIDADES ANATÓMICAS Y FISIOLÓGICAS DE LA GÓNADA DEL MACHO: EL TESTÍCULO

A grandes rasgos, el aparato reproductor del macho, tiene como función principal, la producción de espermatozoides. Está anatómicamente constituido por los testículos, incluidos en el saco escrotal, un sistema de conductos, que incluye a los túbulos rectos, red testicular, conductos eferente y deferente, conducto epididimario y conducto eyaculador. También posee glándulas sexuales accesorias, que están conformadas por las vesículas seminales, próstata y las glándulas bulbouretrales (**Lesson y Páparo *et al.*, 1990**).

2.1.1 Escroto

El escroto o saco escrotal, es una estructura péndula, en forma de saco en donde se encuentran los testículos, la parte distal de los conductos deferentes y los cordones espermáticos. Éste tiene como función, regular la temperatura testicular, que en ovinos varía desde 4 a 7° C por debajo de la temperatura corporal, variación necesaria para llevar a cabo la espermatogénesis. Además, también contiene a los conductos deferentes y el haz neurovascular, que inerva e irriga a cada testículo (**Durán-Ramírez *et al.*, 2008**).

2.1.2 Testículos

Los testículos tienen dos funciones principales: la síntesis de hormonas (esteroidogénesis) y la producción de gametos maduros (espermatogénesis); ambas funciones, están estrechamente relacionadas ya que la producción de espermatozoides depende de la producción de andrógenos (**Durán Ramírez *et al.*, 2008**).

Además, se caracterizan por ser estructuras muy vascularizadas, conformados por arterias testiculares, que son ramas directas de la aorta abdominal, es por ello que la circulación se da a través del plexo venoso pampiniforme y pasa a la vena cava por la derecha y hacia la vena renal por la izquierda. La circulación linfática transcurre junto a las arterias y hasta los ganglios paraórticos (Lesson *et al.*, 1990; Figura 1).

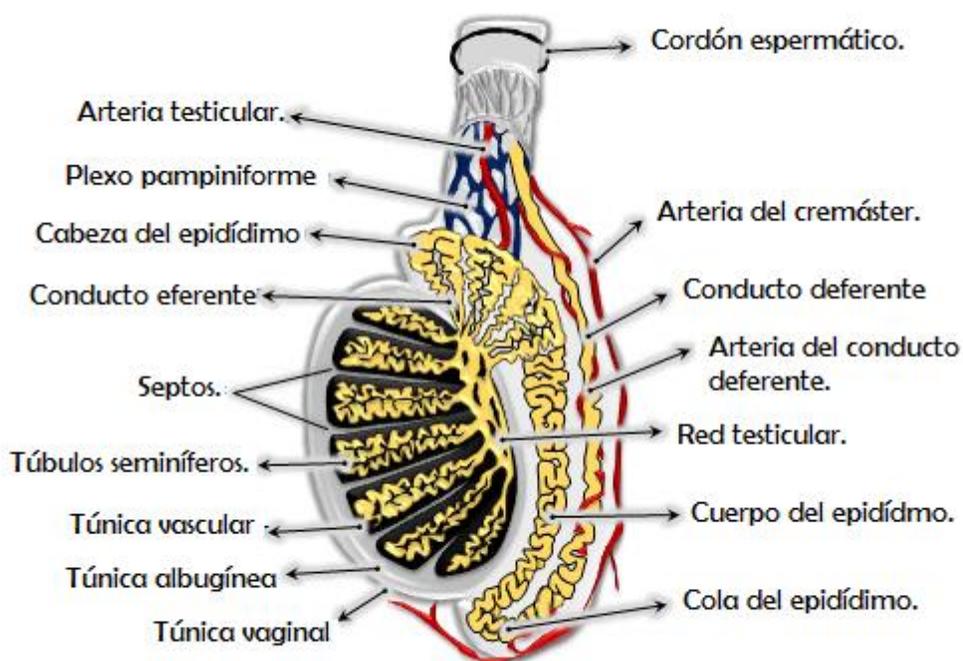


Figura 1. Esquema que muestra las diferentes capas o tunicas (capa externa o túnica vaginal, capa media o túnica albugínea y la capa interna o túnica vascular) que integran al testículo, así como su vascularización. Se pueden observar las arterias testiculares, que son ramas directas de la aorta abdominal, el plexo venoso pampiniforme, donde se produce la circulación venosa y desde allí, la circulación se dirige hacia la vena cava por la derecha y hacia la vena renal por la izquierda. La circulación linfática transcurre junto a las arterias y hasta los ganglios paraórticos (tomado y modificado de SERAM 2012/S-0762: <http://dx.doi.org/10.1594/seram2012/S-0762>).

Los testículos del carnero adulto, llegan a pesar entre 200 y 300 g y debido a que esta especie es estacional, el tamaño testicular puede variar de acuerdo a la época, alcanzando un diámetro máximo aproximadamente a la mitad de la época reproductiva. Esto es muy

importante ya que el número de espermatozoides que se producen, está en relación al tamaño testicular (**Durán Ramírez *et al.*, 2008**).

Los testículos, están rodeados por la cápsula testicular, que actúa como una membrana capaz de efectuar contracciones periódicas, esto sirve para conservar una presión sanguínea adecuada dentro de los testículos, regular el movimiento afuera de los capilares y al sistema de conductos, ayudando al desplazamiento de los espermatozoides hacia afuera (**Lesson *et al.*, 1990**).

La cápsula testicular, está formada por tres capas (**Figura 1**):

1. La capa externa o túnica vaginal.
2. La capa media o túnica albugínea.
3. La capa interna o túnica vascular.

El tejido testicular, está compuesto por túbulos seminíferos, donde se encuentran las células de Sertoli, mioides-peritubulares y germinales, y además, está el tejido intersticial, que se caracteriza por presentar una gran vascularización y está conformado por vasos sanguíneos, linfáticos y las células de Leydig.

2.1.2.1 Túbulos Seminíferos

En el interior de los túbulos seminíferos, se lleva a cabo, el proceso de espermatogénesis. Cada túbulo seminífero está contorneado y se encuentran revestidos por un epitelio germinal o seminífero, de tipo cúbico estratificado y rodeados de una delgada lámina basal. Los túbulos seminíferos están compuestos, principalmente, de tres tipos de células. Las células mioides o peritubulares, las células de Sertoli y las células germinales. Estas células se encuentran divididas en dos tipos de compartimientos en el interior del túbulo

seminífero, el compartimiento basal y el compartimiento adluminal. El compartimiento basal, se extiende entre las uniones y la lámina basal, de esta forma, permite un intercambio de sustancias nutritivas y otros materiales entre los vasos intersticiales y las células germinales que se encuentran en él y el compartimiento adluminal, que se encuentra entre las uniones y la luz del túbulo seminífero, está aislado de este intercambio directo, así como las células que lo conforman; este compartimiento tiene células germinales más diferenciadas de las que hay en el compartimiento basal, pero ambos dependen de las células de Sertoli para disponer de nutrientes y otras sustancias (**Lesson y Páparo *et al.*, 1990**).

2.1.2.2 Las células de Sertoli

Las células de sostén, somáticas o de Sertoli se encuentran de manera espaciada en el interior del túbulo seminífero, porque son pocas y están dispuestas a intervalos bastante regulares. Son células muy grandes y sus bases están sobre la lámina basal del túbulo; en la región cercana al lumen de la célula, se encuentran las cabezas de los espermatozoides en proceso de maduración, ubicadas en depresiones de su citoplasma. El núcleo de estas células se distingue con facilidad de las células germinales que comparten el espacio tubular. El sitio en donde se juntan dos células de Sertoli, forman una unión estrecha y la fusión de membranas, junto con el tejido peritubular, constituyen la barrera hematotesticular (**Lesson y Paparo *et al.*, 1990**).

Se ha descubierto que las células de Sertoli son multifuncionales e indispensables para el proceso de espermatogénesis, algunas de las funciones que realizan incluyen: 1) Contienen receptores para FSH; 2) sintetizan una proteína que se une a andrógenos (Androgen Binding Protein o ABP), la cual mantiene una concentración elevada de testosterona en el

interior de los túbulos seminíferos; 3) constituye la barrera entre la sangre y los testículos (hematotesticular); 4) crean un entorno para la diferenciación de las células espermáticas; 5) facilitan la liberación de espermatozoides durante la espermiación y 6) degradan el citoplasma residual que se desecha durante la espermiogénesis. Además, aportan el apoyo físico y los nutrientes necesarios para el desarrollo de las células germinales (Russell, 1980; Ritzen, Hansson y French, 1981; Márquez-Orozco, 1997; Figura 2).

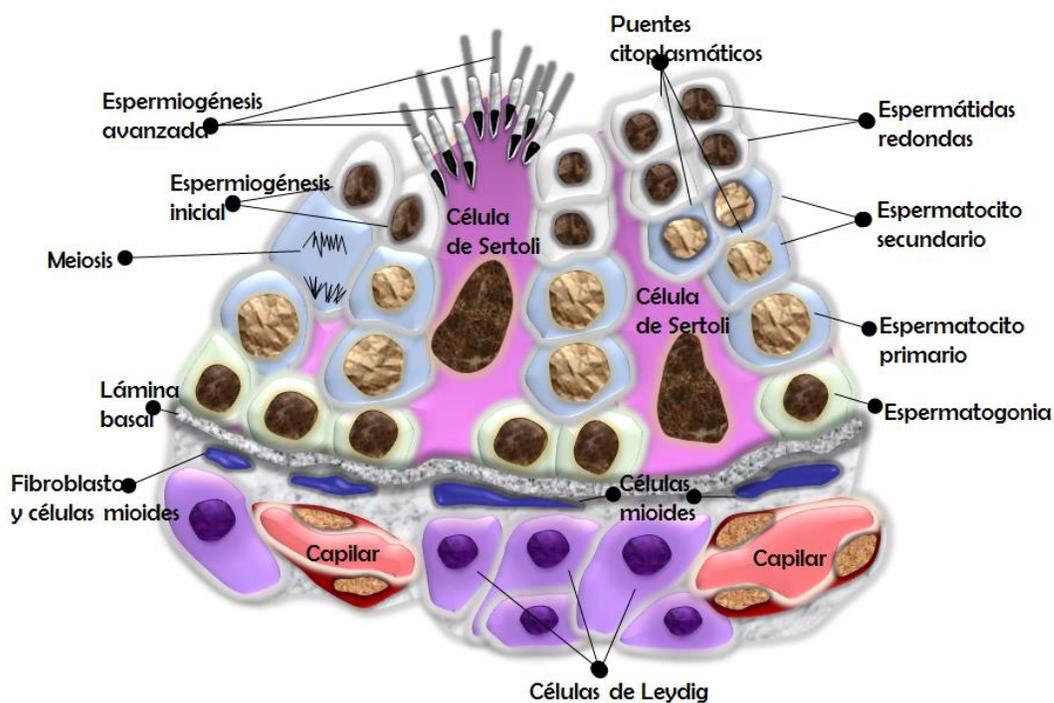


Figura 2. Esquema que muestra la disposición del tejido testicular; este está conformado por tejido intersticial, en el que se encuentran las células de Leydig, fibroblastos, capilares, vasos sanguíneos y linfáticos, macrófagos y células mesenquimatosas indiferenciadas. Rodeando a los túbulos seminíferos y junto a la lámina basal, se encuentran las células mioides o peritubulares y en el interior del tubo seminífero, dividido en compartimiento basal y compartimiento adluminal, se encuentran las células somáticas de Sertoli y las células germinales, estas últimas en constante división celular. Tomada y modificada de internet: http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Barreira+Hematotesticular&lang=3

2.1.2.2a Proliferación y Diferenciación de las células de Sertoli

Durante etapas embrionarias tempranas, uno de los eventos que más influyen en el desarrollo de la cresta genital del macho, es el surgimiento de las células de Sertoli; estas

células, se consideran un componente estructural primario para la formación del epitelio seminífero del testículo (**Sharpe *et al.*, 2003**).

Durante el desarrollo embrionario de la gónada, diversos genes están involucrados, para controlar la determinación de la cresta XY, como el gen de la región determinante del sexo (SRY, por sus siglas en inglés), que inicia una serie de eventos secuenciados que determinan el desarrollo del testículo embrionario, además, la transcripción de SRY en las células pre-Sertoli, regulan la alta expresión de otro gen importante, el SOX9, que secreta la hormona anti-Mülleriana (AMH; **Mackay, 2000; Josso *et al.*, 2001**).

Después de la activación del SOX9, las células de Sertoli, continúan proliferando y forman fuertes contactos alrededor de los agrupamientos de células germinales, para posteriormente, comenzar a agregar grupos de células germinales, comenzando con ello, la formación de cordones durante etapas fetales. En ese momento, los cordones se encuentran conformados por epitelio seminífero, separado del tejido peritubular que lo rodea por una membrana basal y el tejido intersticial.

Por su parte, la FSH desencadena la división y proliferación durante la etapa fetal/posnatal de células de Sertoli e incrementa la expresión de receptores de andrógenos de manera progresiva, este efecto es regulado a la alta incrementando los efectos de T₃, el cual conduce a la maduración funcional de las células de Sertoli y a la pérdida de la expresión de AMH (**Herrera-Alarcón *et al.*, 2007**).

En general, las células de Sertoli experimentan cambios importantes durante dos periodos de vida, en la vida fetal o neonatal y en el periodo peripuberal en todas las especies. Las funciones de la célula de Sertoli, que se expresan en la vida peripuberal-adulta para regular

la espermatogénesis no se presentan durante la vida fetal, ya que las células de Sertoli inmaduras se dividen mitóticamente y proliferan, y el número total que abarcan en el túbulo seminífero es determinado antes de la edad adulta (**Sharpe et al., 2003**).

Posteriormente, el cambio que experimentan estas estructuras, es decir, su maduración, desde etapas fetales a adultas, ocurre durante la pubertad, a este proceso se le llama maduración funcional o diferenciación. Durante este periodo, el número de células de Sertoli establecido, determina la talla testicular final y el número de espermatozoides producidos en animales sexualmente maduros (**Sharpe et al., 2003**).

Los factores que determinan el número de células de Sertoli son principalmente genéticos y hormonales, en particular la FSH, las hormonas tiroideas, pero también la hormona del crecimiento (HG) y varios factores de crecimiento paracrino (IGF-1; **Sharpe, 1994, 1999**).

Durante la pubertad, las células de Sertoli experimentan un cambio radical en su morfología y función, ya que pasan, desde un estado proliferativo inmaduro, a un estado no proliferativo maduro pero en el que hay diferenciación celular. Los núcleos se alargan, llegando a ser tripartitas y los nucléolos llegan a ser más prominentes. Las células de Sertoli adyacentes comienzan a formar uniones estrechas para crear un compartimiento adluminal único en el cual las etapas meióticas y post-meioticas de la espermatogénesis se llevan a cabo; en esta etapa comienza a formarse un lumen lleno de fluido y como resultado de esto, comienzan a surgir y desarrollarse las células germinales en el compartimiento adluminal, además, tienen acceso directo a muchos nutrientes, ya que llegan a ser dependientes de la secreción de cada factor que secreta la célula de Sertoli (**Sharpe et al., 2003**). Durante las etapas peripuberales, la FSH, permite la maduración final de las células de Sertoli, además

de incrementar la secreción de proteínas como la proteína que se une a andrógenos (ABP, por sus siglas en inglés; **González *et al.*, 1988**).

La expresión de densas poblaciones de receptores de andrógenos se presenta durante etapas peripuberales, ya que las concentraciones elevadas de FSH y testosterona, coinciden con la expresión de receptores de andrógenos en las células de Sertoli, que permiten su maduración final (**Sharpe *et al.*, 2003**).

Además las hormonas tiroideas, desempeñan una función importante para la diferenciación de las células de Sertoli, ya que durante la etapa fetal y posnatal, existe un incremento en las concentraciones de T₃ (**Jannini *et al.*, 1995**). Durante la etapa peripuberal, la T₃, interactúa con andrógenos, tal vez con FSH, para la maduración final de las células de Sertoli, ejemplo de ello, son algunos experimentos *in vitro*, utilizando ratas, en las que se demuestra que la FSH y T₃ inducen la expresión del receptor de andrógenos en células de Sertoli inmaduras (**Arambepola *et al.*, 1998a**) y reprimen la expresión de AMH (**Arambepola *et al.*, 1998b**), por tanto, la FSH y la T₃ tienen efectos aditivos, de hecho, se ha demostrado, en humanos y primates, que la ausencia o bajas poblaciones de T₃ en la célula de Sertoli, previene la inducción de receptores de andrógenos (**Jannini *et al.*, 2000**).

2.1.2.3 La barrera hematotesticular

Un importante mecanismo en el testículo, es la regulación de las sustancias que entran al interior de los túbulos seminíferos, este evento se da a través de la barrera hematotesticular, que, como se había mencionado, se forma por las uniones estrechas entre células de Sertoli. La barrera hematotesticular, es necesaria para prevenir que el sistema inmunológico destruya las células espermáticas que se encuentran en el proceso de maduración, ya que

son antigénicamente diferentes del resto del organismo. Esta barrera consta de una lámina entrecruzada compuesta principalmente por los citoplasmas de las células de Sertoli, los cuales se adhieren entre sí por uniones estrechas, en tanto que al exterior de la barrera hay espermatogonias y espermatoцитos que apenas inician la meiosis I, también controla el ambiente intratubular (**Tähkä, 1989; Sylvester y Griswold, 1993**).

Además, la barrera hematotesticular, divide al túbulo seminífero en dos compartimientos: el basal y el adluminal. Esto sucede durante la etapa de preleptoteno, en la meiosis I, los espermatoцитos, pasan a través de la barrera hematotesticular y se mueven desde la membrana basal al compartimiento adluminal (**Setchell, 1978; Waites y Gladwell, 1982**).

2.1.2.4 Las células germinales y las células mioides peritubulares

La población de células germinales, está organizada en estratos o niveles; en el estrato basal, se encuentran las espermatogonias, y en el adluminal, se encuentran espermatoцитos I y II, y espermátidas en diferenciación; es precisamente por esta disposición, que se caracterizan por experimentar una diferenciación progresiva desde la región basal del túbulo hacia el lumen o luz, en la que su ploidía se modifica, ya que de ser células diploides, se convierten a haploides, por los diferentes procesos de división celular que experimentan, por ello, las células germinales haploides dan lugar a los espermatozoides, que se desprenden del túbulo seminífero para quedar libres en el lumen y desplazarse hacia el epidídimo.

Por otra parte, las células mioides, que se encuentran en la periferia del túbulo seminífero, debido a las contracciones que presentan, pueden modificar el diámetro de éste y ayudar al desplazamiento de los espermatozoides a lo largo de él. Estas células presentan uniones entre células vecinas que retardan, pero no evitan por completo, el paso de macromoléculas

del espacio intersticial al epitelio seminífero, además presentan receptores androgénicos (Lesson *et al.*, 1990; Figura 2).

2.1.2.5 El tejido intersticial y las células de Leydig

El espacio o tejido intersticial, se encuentra situado entre los túbulos seminíferos y está formado por algunas fibras de colágeno, vasos sanguíneos y linfáticos, nervios, las células de Leydig o intersticiales, fibroblastos, macrófagos, y algunas células mesenquimatosas indiferenciadas. Se caracteriza por tener una gran vascularización y durante la irrigación del tejido intersticial, los vasos sanguíneos y linfáticos y los nervios entran y salen por el mediastino, formando redes alrededor de los túbulos, esto es importante para las células de Leydig, que son células poliédricas grandes cuyo núcleo contiene gránulos gruesos de cromatina y un nucléolo bien marcado, estas células son muy importantes, ya que son las responsables de la producción de andrógenos, principalmente testosterona.

Aunque existe regulación hormonal local de andrógenos dentro de los testículos, la mayor parte de estas hormonas se vierten a la circulación general, a través de los vasos sanguíneos; es por ello que los andrógenos son promotores del crecimiento, produciendo la conformación característica del cuerpo del macho, estimulan sus características sexuales secundarias, regulan el sistema nervioso central y la espermatogénesis (Durán-Ramírez *et al.*, 2008; Figura 2).

2.1.2.6 El espermatozoide y el semen

2.1.2.6.1a El espermatozoide

El espermatozoide es una célula altamente especializada que está formada por dos partes principales: cabeza y cola o flagelo. La parte anterior de la cabeza está envuelta por el acrosoma, que porta las enzimas necesarias para el proceso de fertilización.

La cola o flagelo del espermatozoide es la región locomotora de la célula y aporta la fuerza móvil necesaria para que se traslade hasta la superficie del ovocito, este está compuesto por cuatro segmentos: la pieza de conexión (cuello), la pieza media, la pieza principal y la pieza final y las estructuras que lo integran son los paquetes mitocondriales, y los paquetes fibrosos. Debido a esto, su movimiento es responsable de la propulsión en el medio fluido, ya que el flagelo, genera remolinos que van desde la pieza principal, hasta la pieza final (Figura 3).

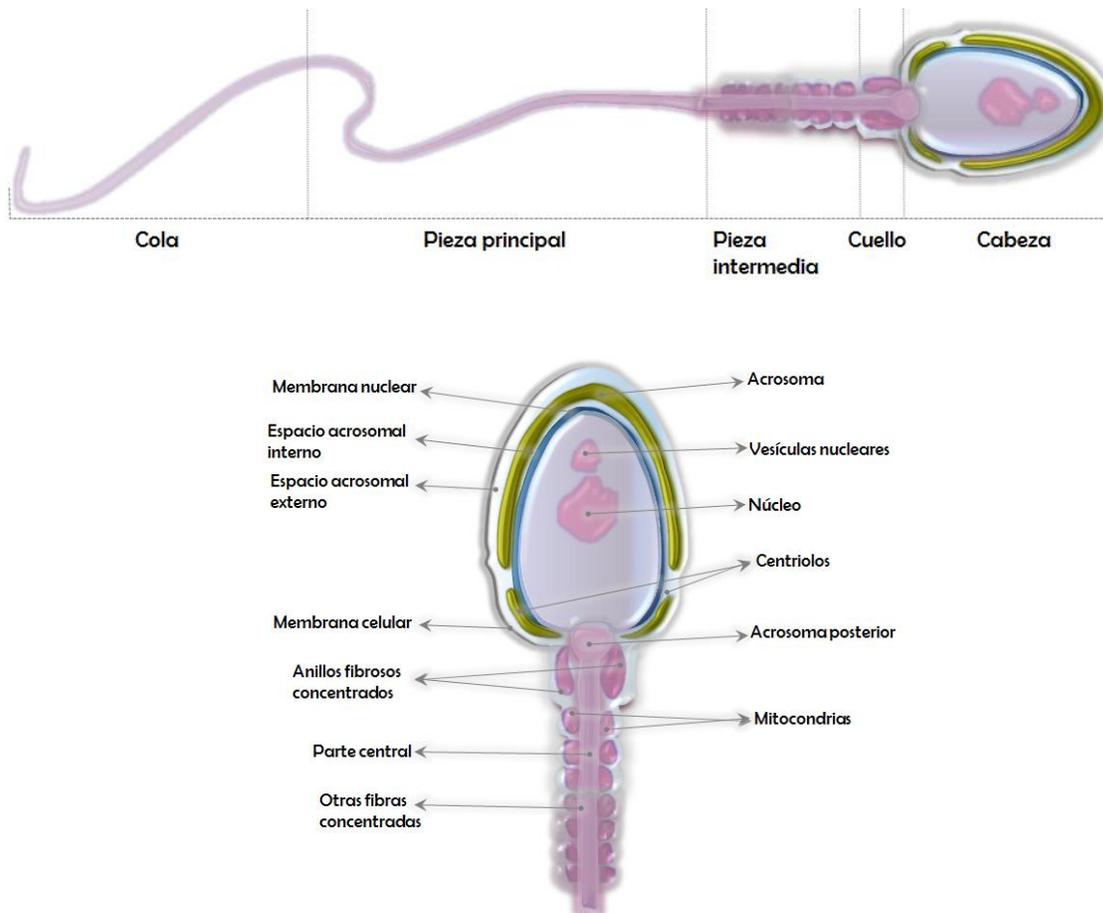


Figura 3. Esquema de las principales regiones y estructuras que presenta el espermatozoide, este está formado por cabeza y cola o flagelo. La parte anterior de la cabeza está envuelta por el acrosoma, la cola o flagelo del espermatozoide constituyen la región locomotora de la célula y aporta la fuerza móvil necesaria para que se traslade hasta la superficie del ovocito, este está compuesto por cuatro segmentos: la pieza de conexión (cuello), la pieza media, la pieza principal y la pieza final y las estructuras que lo integran son los paquetes mitocondriales, las fibras densas externas y los paquetes fibrosos. Debido a esto, su movimiento es responsable de la propulsión en el medio fluido, ya que el flagelo, genera remolinos que van desde la pieza principal, hasta la pieza final (Durán-Ramírez *et al.*, 2008).

El largo total del espermatozoide del carnero es de unas 60 micras (60µm). La cabeza mide de 8 a 10 µm de largo, 4 µm de ancho y 1 µm de grueso. Es relativamente pequeña, comparada con el ovocito cuyo diámetro es de 160 a 180 µm. El ovocito tiene un volumen dieciséis mil veces mayor al del espermatozoide (**Durán-Ramírez et al., 2008**).

2.1.2.7 El plasma seminal

El plasma seminal, es una mezcla de líquidos secretados por la prostata, epidídimo, conductos deferentes y otras glándulas accesorias; está constituido por espermatozoides suspendidos en un medio fluido y tiene como función principal, regular la función química del eyaculado. Su pH puede variar de acuerdo a la especie, (6.8 a 7), pero se caracteriza por ser ligeramente ácido en toros y carneros, en estos últimos, su consistencia es opaca y de color blanco o cremoso debido a su alta concentración de espermatozoides.

El principal componente del plasma seminal es el agua (75 %), aunque también aparecen sustancias orgánicas e inorgánicas que sirven de protectores y nutrientes, además de ser un líquido de tipo isotónico y neutro (**Durán-Ramírez et al., 2008**).

La composición química de las secreciones de las glándulas sexuales accesorias varía entre especies, entre machos de la misma especie y entre eyaculados del mismo macho, estas variaciones se deben principalmente a factores ambientales como la nutrición, el manejo, los métodos de obtención, la acción de las enzimas presentes en el plasma seminal y la actividad metabólica de los espermatozoides suspendidos en el plasma seminal (**Kilian et al., 1993; Aurich et al., 1996**).

En general, el plasma seminal, tiene tres funciones principales: primero, actúa como vehículo para los espermatozoides, transportándolos desde el sistema reproductor del

macho, durante la eyaculación; segundo, sirve de activador para los espermatozoides, y tercero, proporciona un medio rico en nutrientes, que ayuda a mantener su supervivencia después de ser depositados en el aparato genital de la hembra (**Durán-Ramírez *et al.*, 2008**).

2.1.2.7a Proteínas del plasma seminal

Las proteínas que contiene el plasma seminal, son producto principalmente de la secreción de las vesículas seminales y del epidídimo (**Chandonnet *et al.*, 1990**) y su función durante la maduración del espermatozoide y la eyaculación es muy importante ya que mantienen y regulan diversos procesos, como la estabilidad del plasma seminal (**Desnoyers y Manjunath, 1992**), la movilidad (**Henricks *et al.*, 1998; Sánchez-Luengo *et al.*, 2004**), la capacitación (**Therien *et al.*, 1998**), la interacción espermatozoide-ovocito, para la fertilización (**Yanagimachi, 1994**), influyen en el proceso de fusión del espermatozoide con el ovocito (**El-Hajj Gahoui *et al.*, 2007**), promueven la fagocitosis de los cuerpos residuales durante la espermiación y regulan el transporte del espermatozoide a través del epidídimo (**Dacheux *et al.*, 2003**); es tanta su importancia, que existe una relación entre el plasma seminal y el contenido de proteína total; sin embargo, la cantidad de proteínas, varía entre especies y por efecto de algunos factores ambientales, como la estacionalidad reproductiva, la temperatura, la nutrición y el estrés (**Pérez-Pé *et al.*, 2001**).

2.2 ESPERMATOGÉNESIS

La gametogénesis se divide en cuatro fases: 1) el origen de las células germinales y su migración a las gónadas; 2) la multiplicación de las células germinales a través del proceso de mitosis; 3) la reducción del número de cromosomas a través de la meiosis y 4) las etapas finales de maduración y diferenciación de los gametos en espermatozoides con capacidad fecundante.

En el macho, la transformación de las células germinales primordiales mitóticamente activas a espermatozoides maduros, recibe el nombre de espermatogénesis, proceso que implica una extensa serie de transformaciones estructurales de las células. En este evento, son aproximadamente 10 diferentes tipos de células las que se producen y participan de diferente manera en los túbulos seminíferos (**Márquez-Orozco, 1997**).

2.2.1 Espermatogénesis

La espermatogénesis, integra diversos eventos, como la espermatocitogénesis, la meiosis I y II y la espermiogénesis.

Las primeras etapas de la espermatogénesis se llevan a cabo en la periferia del túbulo (el compartimiento basal), y las etapas posteriores se realizan cerca de la luz (compartimiento adluminal; **de Krester *et al.*, 1998; Figura 4**).

Para que se inicie la espermatogénesis, las células de Sertoli deben producir un polipéptido mitogénico, el cual desencadena la multiplicación de los diferentes tipos de espermatogonias, también existe una gran cantidad de factores de crecimiento que están involucrados en los mecanismos de control local que influyen la replicación de las células madre por mitosis y las dos divisiones meióticas (**de Krester *et al.*, 1998**).

A grandes rasgos, el proceso de espermatogénesis, puede dividirse en tres etapas (**de Krester y Kerr, 1994**):

- 1) La multiplicación de espermatogonias por el proceso de mitosis.
- 2) La meiosis, que reduce el número de cromosomas de una célula diploide a una haploide; esto comienza con la entrada de espermatogonias tipo B en la profase de la primera división meiótica, a las que se les llama espermatocitos primarios, que se dividen

para formar espermatocitos secundarios en la segunda división meiótica, dando lugar a las espermatidas redondas.

3) Este evento culmina con la transformación que experimenta la espermatida redonda en el espermatozoide, a través del proceso conocido como espermiogénesis.

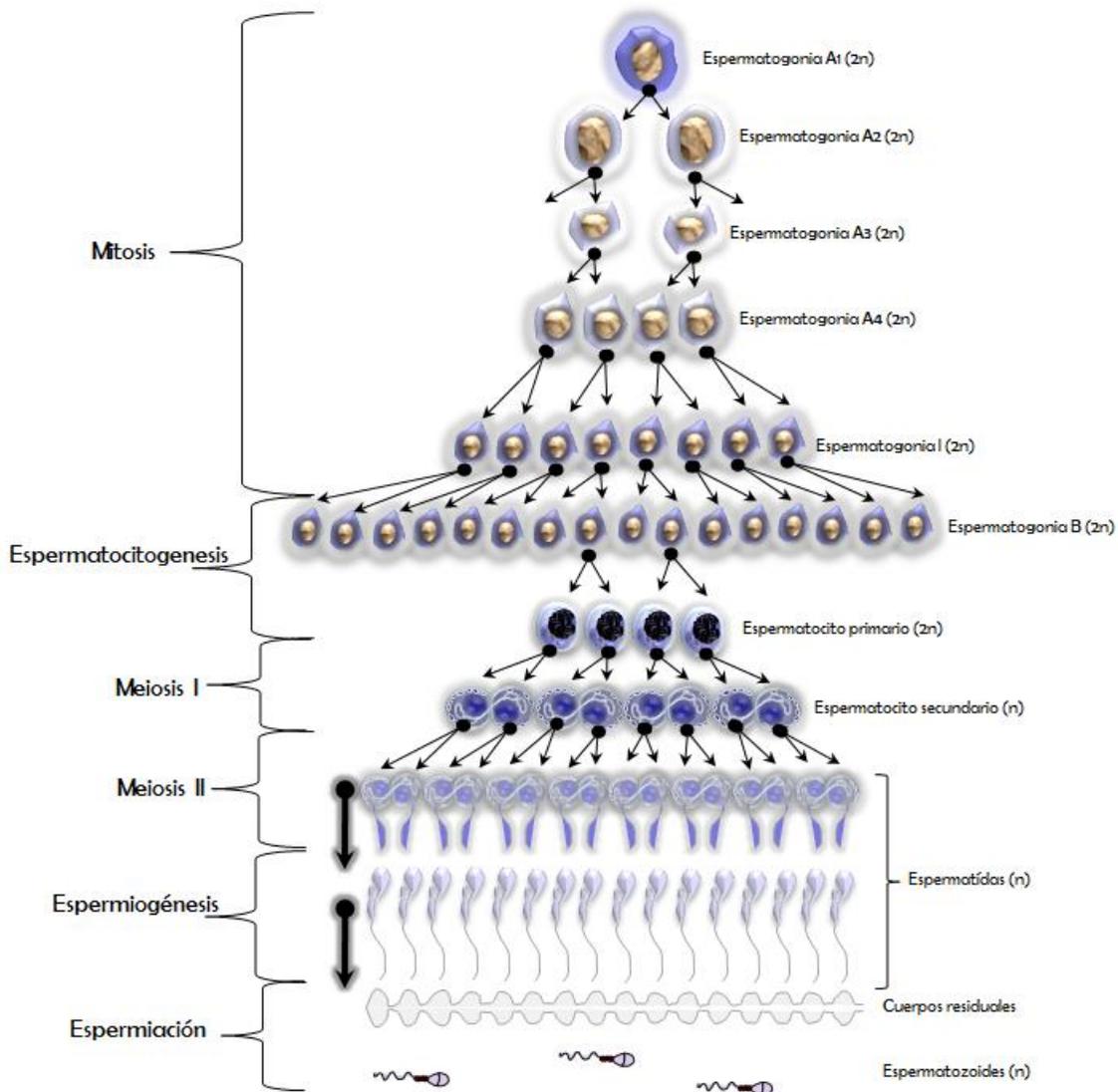


Figura 4. Esquema que muestra el proceso de Espermatogénesis (Espermatocitogénesis, Meiosis I y II y Espermiogénesis) que se llevan a cabo en los túbulos seminíferos del testículo, durante todo este evento, las células están interconectadas por puentes citoplasmáticos, en donde la célula de Sertoli sostiene a las células germinales en proliferación. Existen 6 tipos de espermatogonias A1-A4, Intermedias y B, por tanto hay 6 divisiones mitóticas, posteriormente en la espermatocitogénesis, las células cambian su ploidia, se convierten en células diploides (2n) a haploides (n), en la espermiogénesis, la espermatida redonda, experimenta una serie de transformaciones morfológicas, esta estructura se elonga para convertirse en espermatozoide, posteriormente, se desprende de la célula de Sertoli a través del proceso de espermiación para iniciar su viaje al epidídimo en donde adquiere madurez y movilidad. Esquema tomado de Internet: www.histologia.uchile.cl

Por otro lado, la regulación y comunicación hormonal de la espermatogénesis ocurre de dos maneras (**de Krester y Kerr, 1994; de Krester *et al.*, 1998**).

- 1) De tipo endócrino, que involucra la regulación hormonal del SNC y la gónada.
- 2) De tipo parácrino/Autócrino, que involucra la comunicación celular y la regulación hormonal entre las células testiculares que integran la gónada.

2.2.2 Espermatocitogénesis

En la espermatocitogénesis, existen diversos tipos de espermatogonias que se dividen a través del proceso de mitosis, el tipo A representa la población de células madre, que a su vez, se dividen en un grupo de células no cíclicas (Ad) que son células de reserva a largo plazo, algunas de estas se transforman en células mitóticamente activas (Ap). Las tipo A1 forman primero dos espermatogonias A2 o espermatogonias claras, estas células, por mitosis dan origen sucesivamente a las espermatogonias A3, a las A4, las I o Intermedias. Las tipo I, al dividirse forman las espermatogonias tipo B, que son las últimas que se multiplican por mitosis, y son las precursoras de los espermatocitos primarios, por lo tanto, se experimentan 6 divisiones mitóticas (**Figura 4**).

Tan pronto comienzan las divisiones mitóticas de las espermatogonias tipo A, las células hijas se conectan entre sí mediante puentes intercelulares de citoplasma, también llamados sincitios, que son resultado de una citocinesis (división celular) incompleta; estas estructuras, facilitan la comunicación y división sincrónica, hasta que son espermátidas (**Figura 4; Hyttel, 2010**).

2.2.3 Meiosis I y II

La última división mitótica de espermatogonias tipo B, tiene como resultado la formación de espermatocitos primarios, dando lugar a la Meiosis I. Esta transformación celular se caracteriza por tener una profase muy prolongada; además, los espermatocitos se van relocalizando a través de la barrera hematotesticular y se van dirigiendo al compartimento adluminal de los túbulos seminíferos, este mecanismo es similar al de un cierre en el que las células están ligadas por medio de las uniones estrechas de las células de Sertoli. La culminación de la meiosis I, tiene como resultado, la formación de dos grupos de espermatocitos secundarios, estructuras que ya son células haploides, en donde cada uno de los cuales se divide a través del proceso de meiosis II, para dar lugar a la formación de 4 espermatidas haploides. A través de esta serie de divisiones, desde la segunda generación de espermatogonias tipo A a las espermatidas, la citocinesis está incompleta, porque deja a todas las células aún conectadas por los sincitios (**Figura 4**) y así se quedan hasta el proceso de espermiación, cuando se libera la espermatida tardía del citoplasma de la célula de Sertoli (**Marquez- Orozco, 1997; Hyttel, 2010**).

2.2.4 Espermiogénesis

Después de la Meiosis II, quedan 4 espermatidas redondas, estructuras haploides que experimentan espermiogénesis. Este proceso es caracterizado por cambios estructurales de la espermatida redonda, que ocurre al finalizar la segunda división meiotica, para convertirse en espermatozoides.

La espermiogénesis presenta 4 etapas (**Olivera *et al.*, 2006**):

- 1) **La fase de golgi:** Durante este periodo, el aparato de Golgi se acerca al núcleo y desprende vesículas que se unen para convertirse en la vesícula acrosomal que se localiza en la parte apical del núcleo. Los centriolos migran hacia lo que será la base del núcleo y, a partir del centriolo distal crece el axonema conformado por dos microtúbulos centrales y 9 pares de microtúbulos periféricos.
- 2) **La fase cap o de capuchón:** Esta fase se caracteriza porque los gránulos acrosomales se aplanan y cubren una amplia porción, formando un capuchón en el núcleo. La cromatina se condensa a histonas que se intercambian con protaminas y los gránulos acrosomales que forman el capuchón acrosómico.
- 3) **Fase acrosomal:** La espermátida gira de tal forma que el acrosoma queda en dirección de la membrana basal; el citoplasma se desplaza hacia la base de la cabeza y se localiza por debajo de la unión núcleo-axonema; las mitocondrias se agrupan alrededor de este último en su parte cercana al núcleo, formando la pieza media, En esta fase, el espermatozoide adquiere su morfología definitiva.
- 4) **Fase de maduración:** La morfología de la cabeza del espermatozoide (falciforme, como en los roedores o espatulada, como en ungulados) y la cola o flagelo se desarrollan. La cabeza ya está cubierta en sus dos terceras partes por el acrosoma; y la cola o flagelo compuesta por las piezas media, principal y terminal; en la pieza media se encuentran las mitocondrias en forma de hélice. En esta fase se elimina gran parte del citoplasma por desplazamiento del mismo hacia la pieza terminal de la cola originando la llamada gota citoplasmática.

Las espermátidas tardías, son liberadas desde las células de Sertoli al lumen del túbulo seminífero, a través del proceso de espermiación. Una gran parte del citoplasma, que incluye muchos organelos que forman parte de los cuerpos residuales de las espermátidas tardías, son fagocitados por estas células. Posteriormente, mediante movimientos peristálticos, son transportadas desde la rete testis a los conductos eferentes y de allí se almacenan en la cola del epidídimo, en donde adquieren madurez, movilidad y capacidad fecundante.

2.3 LA COMUNICACIÓN DE LAS CÉLULAS TESTICULARES Y LA REGULACIÓN DEL AMBIENTE INTRATUBULAR

La comunicación celular, es esencial para que se lleve a cabo la espermatogénesis, así como para la regulación local de andrógenos en la microcirculación testicular.

La función que desempeñan las hormonas, diversos factores de crecimiento y péptidos activos en la regulación de los diversos tipos celulares que participan en la espermatogénesis, ejercen su función a través del ciclo espermatogénico o del epitelio seminífero, que se define como las diferentes etapas en tiempo y espacio, que experimenta el tejido testicular (**O'Shaughnessy, 2014**), por tanto, la coordinación de las células que participan en él, presenta relaciones espacio-temporales, de tal forma que todos los procesos de señalización química y de regulación hormonal, a través del torrente sanguíneo y de los sistemas que regulan el testículo de manera local están definidos por la comunicación parácrina entre las células (**Tähkä, 1986; Figura 5**).

La comunicación y regulación de las células que integran el testículo presenta algunas características importantes (**Sharpe, 1986**):

- 1) La regulación de la entrada de sustancias al epitelio seminífero, a través de las células mioideas peritubulares, así como en las uniones estrechas entre las células de Sertoli, por medio del fluido intersticial, que es un medio de transporte importante en el tejido testicular. Esos mecanismos permiten la creación de un microambiente óptimo, tanto en el tejido intersticial, como en los túbulos seminíferos.
- 2) La regulación que ejerce la célula de Sertoli en las células germinales, que involucra la multiplicación de estas últimas, su diferenciación y su translocación desde el compartimiento basal al adluminal en los túbulos seminíferos, así como la liberación de la espermátida madura durante el proceso de espermiación
- 3) La interacción que existe entre los túbulos seminíferos y las células de Leydig, para la regulación hormonal está en función de los requerimientos de las células germinales **(Sharpe, 1986).**

Durante estas interacciones, las hormonas, nutrientes y factores de crecimiento, son esenciales para la función normal de la espermatogénesis; sin embargo, hay otros factores que influyen la comunicación intercelular, como la tasa del flujo sanguíneo, la permeabilidad de los capilares testiculares y la eficiencia de la barrera hematotesticular **(Sharpe, 1986).**

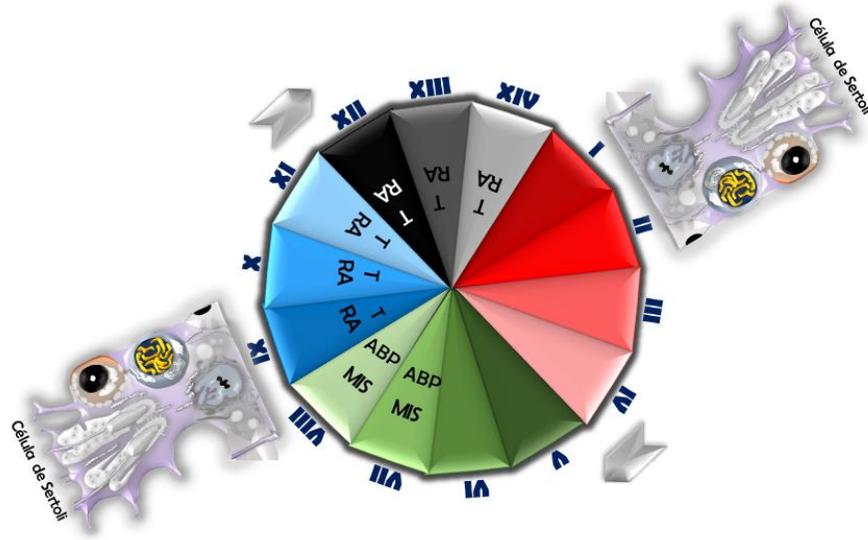


Figura 5. El ciclo del epitelio seminífero en la rata, está conformado por 14 etapas, en donde intervienen diferentes factores, hormonas, así como las células de Sertoli, Leydig y mioides-peritubulares, que actúan de manera diferente en cada etapa para regular e inducir a las células germinales a que comience el proceso de espermatogénesis (Tomado y modificado de Tähkä, 1989).

2.3.1 La importancia de las células de sertoli en la comunicación intercelular

El volumen, diámetro y otros aspectos de la célula de Sertoli, cambian de acuerdo a la fase del ciclo espermatogénico (Figura 5), esto se ha demostrado porque se han observado cambios cíclicos en la organización de su citoesqueleto, en la población de receptores de FSH y andrógenos, en la actividad de algunas enzimas tubulares y en la secreción de la hormona antimülleriana. (Parvinen, 1982; Mali *et al.*, 1985; Parvinen *et al.*, 1986; Mali *et al.*, 1987; Nikula *et al.*, 1987), además de esto, y en el transcurso de las diferentes etapas del ciclo del epitelio seminífero, las células de Sertoli producen ciertas proteínas que tienen gran importancia para el desarrollo y proliferación de las células germinales, como la ABP, la transferrina y la ceruloplasmina (Parvinen, 1982). La ABP, ejerce una función de reservorio y transportador de testosterona, actuando, principalmente, en el túbulo seminífero y epidídimo (Waites y Gladwell, 1982) y la transferrina, la principal

glicoproteína secretada por las células de Sertoli transporta hierro que está presente en el plasma, en los túbulos seminíferos y además es necesaria para nutrir a las células germinales (Skinner y Griswold, 1980).

2.3.2 La comunicación celular en el intersticio

El tejido intersticial del testículo posee un sistema vascular que transporta nutrientes, oxígeno y hormonas, estos son elementos con una alta demanda cuando se lleva a cabo la espermatogénesis (Tähkä, 1989). Este sistema de transporte está regulado por el fluido intersticial, además de las interacciones paracrinas en las que están involucradas las células de Leydig y las mioideas peritubulares para secretar diversas hormonas como estrógenos, andrógenos, prostaglandinas, angiotensina y oxitocina, las cuales tienen diversas funciones que se llevan a cabo en los túbulos seminíferos, por ello, cualquier anomalía con la función endócrina de los túbulos seminíferos provoca cambios estructurales primeramente en las células de Leydig y Sertoli y después en las células germinales (Aoiki y Fawcett, 1978; Huhtaniemi *et al.*, 1984; Tähkä y Rajaniemi, 1985; Kerr y Donachie, 1986).

Por otra parte, las células mioideas peritubulares y las células de Sertoli, poseen receptores de andrógenos que se secretan como respuesta a la síntesis de testosterona, estos son factores paracrinicos no mitogénicos, como el Factor Peritubular que regula a las células de Sertoli tipo A y B (P-Mod-S A y B, por sus siglas en inglés) que estimulan la producción de transferrina, ABP e induce la síntesis de algunas proteínas en las células de Sertoli que sirven para nutrir y cubrir los requerimientos de las células germinales (Skinner y Fritz, 1986; Verhoeven *et al.*, 2000).

2.4 REGULACIÓN HORMONAL DE LA ESPERMATOGÉNESIS

Los compartimientos intersticiales de los túbulos seminíferos están bajo el control de diferentes hormonas como la LH, FSH y testosterona, que tienen receptores en algunos tipos celulares del testículo como las células de Sertoli, Leydig y mioides-peritubulares; la función principal de estas hormonas incluye la regulación, iniciación y mantenimiento de la espermatogénesis, formación del fenotipo del macho durante la diferenciación sexual, y estimula la madurez sexual durante la pubertad (**Figura 6; Tähkä, 1989**).

Para que estas hormonas ejerzan su efecto, se necesita de la participación de diversos núcleos cerebrales y otras estructuras que se encuentran en el SNC, como el hipotálamo, que integra y regula la función de neurotransmisores, a través de conexiones sinápticas entre las diferentes neuronas productoras de GnRH (**Meites, 1981; Wray et al., 1989; Veldhuis, 1991**). Estas neuronas, proyectan sus axones hacia la eminencia media y ahí liberan su contenido, el cual viaja a través del sistema sanguíneo porta hipotalámico-hipofisiario (**Silverman et al., 1994**), además, la secreción pulsátil de la GnRH, es regulada por múltiples neurotransmisores que estimulan o inhiben su secreción, como por ejemplo, los aminoácidos glutamato y aspartato, que funcionan como neurotransmisores, así como la noradrenalina, dopamina, acetilcolina, la serotonina, GABA y las β -endorfinas, entre otros (**Figura 6; Marshall, 1989**).

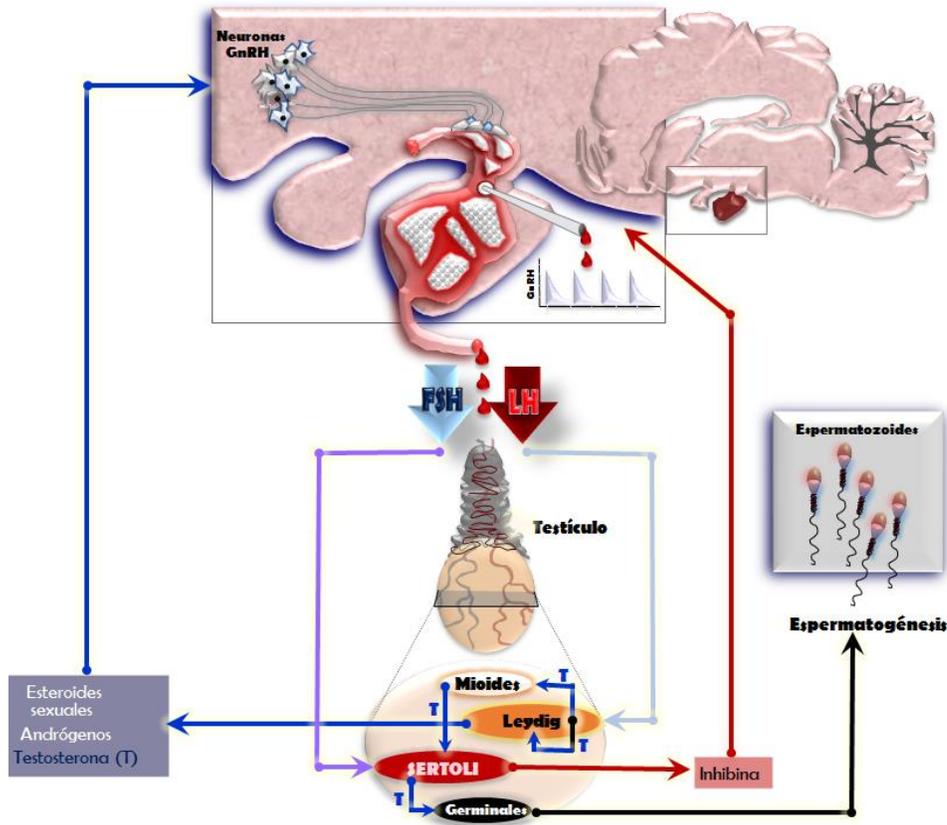


Figura 6. Esquema que muestra el eje de regulación neuroendócrina del macho. Las neuronas productoras de GnRH que se encuentran en diversos núcleos cerebrales hipotalámicos y adyacentes al hipotálamo secretan esta hormona, que a su vez, estimula la liberación de la FSH y LH, gonadotropinas procedentes de la adenohipófisis. La FSH viaja a través del torrente sanguíneo y hace blanco en la célula de Sertoli para estimular, de manera parácrina, a las células germinales a que inicien el proceso de espermatogénesis y la LH viaja también a través del torrente sanguíneo y hace blanco en la célula de Leydig para producir testosterona que también es indispensable para que se lleve a cabo este evento. Las células que poseen receptores de testosterona y que intervienen en la espermatogénesis son las células de Sertoli y las mioides-peritubulares (Modificado de Holdcraft *et al.*, 2004).

Posteriormente, la GnRH actúa en los gonadotropos de la adenohipófisis para estimular la secreción de LH y FSH. El paso inicial involucra la unión de GnRH al receptor membranal de los gonadotropos. La unión del receptor parece ser dependiente de AMP cíclico (AMPC) e instantáneamente requiere calcio y la activación de la proteína kinasa C. Después de los procesos de transcripción del gen específico de las gonadotropinas, la transducción del ARN mensajero (ARNm), síntesis de proteínas y la glicosilación post-traducción de los polipéptidos gonadotrópicos, y el empaquetamiento intracelular de las hormonas

gonadotrópicas en vesículas exocitóticas, son transportadas hacia la membrana plasmática y descargadas en el torrente sanguíneo para ser transportadas al órgano blanco, en este caso, el testículo (**Figura 6; Knobil *et al.*, 1980**).

2.4.1 Mecanismo de acción de las gonadotropinas

Las gonadotropinas ejercen su efecto en los testículos mediante la unión a receptores específicos, localizados en la membrana celular. Es por ello que los túbulos seminíferos, son sitios de acción de la FSH (**Menas y Vaitukaitis, 1972**). Los eventos bioquímicos iniciales después de la unión de la FSH a su receptor son similares a los de la LH. En las células de Sertoli, la elevación en los niveles de AMPc después de que la FSH se une a su receptor membranal activa la proteína kinasa C (PKC) y estimula la síntesis de proteínas, incluyendo la síntesis de la ABP y la síntesis de la enzima aromatasa que convierte la testosterona a estradiol (**Dorrington *et al.*, 1975**), es por ello que se considera que la FSH desempeña una función importante en la esteroidogénesis induciendo la maduración de las células de Leydig que se encuentran en desarrollo e incrementa el número de receptores de LH (**Kerr y Sharpe, 1985; Figura 7**).

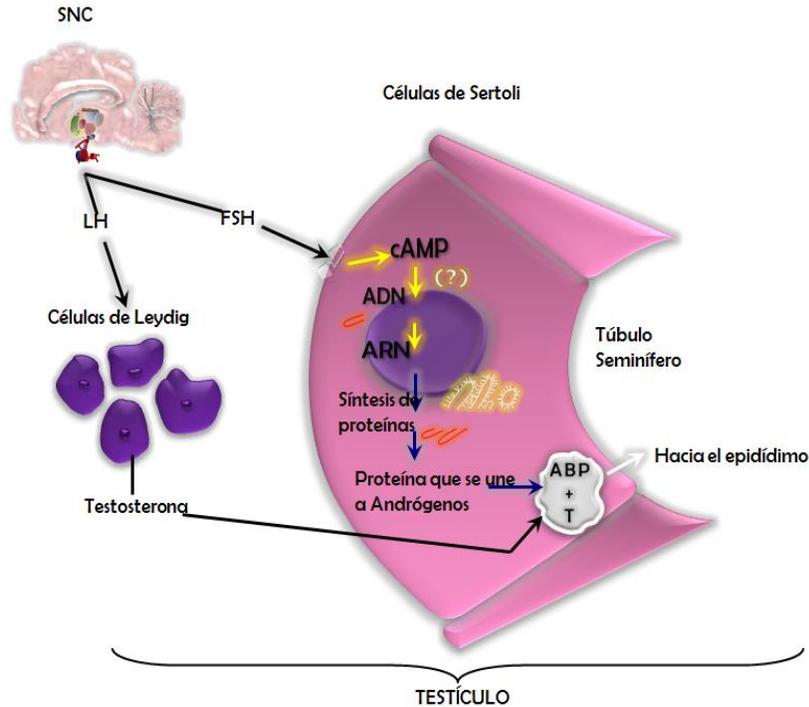


Figura 7. Las gonadotropinas procedentes de la adenohipófisis ejerciendo su efecto en la célula de Sertoli y Leydig testiculares, mediante su unión a receptores específicos localizados en la membrana celular. El túbulo seminífero es el sitio primario de acción de la FSH en las células de Sertoli, la elevación en los niveles de AMPc después de que la FSH se une a su receptor membranal activa la proteína quinasa y estimula la síntesis de proteínas, incluyendo la síntesis de la proteína que se une a andrógenos. Se considera además, que la FSH desempeña una función importante en la esteroidogénesis induciendo la maduración de las células de Leydig en desarrollo e incrementando en ellas el número de receptores de LH (**Imagen Modificada de Hadley, 1996**).

En el caso de la LH, esta interactúa con receptores membranales en las células de Leydig; la unión al receptor estimula a la adenilato ciclasa que cataliza la formación del AMPc. La liberación del AMPc dentro del citoplasma en la célula de Sertoli, es seguida por la unión de AMPc a la PKC, una disociación de la subunidad reguladora y una activación de la subunidad catalítica de la enzima. La activación de la PKC en las células de Leydig, tiene como resultado, la conversión de colesterol a pregnenolona, esta conversión, incrementa la síntesis de testosterona (**Podesta et al., 1978; Figura 8**).

2.4.2 La acción hormonal en el testículo

La función de las células de Leydig, es principalmente, secretar andrógenos y el principal esteroide que secreta es la testosterona; sin embargo, la androstendiona también es secretada por el testículo, aunque en ovinos, muestra un grado menor de androgenicidad.

Además, es en la célula de Leydig de donde derivan todos los andrógenos que ejercen su acción en las diferentes estructuras en el testículo, a partir de la molécula precursora, el colesterol. Esta célula, capta el colesterol desde lipoproteínas plasmáticas, y lo utiliza como sustrato para la síntesis de esteroides (**Figura 8**).

Las lipoproteínas que transportan colesterol son las lipoproteínas de baja densidad (LDL), para las cuales, existen receptores específicos de membrana. Estos receptores median la endocitosis de las LDL, que en el interior de las células se fusionan con los lisosomas, que degradan las proteínas y desesterifican el colesterol. El colesterol libre es reesterificado y acumulado en gotitas lipídicas en el citoplasma celular. Posteriormente, el colesterol será de nuevo desesterificado y rescatado de la gotita lipídica en el primer paso de la síntesis de las hormonas esteroides, una proteína transportadora traslada el colesterol a través del citoesqueleto a la mitocondria, donde comienza la síntesis de esteroides.

Las señales para iniciar la síntesis de esteroides proceden de la LH, en contacto con sus receptores específicos de la membrana, que activan la síntesis intracelular de AMP-cíclico, uno de los mediadores necesarios de la síntesis de esteroides.

El primer paso de este evento, comienza en la membrana interna de las mitocondrias, donde iniciarán un proceso de reducción del número de carbonos de 27 hasta 21 en el caso de la progesterona, 19 en el caso de los andrógenos y 18 en el caso de los estrógenos. La

reducción del número de carbonos se produce por oxidaciones catalizadas por enzimas de la familia de los citocromos P450, Esta enzima, corta la cadena lateral de 6 carbonos del colesterol, produciendo ácido isocaproico y pregnenolona. La pregnenolona, es precursor de todas las hormonas esteroides (Hall, 1994; Figura 8).

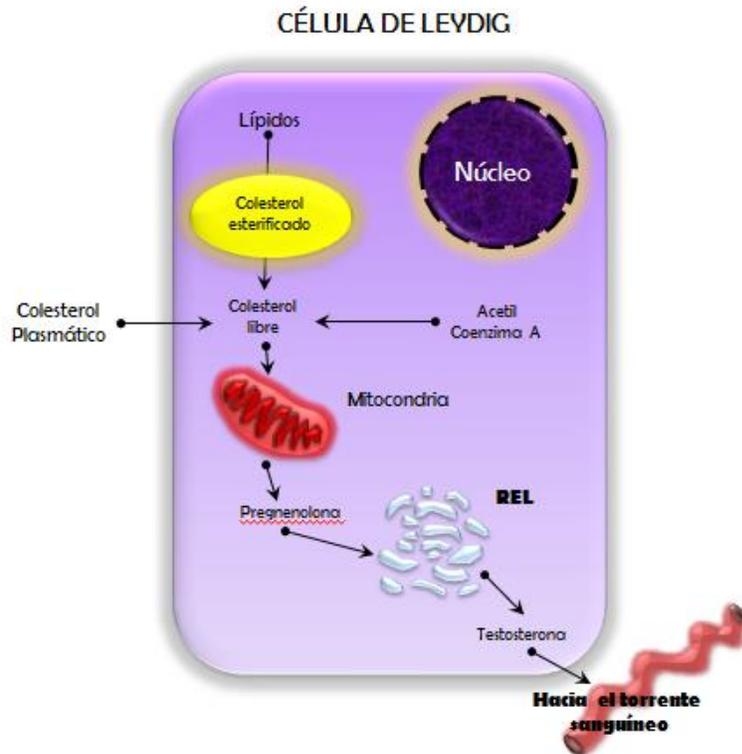


Figura 8. Esquema que muestra a una célula de Leydig hipotética, en donde se describe cómo los andrógenos se originan y se secretan a partir de esta estructura en el testículo. El colesterol, precursor de las hormonas esteroides, puede ser sintetizado *de novo* a partir la acetil coenzima A o puede ser derivado de las reservas plasmáticas, donde está unido a una lipoproteína de baja densidad. Se sintetiza dentro de las células de Leydig, que es la fuente más importante para el sustrato de testosterona. La maquinaria enzimática que utiliza la célula para la síntesis de la testosterona, está compartimentalizada en los diferentes organelos subcelulares. Las enzimas requeridas para la transformación del colesterol a la pregnenolona, se localizan en el interior de la mitocondria, mientras que aquellas asociadas a la transformación de la pregnenolona a testosterona se encuentran en el retículo endoplásmico o fracción microsomal y de ahí, salen hacia el torrente sanguíneo (Griffin y Wilson, 1992).

2.4.3 Transporte de testosterona en plasma

La testosterona circulante en el plasma se une a una proteína plasmática. La principal molécula se llama globulina que une testosterona, también llamada globulina que enlaza hormonas sexuales (SHGB; **Wilson *et al.*, 1992**).

En el interior de la célula de Leydig, la testosterona puede convertirse en dihidrotestosterona por la 5 α -reductasa, ya que las dos hormonas se unen al receptor de andrógenos con la misma afinidad, de esta forma, el complejo hormona-receptor (H-R) regula la secreción de gonadotropinas y la diferenciación sexual masculina, sin embargo, el complejo dihidrotestosterona-receptor es responsable de la masculinización externa durante la embriogénesis y el desarrollo de las características sexuales secundarias del macho (**Wilson *et al.*, 1992**). Por tanto, los efectos de los andrógenos en el epitelio seminífero, son regulados por el receptor de andrógenos, que es una proteína que se localiza en el núcleo o citoplasma de la célula (**Lyon *et al.*, 1975; Johnston *et al.*, 2001; Tsai *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2009**). La testosterona pasa a las células de Sertoli a través de los receptores de andrógenos que se encuentran en el citoplasma y el núcleo, e inicia la respuesta funcional requerida para apoyar la espermatogénesis, además, interactúa con los receptores de andrógenos expresados en las células de Leydig, peritubulares, capilares y células vasculares endoteliales (**Smith *et al.*, 2014; Figura 8**).

En el macho adulto, los niveles de testosterona se mantienen relativamente constantes, además, se ha comprobado que altos niveles de receptores de andrógenos en las células mioides-peritubulares, sugieren que la testosterona es activada también en esas células (**Rey *et al.*, 2009**).

2.5 EVALUACIÓN SEMINAL

El objetivo de una evaluación seminal, es determinar la fertilidad del semen (**Bearden y Fuquay, 1997**), existen muchos aspectos a evaluar que son tanto cualitativos como cuantitativos, razón por la cual, en una prueba de campo, se debe incluir el análisis de todas las características seminales (**Anel *et al.*, 2006**).

Algo importante a considerar, es que el semen de carnero es muy sensible a los cambios ambientales, ya que cuando se extrae de manera artificial, a pesar de que puede ser de excelente calidad, con un mal manejo, puede deteriorarse con facilidad.

Los factores que pueden afectar la supervivencia de los espermatozoides son la temperatura, la luz, contacto con metal y agua, impurezas, el uso de desinfectantes, y la exposición prolongada al aire (**Durán Ramírez *et al.*, 2008**).

2.5.1 Obtención de semen por vagina artificial

La vagina artificial, es una imitación de la vagina de la hembra y proporciona el estímulo térmico (temperatura) y mecánico (presión) para mantener la erección del pene, además sirve para producir la eyaculación. La temperatura de la vagina artificial, inmediatamente antes de colectar el semen, debe ser de 42 a 45° C y los tubos colectores se deben calentar de 30 a 37° C, antes del muestreo (**Durán Ramírez *et al.*, 2008**).

2.5.2 Características cualitativas para una evaluación en campo

Después de colectado el semen y antes de usarlo, se deben determinar las características cuantitativas y cualitativas del eyaculado para que no se afecte la viabilidad de los espermatozoides.

Las características cualitativas incluyen movilidad masal, volumen y color del semen (aspecto) son las primeras que se evalúan, esto se debe hacer lo más pronto posible después

de su obtención en el mismo tubo colector e inmediatamente después de obtenida la muestra.

El semen de carnero normalmente tiene un aspecto y un color blanco lechoso o cremoso pálido, aunque puede variar de unos eyaculados a otros, y llegar a tener un aspecto acuoso, esto depende de la relación entre la concentración de espermatozoides y la del plasma seminal, es por ello que las muestras de semen de alta consistencia presentan más espermatozoides y suelen tener una consistencia lechosa y las que tienen menor consistencia son más acuosas (**Durán Ramírez *et al.*, 2008**).

Cuando la obtención de la muestra se hace con vagina artificial, el promedio de volumen, para el carnero es de aproximadamente 1.0 mL, esto depende de la edad, condición física del macho, la frecuencia de muestreo y la destreza de quien toma la muestra.

Posteriormente, la movilidad masal se valora mediante la característica oleada espermática (movimiento del semen) en una muestra.

El semen de carnero presenta una oleada de movimiento que se valora entre 0 y 5 puntos; esta forma de evaluación, como todas las características cualitativas, son subjetivas en una prueba de campo, aunque con la práctica se puede hacer una estimación bastante segura (**Cuadro 1**).

Cuando se observa al microscopio con un aumento de 100x, una gota de semen, se observan las ondas de movimiento, que se deben a los desplazamientos de los espermatozoides en diferentes direcciones. La presencia y velocidad de estas ondas, se puede utilizar como criterio de evaluación en una prueba de campo, ya que la onda de movimiento, sólo se puede observar en las especies que poseen una alta concentración espermática, como es el caso del carnero (**Durán Ramírez *et al.*, 2008**).

Cuadro 1.- Se especifica la relación de los valores, clase y descripción de las características para una prueba de calidad del semen.

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 son activos.
4	Buena	Movimiento vigoroso, pero las ondas y los remolinos no son rápidos con los del valor 5. Alrededor del 70 y 85% de células activas.
3	Regular	Sólo aparecen ondas de movimiento lento. Se pueden ver espermatozoides aislados. Entre 45 y 65% de las células son activas.
2	Pobre	No aparecen ondas aunque se observan movimientos de espermatozoides. Sólo viven entre 20 y 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.

Modificado de Durán Ramírez *et al.* (2008)

Las muestras de semen de buena o muy buena movilidad masal (clasificación 4 ó 5) se pueden utilizar para inseminación artificial y las muestras con valoración de 3 ó menos pueden provocar una disminución en la fertilidad, por lo cual se recomienda desecharlo (Durán Ramírez *et al.*, 2008; Cuadro 1).

2.5.3 Características cuantitativas de una evaluación de campo

Las características cuantitativas incluyen el porcentaje de espermatozoides vivos y el de espermatozoides anormales (normalidad), la concentración y la movilidad progresiva individual.

Cuando se evalúa la movilidad progresiva individual se pueden observar los siguientes tipos de movimientos:

- Movimiento progresivo hacia adelante
- Movimiento circular o rotatorio
- Movimiento oscilatorio sin progreso ni cambio de posición.

La velocidad y tipo de movimiento de los espermatozoides varía debido a un gran número de factores: método de muestreo del semen, factores ambientales, manejo del semen después del muestreo, intervalo entre el muestreo y la evaluación, así como las variaciones individuales del propio semental. En el caso de rumiantes, pueden existir variaciones muy marcadas de las muestras que pueden deberse a la estacionalidad (**Durán Ramírez *et al.*, 2008**).

Para contar la proporción de espermatozoides móviles, se utiliza el aumento del microscopio a 400x. Se deben visualizar varios campos y valorar la proporción (porcentaje) de espermatozoides móviles, esto es, con movimientos hacia adelante.

Para determinar la concentración, es decir, del número de espermatozoides por unidad de volumen (normalmente expresado en mL), se utiliza la cámara de Neubauer y se calcula multiplicando el número total de espermatozoides de 5 cuadrantes (4 laterales y 1 central).

Los conteos se realizan por separado, en muestras diluidas de semen, haciendo un promedio de conteo de cada cuadrante para calcular la concentración.

En general el semen del carnero de buena calidad contiene entre 3.5 a 6 mil millones (3.5 a 6×10^6 de espermatozoides mL^{-1}).

Para determinar la morfología espermática o la proporción de anormales (%) se puede realizar en un frotis de semen teñido, preparados sobre un portaobjetos. Para ello se utiliza la tinción de eosina-nigrosina y se deben examinar, por lo menos 100 espermatozoides de diferentes campos, porque entre más espermatozoides se observen más aumenta la seguridad de la prueba.

Las muestras de semen que contengan más del 15% de espermatozoides anormales no se deben utilizar en un programa de inseminación artificial (**Durán Ramírez *et al.*, 2008**).

2.5.4 La circunferencia escrotal

La talla testicular es considerada una de las mejores características para conocer el rendimiento reproductivo de un semental, este es un criterio de selección que depende de la heredabilidad (**Matos *et al.*, 1992**). Es importante mencionar, que en el carnero, la talla testicular varía de acuerdo a la raza, a la edad y a la estación del año (**Söderquist y Hultén, 2006**). Por tanto, las medidas de la talla del saco escrotal, así como el criterio para la selección temprana en pequeños rumiantes, hace posible evaluar el rendimiento bajo diferentes estrategias nutricionales (**Mukasa-Mugerwa y Ezaz, 1992**).

En general, el examen morfológico del semen es una prueba de control de calidad, en el que es importante mencionar que cada eyaculado contiene espermatozoides anormales y que si la proporción de estos es muy alta, entonces se tendrá semen de baja fertilidad.

2.6 EL FOTOPERIODO EN EL MACHO

La mayoría de los pequeños rumiantes (ovinos y caprinos, principalmente) en el mundo, originalmente habitaban entre los 35° latitud norte (LN) y los 35° latitud sur (LS; **Lindsay, 1991**), pero al paso del tiempo y con la domesticación, comenzaron a poblar otras latitudes; de esta forma y como una respuesta adaptativa a lo largo de un proceso evolutivo desarrollaron estacionalidad reproductiva, la cual es regida por el fotoperiodo (**Sutama y Edey, 1985; Martin et al., 2002**).

Es por esto que los ovinos se caracterizan por tener una actividad reproductiva, que es considerada estacional (época reproductiva, días cortos). Este fenómeno está influenciado por los cambios a través del año de las horas luz, además de otros factores, como: la nutrición, las interacciones socio-sexuales, el nacimiento de corderos y el amamantamiento (**Rosa y Bryant, 2003**). Por ello, el fotoperiodo determina la estacionalidad reproductiva (**Goldman, 1999; Figura 9**).

Debido a las adaptaciones a las diferentes latitudes, los ovinos han desarrollado estrategias reproductivas “oportunistas” para hacer frente a esta situación (**Bronson, 1985**). Los sistemas que regulan estos mecanismos reproductivos responden de manera muy marcada al fotoperiodo; por ejemplo, las razas que habitan a latitudes (N ó S) mayores a 35° son más estacionales que aquellas razas que habitan a latitudes menores (regiones tropicales), en éstas últimas, la actividad reproductiva esta más influenciada por otros factores, como la nutrición, la temperatura y los estímulos socio-sexuales (**Martin et al., 2010**).

CICLO ANUAL REPRODUCTIVO

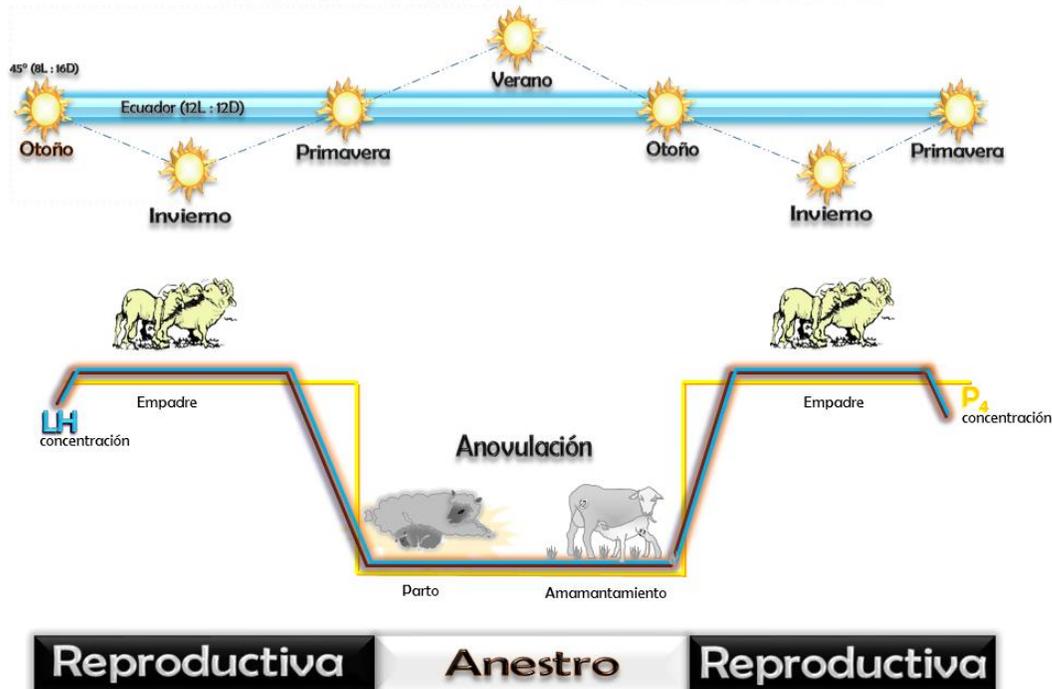


Figura 9. El fotoperiodo sincroniza los ritmos endógenos reproductivos en el individuo, con los mecanismos de adaptación a días cortos (otoño-invierno) y largos (primavera-verano), de esta forma, los animales perciben los cambios en las épocas a través de los cambios diarios en las horas luz (ritmos circadianos) así como la duración, prolongación o reducción de los días largos (refractariedad; **Malpaux, 2006**). La estacionalidad regulada por el fotoperiodo se expresa a través del tiempo y puede regular también, otros eventos fisiológicos como el apareamiento, la gestación, los nacimientos y la anovulación (**Goldman, 1999**). Se sabe que la época reproductiva en ovinos ocurre en otoño, pero las señales que marcan el reinicio de la actividad reproductiva se detectan en primavera (**Schanbacher y Lunstra, 1976; Olster y Foster, 1988**).

Por tanto, la respuesta al fotoperiodo es especie-específica, las especies con gestación que dura de 5 a 6 meses como las ovejas, las cabras y los venados, requieren que el apareamiento tenga lugar en el otoño (días cortos; **Fowler, 1988; El Omari et al., 1989; Tsubota et al., 1997**), para que los nacimientos ocurran en primavera (días largos; época de anestro estacional), esto como una ventaja ambiental y adaptativa, (**Lincoln y Short, 1980**). Sin embargo, la influencia del fotoperiodo en la reproducción puede modificarse, de manera experimental, manipulando ciertas variables, como la nutrición, los efectos socio-

sexuales (efecto macho, efecto hembra y efecto hembra-hembra) y las horas luz, ya que bajo estas condiciones, los animales experimentales pueden carecer de estos estímulos o podrían no presentarse de manera muy marcada, como por ejemplo, cuando siguen un régimen de luz constante o artificial (**Grubaug** *et al.*, 1982; **Jansen y Jackson**, 1993; **Woodfill et al.**, 1994), esto puede inducir cambios a nivel endocrino, por ejemplo, si se presenta una reducción de 16 horas luz a 13 horas luz por día, estimula la secreción pulsátil de GnRH/LH y un cambio de 10 horas luz a 13 horas luz, disminuye la frecuencia de pulsos de GnRH/LH en ovejas, lo que indica, que la información del fotoperiodo y las horas luz en particular, estimulan o inhiben la secreción pulsátil de las gonadotropinas. Todos estos eventos endócrinos están regulados por la acción de la hormona que secreta la glándula pineal, la melatonina (**Robinson y Karsch**, 1984).

En hembras, las manifestaciones externas de estro, ocurre durante la época reproductiva, y en los machos, se presenta un incremento en la talla testicular, aumento en la secreción de testosterona, una mayor producción espermática y también presentan una mayor libido (**Gerlach y Aurich**, 2000).

Por lo tanto, se piensa que en machos, la variación estacional de la actividad reproductiva, se presenta como una respuesta a las variaciones anuales en la fisiología reproductiva de la hembra, sin embargo, debe considerarse también el grado de domesticación y el tipo de sistema de explotación (intensivo vs extensivo; **Lincoln et al.**, 1990). Ya se mencionó que el efecto del fotoperiodo en los mecanismos reproductivos del macho, dependen principalmente de la latitud geográfica. Con respecto a los machos, aquellos carneros que habitan en latitud Norte arriba de los 35°, se observan cambios muy marcados en las características seminales por efecto de la época del año, y en carneros que habitan en

latitudes menores, las características seminales muestran menos variación (**Evans y Maxwell, 1987**).

Cuando se presenta la época de anestro estacional, la fertilidad y todos los eventos neuroendocrinos y reproductivos en el macho, disminuyen a un nivel mínimo, aunque como se ha mencionado también, el grado de domesticación es muy importante, ya que si se comparan especies de vida silvestre con especies domésticas, las variaciones circanuales en las concentraciones de LH, testosterona y FSH son menos marcadas en las especies domésticas (**Lincoln et al., 1990**), además, los carneros no son azoospermicos durante el anestro estacional a pesar de la muy marcada reducción en la producción espermática (**Dacheaux et al., 1981**).

Los machos, que serán sementales, deben ser evaluados con diferentes exámenes físicos, que incluyan las características antes mencionadas y los perfiles hormonales (LH y testosterona), a través de las épocas, ya que esto determina su actividad reproductiva anual (**Schanbacher y Lunstra, 1977**).

2.6.1 El sistema del reloj circadiano

El reloj circadiano, se refiere básicamente a los “ritmos circadianos” que tienen una duración aproximada de 24 h. La tierra rota cada 24 h y el sistema circadiano de los mamíferos, se ha adaptado a este horario, con la finalidad de aprovechar la luz solar y con ésto, llevar a cabo todos los eventos fisiológicos que están relacionados con las horas luz-oscuridad (**Bass y Takahashi, 2010**).

Los sistemas circadianos están regulados por el SNC, particularmente por el núcleo supraquiasmático (por sus siglas en inglés NSQ), este recibe la información (luz-oscuridad) a través de la ruta retino-hipotalámica, de esta forma, la información de las horas luz, es

captada por la retina, que es la señal externa, y de la retina hacia el NSQ, es la señal interna, con la finalidad de producir melatonina, que es la hormona que regula la actividad reproductiva estacional y que es secretada por la glándula pineal (**Bass y Takahashi, 2010; Albrecht, 2012**), es por ello que la información fisiológica que un individuo posee del fotoperiodo se transforma en señales endógenas, con ayuda de esta hormona (**Chemineau et al., 2007**). De esta forma, con el inicio de la época reproductiva, es decir, con la llegada de los días cortos, se incrementa la duración del periodo de oscuridad y la duración de secreción de la melatonina, que se secreta únicamente durante la noche y con ello, permite el incremento en la secreción pulsátil de GnRH y de las gonadotropinas (**Malpaux et al., 1997; Vanecek, 1998**).

La melatonina, ejerce su acción reduciendo su síntesis, de acuerdo a las horas luz y también, regula la actividad de enzimas biosintéticas (**Minnerman y Wurtman, 1975**), además, se libera siguiendo los ritmos circadianos y esto generalmente es por la noche. Una disminución en la secreción diaria de melatonina se asocia a una disminución en la secreción pulsátil de GnRH, esto trae como consecuencia, una regresión o involución de los testículos durante los días largos; mientras que las mismas señales fisiológicas que estimulan su secreción durante los días cortos, son seguidas por una activación y restablecimiento de la actividad gonadal (**Grosse et al., 1993**).

Esto se ha demostrado a nivel experimental, ya que tratamientos con melatonina en carneros, estimulan la secreción de LH y FSH y por lo tanto, en la función testicular (**Lincoln y Maeda, 1992; Lincoln, 1994; Tortonese y Lincoln, 1995; Figura 10**).

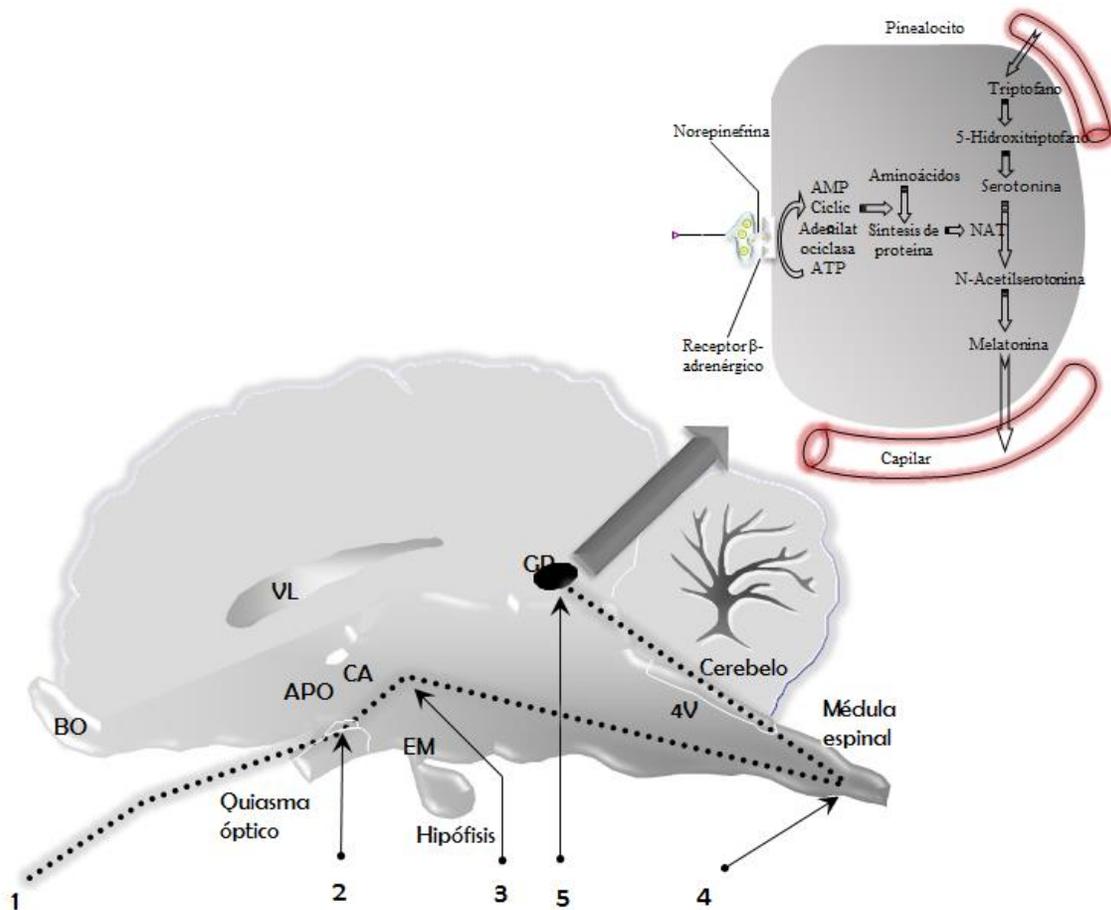


Figura 10. Representación esquemática de una sección sagital del cerebro de oveja. La línea negra punteada, representa el camino de la información luminosa del ojo (1) a la glándula pineal (5), pasando por el núcleo supraquiasmático (2), los núcleos hipotalámicos paraventriculares (3) y los ganglios cervicales superiores (4). Modificado de Malpoux et al., (1993). Área preóptica (APO), Comisura Anterior (CA), Ventrículo lateral (VL), Eminencia Media (EM), Glándula pineal (GP), Bulbo olfatorio (BO), Cuarto Ventrículo (CV).

2.6.2 El efecto del fotoperiodo en las gonadotropinas y hormonas esteroides

El efecto del fotoperiodo se transmite por vías neuroendocrinas que regulan la actividad gonadal. La influencia del fotoperiodo en la secreción pulsátil de GnRH, refleja cambios circunuales en la secreción pulsátil de LH, porque se incrementa durante el otoño (días cortos) y se reduce durante la primavera (días largos), esto con la finalidad de que exista

una estimulación máxima en la actividad testicular durante el otoño-invierno (**Thompson et al., 1986; El Omari et al., 1989; Lerchl et al., 1993**). En carneros, la concentración y frecuencia de pulsos de LH en plasma durante la estación reproductiva, pueden incrementarse de 5 a 14 veces (**Ebling et al., 1994**) y las concentraciones de testosterona en plasma fluctúan de forma paralela a las de LH (**Berndtson et al., 1974; Cox et al., 1988; El Omari et al., 1989**).

En ovejas, las variaciones circanales en la secreción de LH, están asociadas con cambios en el sistema de retroalimentación negativa del estradiol, este disminuye la frecuencia de pulsos de GnRH/LH durante la época de anestro estacional (**Karsch et al., 1993; Gallegos-Sánchez et al., 1997**). Estos cambios circanales son similares a los que tiene el sistema de retroalimentación hormonal del macho; por ejemplo, la época reproductiva, se rige por un incremento en la secreción pulsátil de LH como resultado del efecto de la regulación neuroendocrina de los esteroides (**Lincoln, 1984**). Además, también los opioides y la prolactina participan en el control de la secreción pulsátil de LH, en donde la secreción de melatonina afecta el sistema opioidérgico (**Aurich et al., 1994b, 1996**). El principal efecto de los opioides es la inhibición de la frecuencia de pulsos de LH (**Lincoln et al., 1989**).

Por tanto, un incremento en las concentraciones de gonadotropinas circulantes en el eje neuroendócrino, precede al restablecimiento de la actividad testicular, ya que el potencial que tienen los testículos para responder a las variaciones estacionales, está muy relacionado con la densidad de receptores de FSH y LH, durante la involución y el restablecimiento de la actividad gonadal, y por tanto, con las variaciones en la concentración de testosterona (**Robinson y Karsch 1985; Lincoln et al., 1990; Malpoux et al., 1997**).

También existen algunos neurotransmisores como la dopamina, que en ovinos participa en la regulación de la actividad reproductiva estacional. Las vías neuronales dopaminérgicas inhiben la liberación de LH en días largos, pero no hay influencia en días cortos, esto sucede tanto en ovejas como en carneros (**Clarke y Cummins, 1982; Deaver y Dailey, 1983; Meyer y Goodman, 1985; Tortonese y Lincoln, 1994; Gallegos-Sánchez *et al.*, 1997**).

En general, los sistemas dopaminérgicos responden a los cambios estacionales del sistema de retroalimentación de los esteroides gonadales, ya que la mayor población de receptores para dopamina, está presente durante los días largos, por lo cual el sistema dopaminérgico alcanza su máxima activación durante el anestro estacional (**Kao *et al.* 1992; Tortonese y Lincoln, 1994, 1995**).

2.7 LA NUTRICIÓN Y SU EFECTO EN LA FISIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL MACHO

En ovinos, como en otras especies domésticas, la eficiencia reproductiva es considerada como el factor más importante en términos de valor económico. Hay tres factores que determinan este aspecto (**Bilgin *et al.*, 2004**): 1) el mérito genético, 2) el ambiente físico y 3) el manejo en general. Sin embargo, dentro del manejo, los factores nutricionales son muy importantes, porque una nutrición adecuada, puede estimular a los individuos a que alcancen su potencial genético, disminuir efectos negativos en un ambiente físicamente hostil y minimizar los efectos de un manejo deficiente (**Fourie *et al.*, 2004**).

En la fisiología reproductiva del carnero, la respuesta a la nutrición, puede dividirse en efectos a corto plazo, que actúan principalmente, en el sistema neuroendocrino y que regulan la actividad testicular (**Martin *et al.*, 1994**) y efectos a largo plazo, que ejercen su

efecto principalmente en el desarrollo testicular y por lo tanto, en la producción espermática (Oldham, 1978).

En el macho, las respuestas en la talla testicular y la producción seminal, están muy influenciadas por cambios en el consumo de proteínas y energía en la dieta (Fernandez *et al.*, 2004) y las deficiencias de estos componentes, tienen como consecuencia la disminución en la secreción de gonadotropinas en ambos sexos, sin embargo, el restablecimiento de patrones alimenticios normales, generalmente revierte este efecto (Blache *et al.*, 2000; Bielli *et al.*, 2002). Particularmente, ovinos en etapas neonatales y puberales, presentan una mayor sensibilidad a las restricciones de energía y proteína que los animales adultos, es por ello que una restricción severa en corderos, puede tener como resultado, daños permanentes en el SNC y en las gónadas (Brown, 1994) por esta razón, el manejo nutricional post-destete, influencia el incremento de peso en los carneros y se encuentra estrechamente asociado con el crecimiento testicular y el comienzo de la pubertad (Mukasa-Mugerwa y Ezaz, 1992).

A nivel testicular, hay numerosos estudios que demuestran que la espermatogénesis en carneros, es sensible al incremento en el consumo de proteína (Martinez *et al.*, 2001) y puede ejercer efectos variables en algunas características del tejido como el diámetro, proporción de los túbulos del epitelio seminífero (Saab *et al.*, 1997; Hötzel *et al.*, 1998) cambios en la secreción de gonadotropinas y oscilaciones en el peso corporal, todo esto, relacionado con las variaciones en la talla testicular (Murray *et al.*, 1990).

2.7.1 Interacciones entre nutrición y reproducción

La nutrición, es un factor tan importante, que afecta todos los aspectos de la cascada de eventos reproductivos, desde la gametogénesis hasta la pubertad, tanto en machos como en

hembras. Es por esto que el requerimiento de nutrientes para diversos eventos reproductivos como el desarrollo fetal, la lactancia y la pubertad, demandan la utilización de la energía almacenada en el organismo, por ello, los efectos de la nutrición en la fisiología reproductiva, están influenciados por el suministro de nutrientes, y las reservas corporales (**Scaramuzzi et al., 2006**).

De esta forma, cuando los requerimientos de nutrientes de un animal son mayores al consumo de nutrientes, utilizarán su energía almacenada (en forma de glicógenos, triglicéridos y proteínas), para compensar ese déficit; a esto se le llama “balance energético negativo” y por el contrario, cuando el requerimiento de nutrientes es menor a su consumo, entonces el animal almacenará el exceso de nutrientes (en forma de glicógeno y triglicéridos) y utilizará el exceso de nutrientes en forma de energía. Cuando un animal se encuentra en ese estado, entonces posee un “balance energético positivo” (**Scaramuzzi et al., 2006**). En general, el balance energético es un reflejo del gasto y consumo de energía que afecta directamente la función reproductiva (**Thwaites, 1995; Cuadro 2**).

Los efectos del balance energético negativo, por efecto de una etapa de restricción alimenticia, tiene como consecuencia, efectos temporales o permanentes a nivel neuroendocrino, ya que un individuo, en esta condición, se caracteriza por presentar una inhibición en la frecuencia de secreción de los pulsos de GnRH (**Lozana et al., 2003; Kiyama et al., 2004**). Hay poca evidencia que sugiera que el balance energético positivo tiene una acción estimuladora en el eje hipotálamo-hipófisis y si persiste el balance energético positivo por un tiempo prolongado, tendrá como consecuencias un aumento en el peso corporal (**Wade y Jones, 2005**). Por tanto, los sistemas que regulan el eje

reproductivo responden a cambios en el estado metabólico, en el que el SNC y las gónadas son blancos primarios por los efectos que ejerce la nutrición (Scaramuzzi *et al.*, 2006).

Cuadro 2. Se observan las consecuencias metabólicas y los efectos en la reproducción determinados por el balance positivo y negativo de energía en ovinos.

ESTADO METABÓLICO	CONSECUENCIAS METABÓLICAS	EFFECTOS EN LA REPRODUCCIÓN
BALANCE ENERGÉTICO NEGATIVO	<ul style="list-style-type: none"> -Pérdida de peso. -Pérdida de las reservas corporales. -Gasto de tejido muscular. -Hipoinsulinemia -Hipoglicemia. -Bajas concentraciones de leptina. -Supresión del sistema de IGF's. -Urea elevada. -Elevadas concentraciones de HG. -Elevadas concentraciones de NEFA . 	<ul style="list-style-type: none"> -Inhibición del sistema de GnRH por el hipotálamo. -Ausencia de pulsos de LH. -Bajas concentraciones de FSH. -Pubertad retrasada. -Disminución o ausencia de la líbido. -Baja producción espermática.
BALANCE ENERGÉTICO NORMAL	<ul style="list-style-type: none"> -Mantenimiento del peso corporal normal. -Reservas de grasa corporal normal. -Secreción de insulina y glucosa normal. -Baja producción de NEFA. -Concentraciones normales de HG, Leptina, Sistema de IGF's y urea normal. 	<ul style="list-style-type: none"> -Secreción pulsátil normal de GnRH por el hipotálamo. -Frecuencia de pulsos de LH normales. -Concentraciones de FSH normales. -Sistema de retroalimentación negativo normal. -Expresión de la líbido normal. -Llegada de la pubertad normal.

Modificada de Scaramuzzi *et al.* (2006).

2.7.2 Efectos de la nutrición en la función testicular

Las oscilaciones de peso corporal, por efecto de una restricción en la alimentación, están relacionados con cambios en el peso testicular (Murray *et al.*, 1990) esto trae como consecuencia, cambios en el porcentaje de epitelio seminífero y por tanto, en la eficiencia con la que se lleva a cabo la espermatogénesis (Martin *et al.*, 2010). Una evidencia de esto, son diversos estudios que se han realizado en el tejido gonadal, en donde corderos que nacen de hembras que fueron subalimentadas durante la segunda mitad de la gestación, tienen un menor número de células de Sertoli al nacimiento (Bielli *et al.*, 2002) además, se ha observado un retraso en el desarrollo gonadal intrauterino que trae como consecuencia el

retraso en el inicio de la pubertad, e incluso, reduce la eficiencia espermatogénica en la vida adulta (**Da Silva *et al.*, 2001**).

Salamon (1964) usando muestras de semen y **Setchell *et al.* (1965)** realizando descripciones histológicas de los túbulos seminíferos testiculares y epididimarios, encontraron, que la tasa diaria de producción espermática se reduce debido a una dieta restringida y esta situación se reestablece cuando se les administra una dieta balanceada con alto contenido energético y proteínico. Además, demostraron que la calidad del semen producido y evaluado en diversos conteos espermáticos, se reducen por efecto de una dieta deficiente por aproximadamente siete semanas, es decir, el tiempo necesario para que se lleve a cabo la espermatogénesis.

Hötzel *et al.* (1998) también, demostraron variaciones en la longitud y diámetro de los túbulos seminíferos, así como el volumen de las células de Leydig, y el número de células de Sertoli, por efecto de una restricción alimenticia (durante dos meses). Todos estos experimentos, están muy relacionados con la regulación hormonal en la gónada, ya que la irrigación en el testículo, está relacionada con el volumen testicular, además, como ya se ha mencionado, existen cambios en la vasculatura que están asociados con el flujo sanguíneo y que se relacionan con el transporte de testosterona en la circulación periférica (**Setchell, 1990**). Algo importante a considerar en estos estudios, es la severidad y duración de los tratamientos nutricionales (**Martin *et al.*, 2010**).

Si la restricción alimenticia se presenta por un largo periodo de tiempo (más de dos meses), cerca del 30% de la masa corporal se pierde y la libido se ve afectada (**Parker y Thwaites, 1972**) porque la libido requiere de una actividad motora intensa. Durante el empadre, la actividad motora es más intensa en machos que en hembras, ya que durante el cortejo, la

parte activa la asumen los carneros (**Banks, 1964**) es por ello que carneros con una alimentación restringida, muestran una menor libido, pérdida de peso corporal, una disminución en la talla testicular y una reducción en la producción espermática (**Knight et al., 1987**). Varios experimentos, han demostrado que cuando a los carneros se les proporciona una dieta con altas cantidades de proteína y energía, incrementan la frecuencia de pulsos de GnRH y por tanto, presentan cambios en la talla testicular y en la producción espermática (**Oldham et al., 1978; Ritar et al., 1984; Martin et al., 1987; 1999**). Se ha comprobado que cuando se alimenta a machos adultos con una dieta balanceada durante los dos meses previos al empadre, se obtiene una buena producción seminal (**Martin et al., 2010**).

Mori et al. (1959) realizaron un experimento con carneros adultos, a los cuales se les restringió la alimentación, observaron que después de uno a dos meses que se les proporcionó una dieta con alto contenido proteínico y energético, la calidad del semen y la producción espermática mejoraron, así como su peso corporal. **Martin et al. (2010)** encontraron que la producción seminal se modifica hasta la séptima semana, después de un cambio en la composición de la dieta, y en relación al tejido testicular. Diversos estudios histológicos, demuestran que la nutrición afecta el diámetro de los túbulos seminíferos y la proporción que ocupan en el epitelio seminífero por efecto de una buena alimentación (**Setchell et al., 1965; Oldham et al., 1978**). Por tanto, se piensa que los procesos fisiológicos que relacionan la nutrición con la reproducción, pueden ser los mismos que controlan el balance energético, ya que la energía disponible para la reproducción depende de la diferencia entre la cantidad de energía que se gasta, incluyendo la que se destina para el mantenimiento y la energía disponible para la reproducción. La energía disponible, incluye

la que deriva del consumo de alimento y la que se almacena en otros tejidos, como el adiposo, hepático y muscular (Martin *et al.*, 2010).

Por tanto, la nutrición desencadena una cascada de eventos que afectan la función reproductiva del macho a través de los centros metabólicos y reproductivos del SNC, que provocan cambios en la frecuencia de pulsos de GnRH/LH, esto altera la función gonadal, ya que, existe una relación directa entre la talla testicular y la tasa de producción de espermatozoides (Amann, 1970; Knight, 1977; Martin *et al.*, 1994; Figura 11).

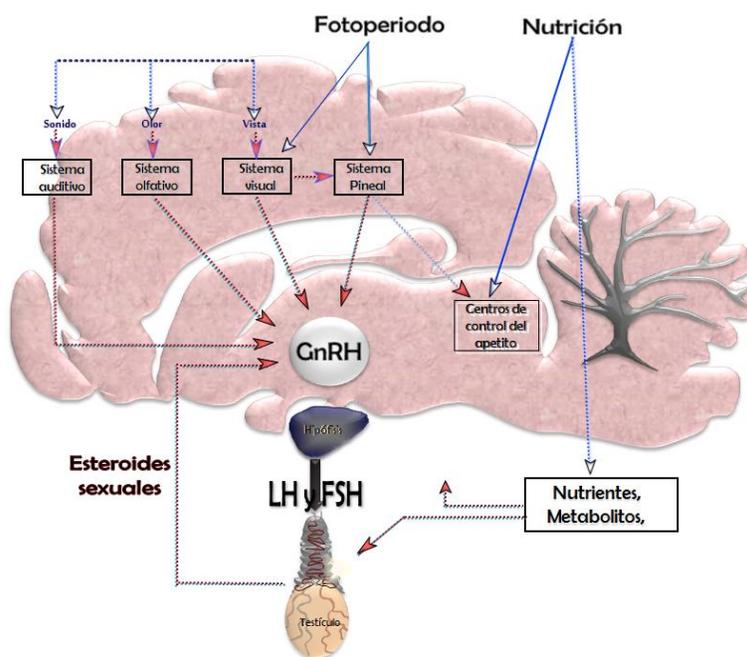


Figura 11. Diagrama en el que se ilustra a los sistemas sensoriales (auditivo, olfativo y visual), que son capaces de captar estímulos del medio y transformarlos en señales neurales, las cuales son conducidas al sistema nervioso central (SNC). A través de estos diferentes sistemas sensoriales, se ha encontrado una relación entre los centros cerebrales que controlan la ingesta de alimento con las funciones reproductivas que afectan al sistema neuronal productor de GnRH, que es el que controla el eje reproductivo hipotálamo-hipófisis-testículo. En carneros, la respuesta de las neuronas productoras de GnRH a un cambio abrupto es muy rápida, ya que las variaciones causadas por la nutrición incluyen el efecto de diversos nutrientes y metabolitos, como la leptina, insulina y glucosa en el testículo y el SNC. Las diversas proyecciones nerviosas autónomas y diversos nutrientes al cerebro, contribuyen a la regulación del sistema de reloj interno que está relacionado con las horas luz-oscuridad, y que influye directamente en la obtención y digestión del alimento, así como los sistemas simpáticos y parasimpáticos del sistema nervioso periférico para que se lleve a cabo la expresión de diversas funciones reproductivas.

2.8 EFECTOS DE LA NUTRICIÓN EN LA ETAPA LACTANTE Y ADULTA EN EL MACHO

La adaptación de los rumiantes a una restricción alimenticia, tiene como resultado, cambios digestivos, metabólicos y endocrinos, y las consecuencias dependen de la severidad y duración de esta condición, por lo cual, la sobrevivencia del individuo, depende del nivel de reservas corporales y de cómo son utilizadas (**Chilliard *et al.*, 1998**). Un aspecto importante son las interacciones a largo y a corto plazo entre la disponibilidad de alimento, el fotoperiodo y la reproducción (**Ortavant *et al.*, 1988**). Como se mencionó, la actividad sexual de los pequeños rumiantes esta controlada por el fotoperiodo con la finalidad de asegurar que los nacimientos ocurran en la época más favorable, es decir, en la primavera y por tanto, que las reservas corporales puedan estar disponibles, antes del próximo ciclo reproductivo (**Chilliard *et al.*, 1998**).

Es por ello que en corderos, las diferentes estrategias de manejo, que los ayuda a adaptarse después del nacimiento, deben iniciar desde etapas previas, es decir, durante la gestación, ya que la transición del ambiente uterino al ambiente externo, representa un gran desafío para que el neonato desarrolle los mecanismos necesarios para su adaptación y sobrevivencia (**Nowak *et al.*, 2000**). La primera acción que el neonato realiza, es la localización de la ubre de la madre y la succión para obtener el calostro. Los corderos nacen con pocas reservas de energía, por ello, es de vital importancia que encuentren la ubre materna e ingieran el calostro tan rápido como les sea posible (en menos de 30 min después de nacido). El proceso de succión de la ubre, tiene como resultado en la madre, una cascada de eventos neurofisiológicos que se inician durante el amamantamiento, provocando la inhibición de la actividad reproductiva durante el periodo postparto. En el cordero, el consumo del calostro, hace funcionales las vías termotáctiles y mecánicas

durante la búsqueda de la ubre y se establece una unión filial entre madre y cría (**Lagercrantz et al., 1986**). Por eso, los cuidados tempranos de la madre y la ingesta del calostro, cumplen con las necesidades metabólicas y lo protegen de un ambiente adverso; razón por la cual, el amamantamiento induce cambios conductuales, y fisiológicos que aseguran la sobrevivencia extra-uterina del cordero (**Nowak y Poindron, 2006**).

El calostro es producido antes del parto y contiene una gran cantidad de nutrientes, así como altos niveles de inmunoglobulinas, enzimas, hormonas, factores de crecimiento y péptidos neuroendocrinos, es la única fuente de alimento disponible para el recién nacido, por tanto, la ingesta insuficiente, es el segundo factor de importancia (después de las reservas corporales) que afectan la sobrevivencia neonatal (**Nowak y Poindron, 2006**). Además, transfiere anticuerpos de la madre al cordero antes de que su sistema inmunológico llegue a ser completamente funcional (**Levieux, 1982**). Se estima que de 180 a 290 mL kg⁻¹ del peso corporal es requerido por el cordero en las primeras 18 horas después del nacimiento, sin embargo, no todas las madres pueden cubrir las necesidades de sus corderos (**Nowak y Poindron, 2006**). El porcentaje de calostro acumulado en la ubre antes del parto y la producción de leche dependen del tamaño de la camada. Las hembras que tienen gemelos generalmente producen más calostro que las que tienen un solo cordero y esto trae como consecuencia, un peso corporal bajo (**Hall et al., 1990**). Los corderos que tienen un peso óptimo, oscilan entre los 3 y los 5.5 kg, además, se ha estimado que la tasa de mortalidad en gemelos es generalmente 1.5 a 3 veces más que los partos simples. Los corderos con un bajo peso corporal, por lo general, están predispuestos a morir por inanición, debido a sus bajas reservas de energía, debilidad y retraso en el desarrollo (**Alexander, 1984**) por tanto, el peso del cordero al nacimiento, tiene una gran influencia en la búsqueda de la ubre.

Se han realizado una serie de trabajos, en los que se ha demostrado que los corderos machos son más lentos que las hembras en la manifestación de conductas tempranas y los gemelos son más lentos que los que nacen únicos en el parto (Nowak y Poindron, 2006).

2.8.1 Mecanismos fisiológicos de una etapa restringida

Durante la gestación y la vida posnatal temprana, las alteraciones en el peso corporal, influyen en la función reproductiva del individuo de manera temporal o permanente; algo importante es que la variación de los elementos que componen una dieta, tiene una gran influencia en el desarrollo del sistema reproductivo, pero también, de múltiples factores endócrinos y metabólicos que se encuentran estrechamente relacionados (Rhind, 2004; Figura 12).



Figura 12. Machos de 3 meses, el de la derecha, que es el individuo experimental, se le restringió durante la lactancia y presentó un bajo peso a lo largo de todo el estudio, es decir, durante el primer año de vida. Se puede observar que su peso corporal, representa aproximadamente la mitad del testigo que se encuentra a la izquierda.

Chilliard *et al.* (1998) realizaron una clasificación a diferentes escalas de tiempo para determinar las adaptaciones de un individuo durante un periodo restringido: 1) adaptaciones a corto plazo, se deben principalmente, a las variaciones o cambios en la disponibilidad de alimentos y que se presenta por algunos días, 2) cambios a mediano plazo, son adaptaciones que se presentan a lo largo de algunas semanas, y 3) cambios a largo plazo,

que son adaptaciones que requieren que los animales se adapten a un nuevo equilibrio dentro de un contexto fisiológico y nutricional diferente. Es por ello, que en un individuo bajo esta condición, la homeostasis se enfoca, principalmente, a la supervivencia, por ello, todos los mecanismos metabólicos y endócrinos tratan de mantener el mayor control posible en el ambiente interno. La adaptación a corto, mediano y largo plazo son respuestas graduales para tratar de mantener algunos procesos fisiológicos estables, como la movilización de reservas corporales, la formación de glucosa, y con ello, el gasto y balance de energía, que afectan principalmente el funcionamiento del eje neuroendócrino. Un individuo en esta condición presenta alteraciones en los núcleos cerebrales del SNC que regulan la función reproductiva, porque los cambios en los metabolitos y hormonas circulantes durante este periodo de tiempo dan preferencia a desempeñar la función de reguladores del estatus nutricional y metabólico del individuo, más que a la función reproductiva (**Chilliard *et al.*, 1998; Figura 13**).

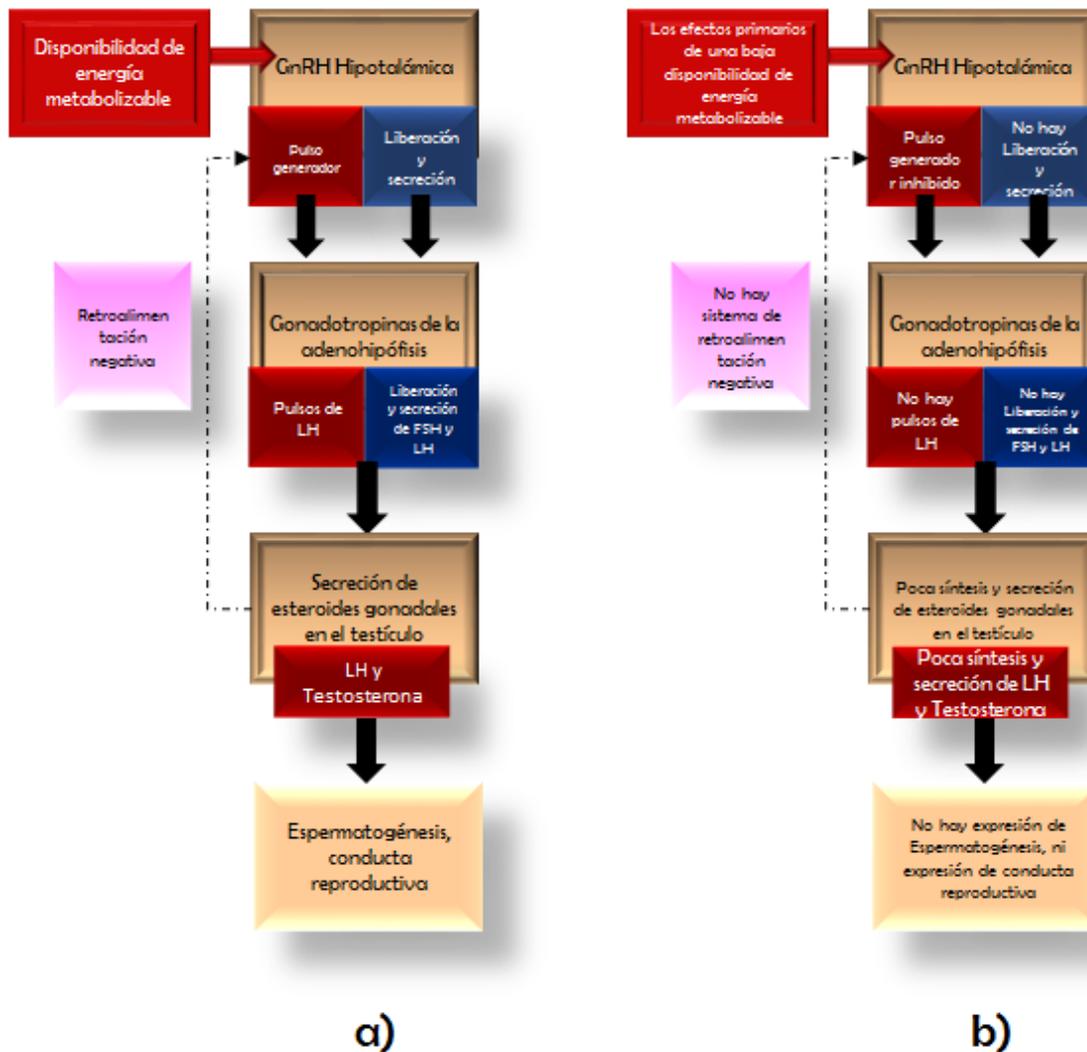


Figura 13. a) Se muestra el efecto de abundancia de energía metabolizable disponible en el macho. El eje neuroendocrino presenta una secreción pulsátil de GnRH que proviene de las terminales de las células neurosecretoras hipotalámicas. Cada pulso de GnRH se libera en la circulación portal hipotalámica y estimula la secreción de un pulso de la hormona luteinizante (LH) en la adenohipófisis y se dirige hacia el torrente sanguíneo. Las concentraciones de testosterona ejercen sus efectos en el sistema de retroalimentación negativo sobre la GnRH hipotalámica y la secreción de gonadotropinas en la adenohipófisis. La testosterona recibe el estímulo para su secreción y síntesis y por ello puede viajar a la circulación sanguínea, lo que induce a la expresión de la conducta reproductiva, además, las concentraciones de FSH desencadenan el proceso de espermatogénesis. **b)** En este esquema se muestran los efectos primarios de una baja disponibilidad de energía metabolizable, la inhibición del pulso generador de GnRH en el hipotálamo, que conduce a una cascada de eventos como la inhibición en la secreción de gonadotropinas, la inhibición en la frecuencia de pulsos de LH que trae como consecuencia el que no haya síntesis y secreción de testosterona, además, la muy baja o nula secreción en las concentraciones de FSH conduce a que no haya espermatogénesis y tampoco líbido, por tanto, no hay expresión de la conducta reproductiva (Modificado de Schneider, 2004).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En años recientes, ha ocurrido un notable incremento en la población de ovinos de pelo en el país, esto posiblemente se debe a que presentan una mejor adaptación y prolificidad a las condiciones ambientales si se comparan con las razas de lana (Cuellar *et al.*, 2012). Actualmente a nivel productivo, se busca aumentar la eficiencia reproductiva de los ovinos y su rentabilidad, esto genera la necesidad de producir machos reproductores que presenten mayores índices de fertilidad y libido, ya que estos factores, son muy importantes para incrementar la productividad del rebaño, por ello, es imprescindible conocer la información fisiológica de las diferentes etapas de vida del carnero, tanto prepuberales, puberales y adultas (madurez sexual), porque muchos de los animales que se adquieren como sementales son jóvenes y se destinan a trabajar muy pronto. En este sentido, los productores no realizan prácticas de selección, ya que consideran que únicamente un análisis cuantitativo de semen es necesario.

También, aunque en ovinos de lana, están muy documentados los diferentes eventos tanto estacionales, nutricionales y celulares que influyen en la fisiología testicular y las diferencias que existen en carneros púberes, con respecto a aquellos que se encuentran en etapas adultas, la información para ovinos de pelo es muy escasa. Es por ello que surge la necesidad de generar más investigación que permita mejorar, de forma objetiva, la selección de sementales de pelo, y la comprensión de los diversos factores que alteran la actividad reproductiva, como la influencia que ejerce la estacionalidad y la nutrición en la espermatogénesis, y en los diversos parámetros de evaluación seminal, con la finalidad de mejorar la calidad espermática y en general, las características productivas y reproductivas que influyen, en gran medida, en el comportamiento de las futuras generaciones, por lo que

el objetivo del presente trabajo de investigación fue describir y analizar los efectos de la restricción alimenticia en la función testicular de machos ovinos durante la etapa lactante y adulta.

Las hipótesis planteadas fueron:

- 1) La administración de una dieta balanceada en función a los requerimientos nutricionales y estado fisiológico de los machos (dieta experimental), mejorará la calidad del semen de los carneros Pelibuey y East Friesian, durante la época reproductiva y durante el anestro estacional.
- 2) Un periodo restringido (dos meses) durante la lactación, afectará el desarrollo físico y testicular de los machos durante el periodo prepuberales, puberales y adultas.

IV. ESTUDIOS REALIZADOS

4.1 Estudio I. La nutrición y su efecto en la calidad seminal en carneros pelibuey y east friesland

4.1.1 Resumen

La calidad seminal de los carneros, es afectada por factores como el fotoperiodo, la nutrición y la ganancia diaria de peso, por lo cual, se realizó un estudio (Junio 2012-Junio 2013) durante la época reproductiva (ER) y durante el anestro estacional (AE), con la finalidad de evaluar el efecto de una dieta experimental (DE) alta en energía y proteína, en los cambios en la calidad del semen de carneros adultos, sexualmente activos: 4 de la raza Pelibuey (R1) y 4 de la raza East Friesian (R2). Los 8 carneros, experimentaron una etapa de alimentación restringida (AR) donde solo consumieron paja de avena y minerales durante los meses de junio, julio, agosto y septiembre, en la ER y en los meses de enero, febrero, marzo y abril, para el AE, posterior al periodo de alimentación restringida, se les ofreció una dieta (DE) con un alto contenido de energía y proteína, durante los meses de octubre y noviembre, para la ER y mayo y junio, para el AE. Se evaluó el peso corporal y la circunferencia escrotal, así como, las variables cualitativas y cuantitativas del semen que incluían: volumen, tiempo al eyaculado, porcentaje de espermatozoides vivos, de espermatozoides anormales (normalidad) y concentración espermática. Se observó un incremento ($p<0.05$) en el peso corporal durante la ER y el AE por efecto de la DE. Los carneros de las dos razas presentaron diferencias ($p<0.05$) por efecto de la nutrición, durante la ER, en el tiempo al eyaculado en la R1 pasó de 2.0 ± 0.3 a 1.5 ± 0.4 y para la R2 de 2.0 ± 0.5 a 1.3 ± 0.3 y en la concentración espermática, R1 pasó de $315.3\pm 18.1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ a $506.3\pm 102.8 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ y para R2 de $324.0\pm 33.4 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ a $527.7\pm 141.9 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ y durante el AE se encontraron diferencias ($p<0.05$) para la R1 en volumen, pasó de $0.7\pm 0.1 \text{ mL}$ a $1.2\pm 0.2 \text{ mL}$ y para la R2 fue de $1.0\pm 0.2 \text{ mL}$ a $1.4\pm 0.4 \text{ mL}$ y la

concentración espermática fue diferente solo en la R1 fue de $315.4 \pm 08.4 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ a $421.3 \pm 39.9 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$. El fotoperiodo, afectó ($p < 0.05$) a las dos razas en el volumen, y la concentración espermática. Los resultados obtenidos en este experimento permiten concluir que la nutrición y el fotoperiodo afectan la calidad seminal en las R1 y R2.

Palabras clave: Carneros, fotoperiodo, nutrición, semen.

Study I. Nutrition and its effects on semen quality in east friesland and pelibuey rams

4.1.2 Abstract

Semen quality of rams is affected by factors such as photoperiod, nutrition and daily gain, therefore, a study (June 2012-June 2013) was conducted during the breeding season (ER) and during seasonal anestrus (AE), in order to evaluate the effect of an experimental diet (DE) high in energy and protein changes in semen quality in adult sheep, experienced sexually active: 4 Pelibuey (R1) and 4 East Friesian breed (R2). 8 rams, a period of restricted feeding (AR) where only consumed oat straw and minerals during the months of june, july, august and september in the ER and in the months of january, february, march and april, for AE, after the period of restricted feeding, they were offered a diet (DE) with a high content of energy and protein, during the months of October and November to the ER and May and June, for AE. Body weight and scrotal circumference were assessed, as well as qualitative and quantitative variables including semen: volume, time to ejaculate, percentage of live sperm, abnormal sperm (normal) and sperm count. An increase ($p < 0.05$) in body weight during the ER and AE effect of ED was observed. The rams of the two races showed differences ($p < 0.05$) the effect of nutrition during the ER, in time to ejaculate in R1 increased from 2.0 ± 0.3 to 1.5 ± 0.4 and the R2 of 2.0 ± 0.5 to 1.3 ± 0.3 and sperm concentration, R1 increased from $315.3 \pm 18.1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ to $506.3 \pm 102.8 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$

and R2 of $324.0 \pm 33.4 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ to $527.7 \pm 141.9 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ and during the AE ($p < 0.05$) for the R1 volume is found, increased from $0.7 \pm 1.2 \pm 0.1 \text{ mL}$ and 0.2 mL R2 was $1.0 \pm 1.4 \pm 0.2 \text{ mL}$ and 0.4 mL sperm concentration it differed only in R1 it was $315.4 \pm 08.4 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ to $421.3 \pm 39.9 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$. Photoperiod, affect ($p < 0.05$) at two races in volume and sperm concentration. The results obtained in this experiment can be concluded that nutrition and photoperiod affect semen quality in R1 and R2.

Keywords: Rams, photoperiod, nutrition, semen.

4.1.3 Introducción

La fertilidad del carnero, es una variable de gran importancia; ya que contribuye a mejorar la productividad y por lo tanto, aumentar la eficiencia económica de los rebaños (**Perón, 2004**). La fertilidad, puede ser evaluada a través de diversas características, por ejemplo, la circunferencia escrotal, pues se ha demostrado que existe una relación entre la talla testicular y la producción de espermatozoides, este es un criterio que permite conocer el funcionamiento reproductivo de un semental, además de la evaluación de diversos parámetros cualitativos y cuantitativos del semen, variables que pueden ser heredables y cambiar de acuerdo a la raza y a la edad (**Matos *et al.*, 1992; Söderquist y Hultén, 2006**).

Para evaluar la fertilidad del carnero, se debe tomar en cuenta, el fotoperiodo, ya que la actividad reproductiva en los pequeños rumiantes, está controlada por las horas luz, que traen como consecuencia, variaciones en la producción espermática a través del tiempo (época reproductiva; ER vs anestro estacional; AE), es por ello que las razas que habitan regiones templadas, arriba de los 35° Latitud Norte (LN), presentan variaciones en las características seminales, así como en los diferentes eventos fisiológicos que regulan su actividad

reproductiva, presentando una alta calidad en la producción de gametos durante el otoño-invierno (ER; días cortos) y una menor calidad en la primavera-verano (**AE; días largos; Evans y Maxwell, 1987**). Por ejemplo, se ha demostrado, que las razas de ovinos que habitan en las regiones templadas (arriba de los 35° LN o LS) incrementan su actividad reproductiva durante los días cortos (ER) y la disminuyen durante los días largos (AE), mientras que, las razas que habitan en la región tropical (entre el ecuador y el trópico de cáncer o el de capricornio), las consecuencias de este evento (horas luz) se manifiestan poco y las variaciones estacionales observadas en el comportamiento reproductivo de los carneros, por lo regular, son asociadas a los cambios en la disponibilidad de nutrientes (**Perón, 2004**).

La nutrición es un factor esencial, en el macho, la respuesta de la actividad reproductiva a esta variable, puede dividirse en efectos a corto plazo, que actúan en el sistema neuroendocrino y que regulan la actividad hormonal a nivel testicular y efectos a largo plazo, que determinan el desarrollo testicular y por consecuencia, la producción seminal (**Oldham, 1978; Martin et al., 1994**). Por la cual, es importante, un adecuado aporte de nutrientes en la dieta, con la finalidad de evitar una movilización de las reservas corporales y garantizar la espermatogénesis. Por ello, una buena práctica nutricional, tanto en sistemas intensivos como extensivos, es aportar suplementos alimenticios a los machos, semanas antes del empadre, para asegurar una buena producción seminal (**Martin et al., 1999**).

El fotoperiodo y la nutrición, son responsables de las variaciones neuroendocrinas que regulan la actividad reproductiva, y deben ser tomados en cuenta, durante la evaluación reproductiva de los carneros (**Mukasa-Mugerwa y Ezaz, 1992**) para entender los factores que controlan y afectan la producción seminal, con la finalidad de desarrollar estrategias nutricionales que ayuden a mejorar la calidad seminal (**Ghorbankhani et al., 2015**).

Objetivo general

Comparar la calidad seminal de carneros Pelibuey y East Friesian, alimentados con una dieta experimental (alta en contenido de energía y proteína; DE) en la época reproductiva (ER; otoño-invierno) y durante el anestro estacional (AE; primavera-verano).

Objetivos específicos

1. Determinar las variaciones en el peso corporal y en el diámetro del saco escrotal por efecto del fotoperiodo (ER vs AE) y del tipo de alimentación (AR vs DE).
2. Determinar las variaciones en la producción y características del semen por efecto del fotoperiodo y una DE.

4.1.4 Materiales y Métodos

4.1.4.1 Ubicación.

Este estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Postgraduados, ubicado en Montecillo, Municipio de Texcoco, Estado de México. Se localiza a 19°29' N y 98°53' O, a una altitud de 2250 msnm. El clima es templado subhúmedo con lluvias en verano Cb (wo) (w) (i), con precipitación de 636.5mm y temperatura media anual de 15.5°C (García, 1988).

4.1.4.2 Metodología y Tratamientos

El experimento se realizó de junio de 2012 a junio de 2013 y se compararon dos épocas: época reproductiva (ER; días cortos) vs época de anestro estacional (AE; días largos). Se utilizó un grupo de carneros (adultos, mayores de 4 años y sexualmente expertos), se mantuvieron en corrales de observación, en un sistema de manejo de tipo intensivo y en un fotoperiodo natural (19° 29' LN). Previo al inicio del experimento se desparasitaron con

Ivermectina a una dosis de 0.2 mg kg^{-1} de peso. Los machos utilizados en este estudio, fueron manejados de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y al manual de prácticas y procedimientos para animales experimentales del Colegio de Postgraduados (ColPos). En la ER (otoño-invierno, Figura 1), se utilizaron ocho carneros, cuatro de la raza Pelibuey (R1) y cuatro de la raza East Friesian (R2) y durante el AE (primavera-verano; Figura 2), se utilizaron siete sementales, tres de R1 y cuatro de R2. En el desarrollo del trabajo experimental, a los carneros, se les proporcionaron ($2 \text{ kg animal}^{-1} \text{ día}^{-1}$) de una dieta experimental con alto contenido energético y proteínico (DE; Cuadro1) durante los meses de octubre y noviembre (periodo 2; P2) y durante mayo y junio (periodo 4; P4).

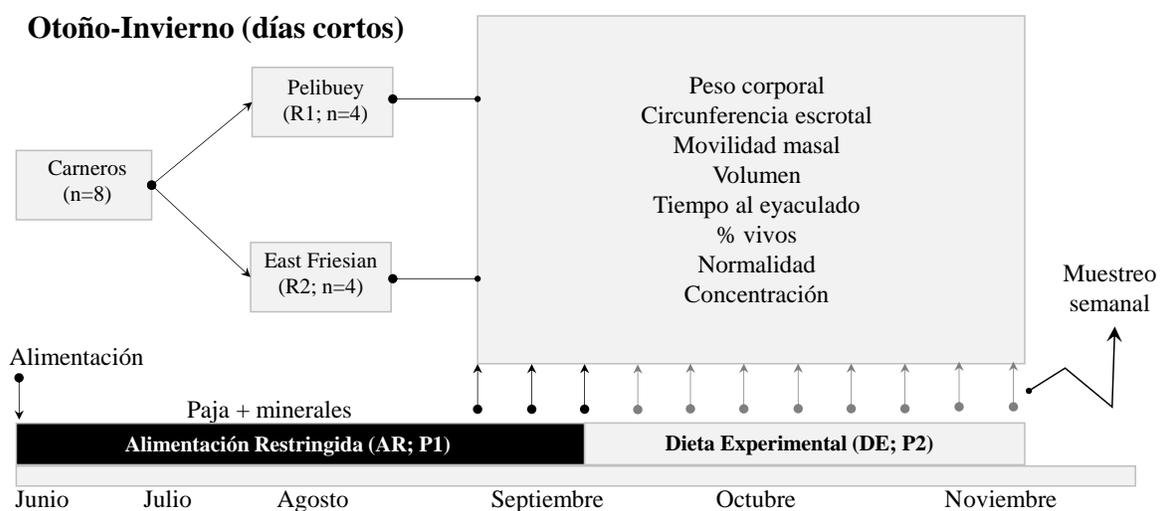


Figura 14. Representación esquemática de los tratamientos (tipos de alimentación) alimentación restringida (AR; periodo 1; P1) y alimentación con dieta experimental (DE; periodo 2; P2); durante la época reproductiva (ER) a una latitud norte de $19^{\circ}29'$.

Cuadro 3. Dieta Experimental (DE)

Heno de avena (40%), Sorgo (grano entero, 16%), Maíz (molido, 16%), Pasta de soya (8%), Salvado de trigo (6%), Melaza (6%), Gluten de Maíz (4%), Ortofosfato (VIMIFOS, 1%), CaCO₃ (1%), Vitasal (Oveja Plus, 1%), Sal común (0.5%), Aceite vegetal (0.5%), Costo \$5.50kg.

MS (88.5%): EM (2.6 Mcal), ENm (1.68 Mcal), ENg (1.07 Mcal), PC (16.00%), PCDR (10.0%), PCNDR (5.0%), E.E (4), FC (11.8), FDA (18.2), FDN (31.5), Vit A (6.5 Kiu), Vit E (8.5 Kiu), Vit D (3.4 Kiu), Cenizas (6.70%), Ca (1.50%), P (0.75%), Mg (0.20%), Na (0.35%), Co (0.9%), Cu (10mg), Mn (64mg), Se (0.6mg), Zn (75.2mg).

Para comparar el efecto de la DE en la calidad del semen, a los machos experimentales, antes de ofrecerles la DE, se les restringió la alimentación (AR) durante los meses de junio, julio, agosto y septiembre (periodo 1; P1) Figura 1 y desde enero hasta abril (periodo 3; P3) Figura 2. Durante el periodo de AR, a los machos se les ofreció paja de avena (2 kg animal⁻¹ día⁻¹), minerales y agua *ad libitum*. En los periodos de AR y DE, cada semana, los animales fueron pesados, se les midió la circunferencia escrotal y se les realizaron las pruebas de calidad de semen. Las muestras seminales de cada individuo, se obtuvieron por medio del método de la vagina artificial (**Durán-Ramírez, 2008**) con una temperatura que oscilaba entre los 40 a 45°C, esta se lavó con jabón neutro. Se utilizó como bioestímulo, una hembra en estro natural o en estro inducido con Benzoato de Estradiol (BE₂) inmovilizada en un potro metálico. Antes de cada monta, se realizó un lavado prepuccial con solución desinfectante y se permitieron tres intentos de monta como máximo por carnero.

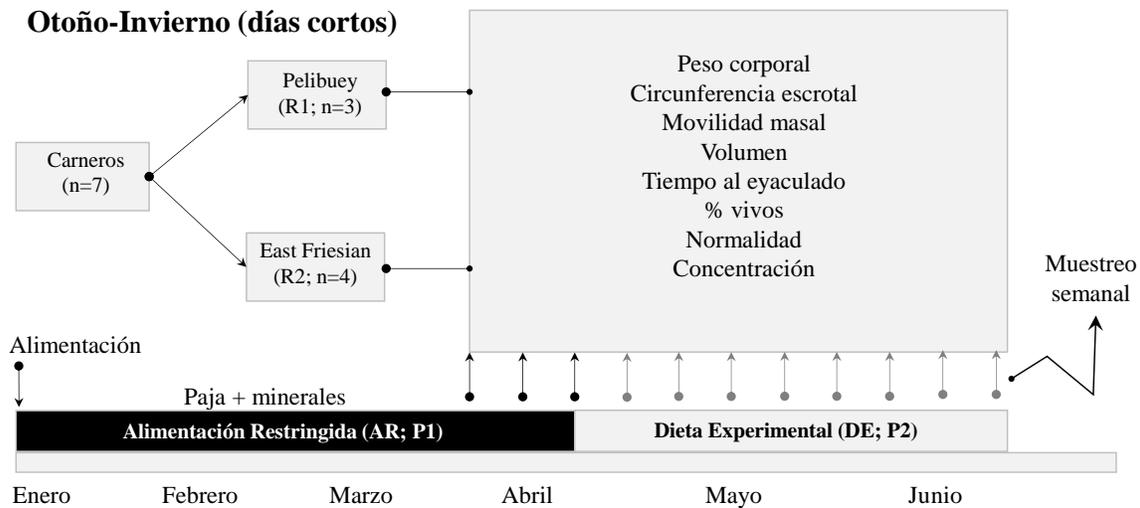


Figura 15. Representación esquemática de los tratamientos (tipos de alimentación) alimentación restringida (AR; periodo 1; P1) y alimentación con dieta experimental (DE; periodo 2; P2); durante anestro estacional (AE) a una latitud norte de 19°29'.

4.1.4.3 Variables seminales y procedimiento de evaluación

Los machos experimentales fueron pesados en una balanza con capacidad de 250 kg \pm 100 gr (Braunker YP200S), midiéndose (semanalmente) el diámetro del saco escrotal con una cinta métrica durante todo el experimento. Las variables seminales, se dividieron en cualitativas: movilidad masal, volumen y tiempo al eyaculado y cuantitativas: porcentaje de espermatozoides vivos, espermatozoides anormales (normalidad) y concentración.

Inmediatamente después de obtener las muestras, se procedió a su análisis en el laboratorio. El semen fue evaluado, examinando el volumen y color en tubos graduados de 15 mL. Para determinar la motilidad masal, se tomó una gota de semen, con una pipeta Pasteur y se observó en un microscopio de campo claro (Carl ZEISS, Primo Star, CP1145K06, Microimaging GmbH 37081, Gottingen, Germany. Serie-Nr: 3125001511) a un objetivo de 100X, con los oculares y objetivos centrados mediante la iluminación de Köeller, asignando valores de 0 (motilidad nula) a 5 (máxima motilidad, remolinos con un vigoroso movimiento

en masa). El porcentaje de espermatozoides vivos se realizó mediante un frotis teñido con la técnica de tinción, eosina-nigrosina, las preparaciones fueron secadas a temperatura ambiente y contando 100 espermatozoides en el campo, considerando muertos los que se tiñeron total o parcialmente. Sobre el frotis se observaron las anormalidades en estructura y morfología de 100 células, y se determinó el número de espermatozoides con cabezas sueltas, colas enrolladas y colas dobles. La concentración se determinó por el método de hemocitómetro haciendo diluciones 1:200 (**Salamon *et al.*, 1990**). Para el conteo espermático se tomó una muestra de semen con un hemocitómetro hasta la marca de 5 y posteriormente se llenó la pipeta hasta la marca de 101 con solución salina. Se agitó manualmente, eliminando las tres primeras gotas, la siguiente se colocó en la cámara de Neubauer y se procedió al conteo en los cuatro cuadrantes laterales y el del centro de la cámara, en un microscopio de campo claro a un aumento de 400X.

4.1.4.4 Análisis estadístico

Se utilizó el análisis de varianza para investigar el incremento en el peso corporal y la circunferencia escrotal en los muestreos realizados durante la época reproductiva y la época de anestro estacional. El modelo utilizado fue:

$$y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}.$$

En donde $\epsilon_{ij} \sim n(0, \sigma^2)$.

$i=1 \dots 8$ machos.

$j=1 \dots 11$ muestreos.

y_{ij} = peso corporal y la circunferencia escrotal en el i -ésimo periodo del j -ésimo animal.

μ = efecto de la media.

T_i = efecto del i -ésimo periodo.

$g_{ij} \sim n(0, \sigma^2)$

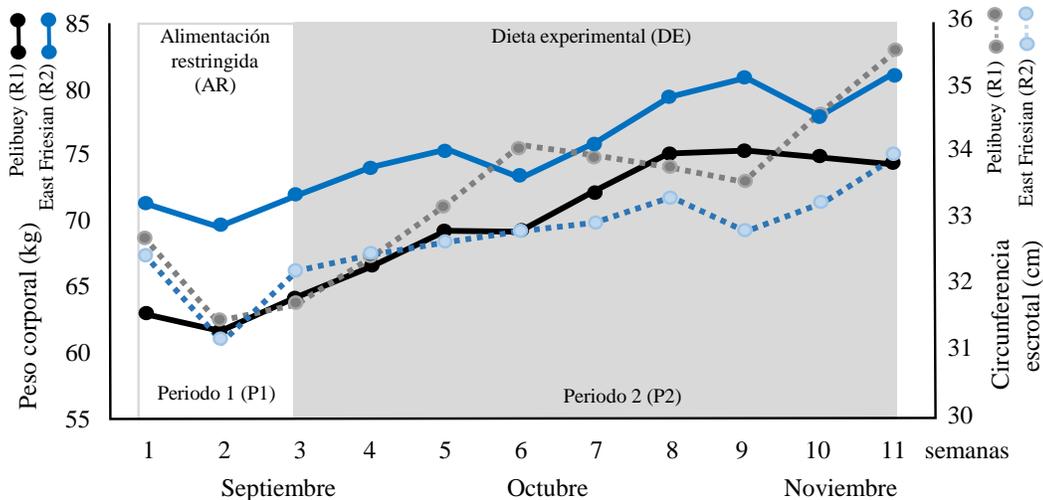
Además, para analizar el efecto de la raza, el fotoperiodo y el tipo de nutrición, en la calidad del semen, se utilizó un análisis de contrastes para comparar dicho efecto en los muestreos (semanales) y la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) para medias de tratamientos.

4.1.5 Resultados

Los resultados de los análisis estadísticos para peso corporal, circunferencia escrotal y calidad de semen, mostraron diferencias ($p<0.001$) entre razas (R1 vs R2). Por lo cual, los resultados obtenidos de las variables estudiadas, se analizaron de forma independiente por raza (R1, R2) para las diferentes condiciones de fotoperiodo (ER, AE) y de tipos de alimentación (AR, DE).

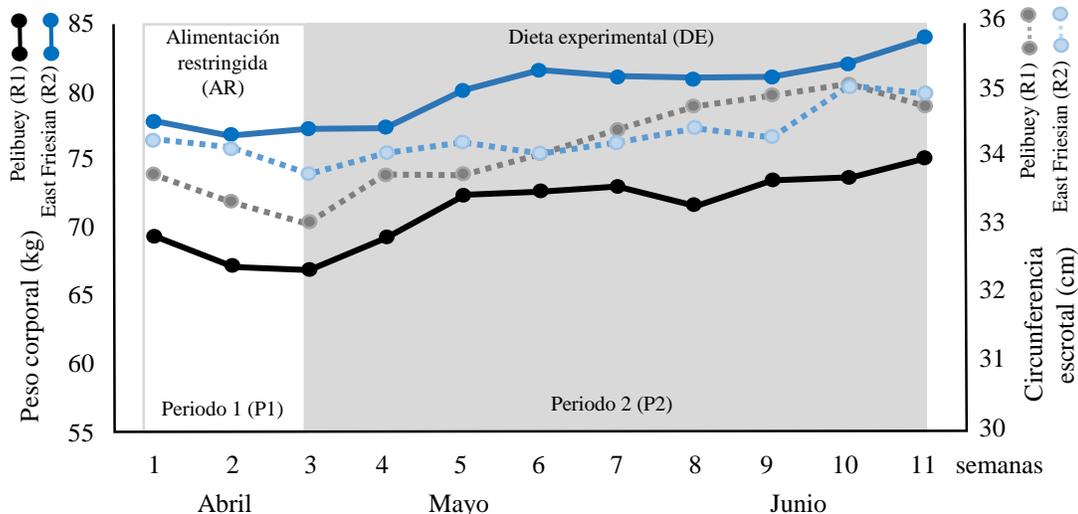
4.1.5.1 Peso Corporal y Circunferencia Escrotal

Los valores obtenidos durante la ER de peso corporal y circunferencia escrotal, se describen en la Gráfica 1. Se observó en las dos razas (R1 y R2) un incremento ($p<0.05$) gradual después del muestreo 3 hasta el 11 (DE; P2) en el peso corporal, pasando de 66.4 ± 7.5 kg a 74.6 ± 7.5 kg en la R1 y de 75.1 ± 4.9 a 81.5 ± 6.9 kg para la R2. Para la circunferencia escrotal, en la R1 pasó de 31.8 ± 1.1 cm a 35.6 ± 1.1 cm y en la R2 pasó de 32.2 ± 1.9 cm a 34.0 ± 1.1 cm. El mayor incremento ($p<0.05$) en el peso corporal, se presentó siete semanas después (muestreo 9) de haber iniciado con la DE (75.6 ± 8.9) para R1 y para la R2 fue durante el muestreo 11 (octava semana después de DE) y fue de 81.45 ± 6.9 . En relación a la circunferencia escrotal, en la semana ocho después de la DE (muestreo 11) fue donde se observó el mayor valor ($p<0.05$; 35.6 ± 1.1 y 34.0 ± 1.1 , para la R1 y la R2; respectivamente).



Gráfica 1. Época reproductiva (ER), se representan los cambios en el peso corporal (kg; líneas sólida negra y azul para Pelibuey (R1) y East Friesian (R2); respectivamente) se observa, que en la semana 9, es donde los sementales alcanzaron el mayor peso durante la fase experimental y en relación a la circunferencia escrotal (cm; línea punteada gris y azul claro para R1 y R2; respectivamente), se observó, que en la semana 11, fue cuando se presentó el mayor diámetro testicular.

Durante el AE, se analizaron los datos de tres semanas antes (AR; P1) y ocho semanas después (DE; P2). En la Grafica 2, se observó, un incremento ($p < 0.05$) del peso corporal, desde el inicio de la DE y hasta el final, pasando de 69.3 ± 9.6 kg a 75.13 ± 8.3 kg para R1 y de 77.1 ± 2.3 kg a 84.3 ± 4.2 kg para R2 y de la circunferencia escrotal de 33.8 ± 2.0 a 34.8 ± 1.6 cm y de 34.1 ± 2.1 a 34.6 ± 1.9 cm para R1 y R2; respectivamente. Durante el periodo que se ofreció la DE, se observó una ganancia de peso en R1 de 5.9 kg y un aumento en la circunferencia escrotal de 1.0 cm. Para la R2 se obtuvo la misma tendencia, una ganancia de 6.5 kg y un aumento en la circunferencia escrotal de 0.5 cm.



Gráfica 2. Anestro Estacional (AE), se representan los cambios en el peso corporal (kg; líneas sólida negra y azul para Pelibuey (R1) y East Friesian (R2); respectivamente) se observa, una disminución gradual en el peso corporal (semana 1 a la 3; AR; P1) y un incremento gradual de la semana 4 a la 11 (DE; P2) y en relación a la circunferencia escrotal (cm; línea punteada gris y azul claro para R1 y R2; respectivamente), se observó la misma tendencia que en el peso corporal.

4.1.5.2 Producción y calidad del semen

La producción y calidad del semen presentaron variaciones importantes. En la ER se observaron diferencias ($p < 0.05$) en algunas de las características seminales antes y después de la DE, para la R1 (Cuadro 2).

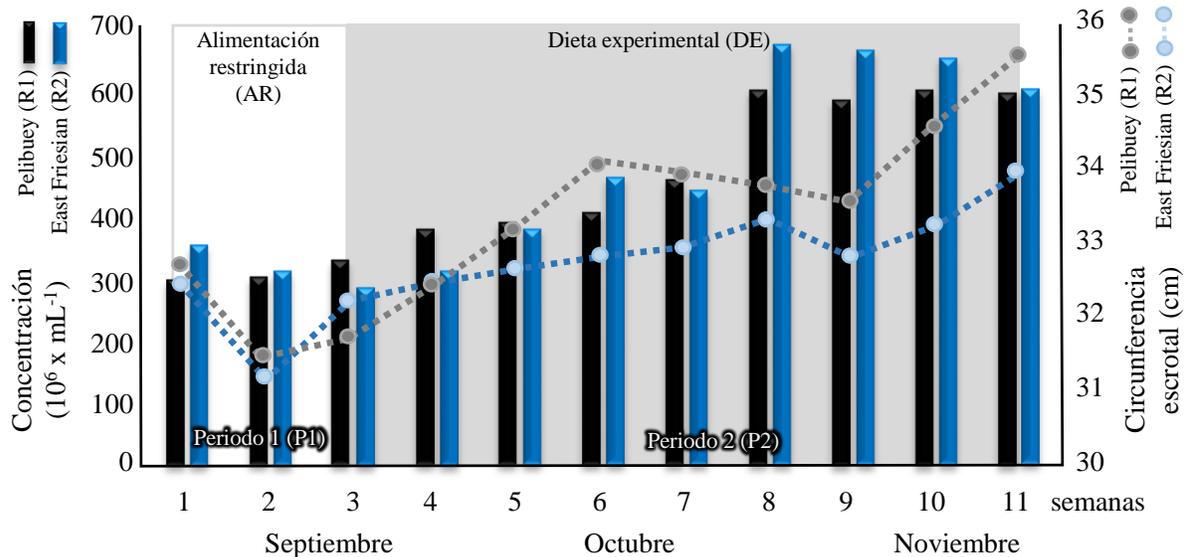
Cuadro 4. Variaciones en la calidad de semen de carneros Pelibuey (R1) durante el año, época reproductiva (ER) y época de anestro estacional (AE) con dos periodos de alimentación, alimentación restringida (AR) y un periodo con dieta experimental (DE) en una latitud norte de 19°.

Pelibuey (R1)		Variables					
Época	Periodo	Movilidad masal	Volumen (mL)	Tiempo eyaculado	Vivos (%)	Normalidad	Concentración ($\times 10^6 \text{ mL}^{-1}$)
Reproductiva (ER)	1 (AR)	3.8±0.5	1.2±0.1	2.0±0.3	81.1±2.1	88.3±0.4	315.3±18.1
	2 (DE)	3.7±0.4	1.3±0.1	1.5±0.4 ^a	80.0±2.5	88.5±6.7	506.3±102.8 ^a
Anestro (AE)	1 (AR)	4.1±0.2	0.7±0.1 ^x	1.2±0.2 ^x	66.1±3.9 ^x	87.8±2.6	351.4±08.4
	2 (DE)	3.8±0.4	1.2±0.2 ^a	1.3±0.3	73.7±3.7 ^{ay}	86.3±5.0	421.3±39.9 ^{ay}

^a diferencias entre periodo (AR vs DE) dentro de época (ER vs AE; $p < 0.05$)

^{x, y} diferencias entre épocas (ER vs AE) dentro de periodo (AR vs DE; $p < 0.05$)

Se observó un mayor ($p<0.05$) tiempo al eyaculado y una menor ($p<0.05$) concentración espermática durante el periodo de AR. La mayor concentración espermática ($604.0\pm 46.6 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$) fue durante el muestreo 10 (Grafica 3), semana siete con DE. Para la R2 (Cuadro 3), se encontraron diferencias ($p<0.05$) en volumen, tiempo de eyaculado, porcentaje de espermatozoides vivos, normalidad y concentración espermática después de la DE. Además, se observó la mayor concentración espermática durante el muestreo 8; es decir, cinco semanas después de la DE. Para la R1 se observaron diferencias ($p<0.05$) en la calidad seminal entre ER y AE (fotoperiodo) para el volumen, porcentaje de espermatozoides vivos y la concentración espermática (Cuadro 2) y para la R2 fueron diferentes ($p<0.05$) volumen y concentración espermática (Cuadro 3).



Grafica 3. Época reproductiva (ER), se representan los cambios en la circunferencia escrotal (cm; línea punteada gris y azul claro para R1 y R2; respectivamente), y la concentración espermática ($10^9 \times \text{mL}^{-1}$) barra negras (R1) y azules (R2) durante la evaluación experimental.

Durante el AE (días largos) en la R1 (Cuadro 2) se encontraron diferencias ($p<0.05$) en volumen, porcentaje de espermatozoides vivos y en la concentración espermática. La mayor concentración espermática ($476.7\pm 173.9 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$) fue observada durante el muestreo 10

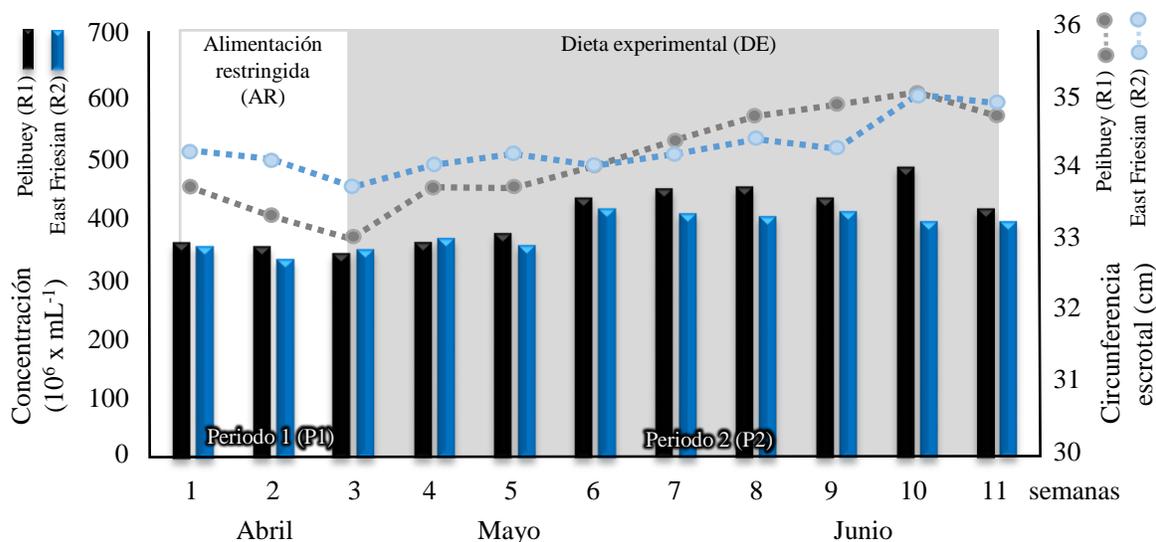
(Grafica 4), semana siete después de la DE. Para la R2 solo se observaron diferencias ($p < 0.05$) para el tiempo de eyaculación después del periodo con DE.

Cuadro 5. Variaciones en la calidad de semen de carneros East Friesian (R2) durante el año, época reproductiva (ER) y época de anestro estacional (AE) con dos periodos de alimentación, alimentación restringida (AR) y un periodo con dieta experimental (DE) a una latitud norte de 19°.

East Friesian (R2)		Variables					
Época	Periodo	Movilidad masal	Volumen (mL)	Tiempo eyaculado	Vivos (%)	Normalidad	Concentración ($\times 10^6 \text{ mL}^{-1}$)
Reproductiva (ER)	1 (AR)	4.5 \pm 0.8	1.2 \pm 0.2	2.0 \pm 0.5	76.6 \pm 10.8	85.8 \pm 12.4	324.0 \pm 33.4
	2 (DE)	4.2 \pm 0.7	1.6 \pm 0.3 ^a	1.3 \pm 0.3 ^a	84.7 \pm 03.6 ^a	91.3 \pm 03.6 ^a	527.7 \pm 141.9 ^a
Anestro (AE)	1 (AR)	4.5 \pm 0.4	1.2 \pm 0.1	1.9 \pm 0.1	76.6 \pm 6.4	81.0 \pm 8.8	340.8 \pm 09.7
	2 (DE)	4.5 \pm 0.6	1.3 \pm 0.4 ^y	1.5 \pm 0.3 ^a	80.6 \pm 2.2	84.3 \pm 4.9 ^y	391.9 \pm 21.0 ^y

^a diferencias entre periodo (AR vs DE) dentro de época (ER vs AE; $p < 0.05$)

^{x, y} diferencias entre épocas (ER vs AE) dentro de periodo (AR vs DE; $p < 0.05$)



Grafica 4. Época de anestro estacional (ER), se representan los cambios en la circunferencia escrotal (cm; línea punteada gris y azul claro para R1 y R2; respectivamente), y la concentración espermiática ($10^9 \times \text{mL}^{-1}$) barra negras (R1) y azules (R2) durante la evaluación experimental.

4.1.6 Discusión

Los cambios de peso y de circunferencia escrotal ($p < 0.05$) observados durante el presente estudio en las dos razas (R1 y R2) y en las dos épocas (ER y AE; fotoperiodo) se explican por el efecto de la nutrición (Grafica 1 y 2), los machos ganaron peso después del periodo con AR (P1), lo que indicó que la cantidad de nutrientes aportados por la DE (P2) tuvo un efecto ($p < 0.05$) positivo en la ganancia de peso y el diámetro testicular, lo que sugiere que los tratamientos de AR (P1) y de la DE (P2) tuvieron el efecto esperado en dichas variables durante la ER y el AE en este estudio.

La circunferencia escrotal, mostró una relación positiva con el peso corporal, presentándose un incremento progresivo, a partir de la administración de la DE, en las dos épocas (ER y AE) observándose diferencias ($p < 0.05$) en los mismos periodos (Graficas 1 y 2). Por lo cual, se sugiere que la circunferencia escrotal, en las condiciones del presente estudio, fue una medida confiable y de fácil implementación y que permite estimar la fertilidad del carnero. Además, se puede inferir que una buena nutrición antes del inicio de la época de empadre, es un factor determinante para mejorar la condición física y reproductiva de los sementales. En relación a la nutrición, **Perón (2004)** mencionó que el nivel de energía y proteína en la dieta para carneros, presenta una influencia directa en la cantidad y calidad del semen, además, reportó que la producción diaria de espermatozoides, se incrementó con una dieta balanceada en función a los requerimientos nutricionales que permitan mejorar el funcionamiento reproductivo de los sementales (época de empadre), si la dieta no está balanceada en función de los requerimientos nutrimentales de los sementales, afecta directamente, la calidad de los gametos, que se determina a través del conteo celular y de esta manera, evaluar la calidad del semen, que varía en función de la calidad de la dieta. En el presente estudio, la concentración

espermática, durante las épocas (ER y AE) presentó diferencias ($p < 0.05$) en ambas razas (R1 y R2), lo cual se atribuye a la calidad de los nutrientes y balanceo de la dieta que fue ofrecida durante P2 (DE).

Otro de los factores que afectó ($p < 0.05$) la función reproductiva de los machos en este estudio, fue el fotoperiodo, coincidiendo con lo reportado por **Lincoln y Davidson (1977)** que observaron que las variaciones en el peso corporal y la circunferencia escrotal presentaron una estrecha relación con las variaciones estacionales de las horas luz (fotoperiodo). También, **Chimineau et al. (1992)** mencionaron que en los ovinos de lana, existen variaciones en el tamaño testicular través del el año, reportando un mayor tamaño ($p < 0.05$) durante la época reproductiva, lo cual fue confirmado por **Malpoux et al. (1997)** mencionando que, durante los días cortos, se secreta una mayor cantidad de melatonina, hormona responsable de establecer el inicio o fin de la época reproductiva, razón por la cual y para evitar efectos confundidos con el fotoperiodo, en el presente estudio, se ofrecieron las mismas dietas (AR y DE) durante las diferentes épocas.

Los resultados observados para las características seminales (calidad seminal) en los carneros (Cuadro 2 y 3) durante la ER, mostraron que en la R1 el efecto de la nutrición se reflejó en el tiempo de respuesta a la eyaculación y en la concentración espermática y en la R2, presentó una respuesta más intensa a la nutrición que la R1, ya que fueron observadas diferencias ($p < 0.05$) en volumen del eyaculado, porcentaje de espermatozoides vivos y concentración espermática. Las diferencias, se observaron también, durante el AE (Cuadros 2 y 3). **Mann y Lutwac-Mann (1981)** mencionaron que el semen de carnero se caracteriza por tener un volumen seminal bajo (0.7-2 mL), aunque presenta una alta concentración espermática ($200-500 \times 10^6$). En base a la nutrición, **Forbes (1982)** mencionó que existe una relación muy

estrecha entre la demanda de nutrientes y la actividad reproductiva durante el anestro estacional en los carneros, al respecto, en este estudio, el peso corporal, presentó un incremento progresivo y constante durante los períodos de administración de la DE, tanto en ER como en AE, y fue independiente de la raza (Grafica 2). **Fernández et al. (2004)** mencionaron que en los machos, la nutrición está estrechamente relacionada con la talla testicular y la producción espermática y estas variables, están muy influenciadas por los cambios en el consumo de proteínas y energía que contenga la dieta. Durante el periodo de AE, se presentó un incremento ($p < 0.05$) en el peso corporal y en la circunferencia escrotal, al respecto, se menciona que algunos factores como el fotoperiodo (**Toe et al., 2000; Kafi et al., 2004**), los suplementos alimenticios (**Cameron et al., 1988**) y la ganancia diaria de peso (**Tulley y Burfening, 1983**) afectan la circunferencia escrotal, considerado como un indicador directo de la calidad espermática (**Avellaneda et al., 2006**). Además, **Bernardi et al. (2010)** mencionaron que el peso y la edad de los animales, también, pueden influir en la calidad espermática, ya que la circunferencia escrotal, está relacionada directamente con los aspectos macroscópicos y microscópicos del semen.

La concentración espermática durante la época reproductiva observada en el presente estudio, se ajustan a los valores reportados por **Luna-Palomera et al. (2013)** y pueden ser explicados por la edad de los carneros, y al efecto de la nutrición durante el P2 (DE), ya que se observó una recuperación de las variables de calidad seminal después de la etapa restringida, sin embargo, los valores encontrados para las variables relacionadas con la calidad seminal, están dentro de los rangos reportados por otros autores (**Hulet y Shelton, 1980**) y son comparables con los encontrados por **Victoria et al. (2009)** en carneros Pelibuey y Kathadin. También, los resultados observados en este estudio para la concentración espermática en ambas épocas (ER

y AE), están por arriba de los valores reportados por **Aguirre et al (2007)** en carneros Pelibuey (mayores a 2 años) 402.0 y 440.0 $\times 10^6$ espermatozoides mL^{-1} , para ER y AE, respectivamente. La raza East Friesian, se sabe, presenta un periodo de anestro estacional, mayor que el de los carneros Pelibuey (latitudes tropicales), sin embargo, en este estudio, en ambas razas, se observó un efecto del fotoperiodo, en el volumen de eyaculado y la concentración espermática, se obtuvieron valores mayores durante la época reproductiva, que durante el anestro estacional ($p < 0.05$). El volumen de eyaculado y la concentración espermática, observados en este estudio, son similares a los reportados por **Ibrahim (1997)** y **Karagiannidis et al. (2000)** que trabajaron con machos Friesian durante las cuatro estaciones del año.

Para este estudio, el volumen de eyaculado obtenido durante la época reproductiva para los carneros East Friesian antes y después de la DE fue de 1.2 ± 0.2 y 1.6 ± 0.3 mL, respectivamente, con un tiempo al eyaculado antes y después de P2 (DE) fue de 2.0 ± 0.5 y 1.3 ± 0.3 min, estos valores se aproximan a los reportados por **Karagiannidis et al. (2000)** quienes obtuvieron en su estudio un promedio de 1.5 ± 0.1 mL durante otoño e invierno. Durante el anestro estacional, se observó una disminución en el volumen de eyaculado (1.3 ± 0.4 mL) después de la dieta experimental (DE), con un tiempo al eyaculado de 1.5 ± 0.3 min, este valor es menor al obtenido por **Karagiannidis et al. (2000)** que fue de 1.5 ± 0.7 min, estos valores pueden explicarse en parte por la latitud en la que se desarrolló el experimento (19°LN) y que es diferente a los 40°LN de **Karagiannidis et al. (2000)**. Se sabe, que las variables seminales (calidad seminal), están sujetas a los cambios en el fotoperiodo y en el nivel nutricional, al respecto **Evans y Maxwell (1987)** mencionaron que el efecto del fotoperiodo en ovinos, depende principalmente de la latitud geográfica. Por ejemplo, en las

razas que originalmente, habitan a los 40°LN aproximadamente, como es el caso de la East Friesian, se observan diferencias ($p < 0.05$) en los parámetros seminales durante el anestro estacional, sin embargo, con la disminución de las horas luz (días cortos), la producción seminal se incrementa, aunque en las regiones tropicales, las consecuencias de este evento se manifiestan poco y se menciona que, las variaciones estacionales en el comportamiento reproductivo de las razas que habitan latitudes tropicales, como por ejemplo, la Pelibuey, por lo regular, los cambios en calidad seminal, están más asociados a la disponibilidad de nutrientes. En este estudio, se observó, que la producción seminal, fue afectada por el fotoperiodo (AE) en ambas razas (R1 y R2). En la ER las características seminales, fueron mejores que en el AE y se apreció un marcado efecto de la nutrición (Graficas 1 y 2).

4.1.7 Conclusiones

En las condiciones del presente trabajo, en la R1 y durante la ER, la nutrición afectó el tiempo de eyaculación y la concentración espermática y en el AE afectó el volumen de eyaculado, el porcentaje de espermatozoides vivos y la concentración espermática. Para la R2 durante la ER, la nutrición afectó el volumen de eyaculado, el tiempo a la eyaculación, en el porcentaje de espermatozoides vivos y la concentración espermática y durante el AE afectó el tiempo a la eyaculación. El fotoperiodo (anestro estacional) afecta la calidad seminal en las dos razas (R1 y R2).

4.2 Estudio II: Efecto de la subnutrición postnatal en el desarrollo del epitelio seminífero de machos pelibuey

4.2.1 Resumen

Se realizó un experimento con la finalidad de evaluar los efectos de una restricción alimenticia durante la lactación (de la etapa neonatal hasta los 2 meses de edad) en el epitelio seminífero del testículo. Se utilizaron 28 machos recién nacidos de la raza Pelibuey, los cuales fueron divididos en tres grupos. Grupo 1, machos alimentados de manera normal (amamantamiento continuo, AC; n=12), Grupo 2, machos con alimentación controlada (restricción de la lactancia, AR; n=12), los machos fueron seleccionados al azar para ser castrados a los 0 meses (Grupo 3; n=4), a los 3 meses (tres de AC y tres de AR), a los 6 meses (tres de AC y tres de AR), a los 9 meses (tres de AC y tres de AR), y a los 12 meses de edad (tres de AC y tres de AR). Estos fueron pesados y se midió el diámetro del saco escrotal semanalmente hasta el momento de la castración, de cada individuo se obtuvieron los dos testículos, para su procesamiento y posterior evaluación histomorfométrica, se cuantificó el número de túbulos y cordones por unidad de área, la prolificidad del testículo y la presencia de espermátidas elongadas por edad en base a cada uno de los grupos (AC y AR). El incremento en la masa testicular, la transición de cordones a túbulos y la aparición de espermátidas elongadas, se observó ($p<0.05$) entre los 3 y 6 meses de edad, en los individuos de AC, y entre los 6 y los 9 meses de edad en los de AR. El incremento en el peso corporal y el diámetro escrotal, generaron una curva de crecimiento y una correlación entre ambas variables que fue en los individuos testigo de $r=0.97$ y en los individuos restringidos fue de $r=0.93$. Se concluye que la subnutrición durante la lactancia afecta el desarrollo del epitelio seminífero en machos Pelibuey.

Palabras clave: Carnero, subnutrición, epitelio seminífero, espermátidas.

Study II. Undernourishment effect of postnatal development of male the seminiferous epithelium pelibuey

4.2.2 Abstract

An experiment in order to evaluate the effects of dietary restriction during lactation (from the neonatal period up to 2 months old) in the seminiferous epithelium of the testes was performed. 28 newborn lambs Pelibuey males, which were divided into three groups were used. Group 1 fed as normal males (continued breastfeeding, AC; n = 12), Group 2, males with controlled feeding (restriction of breastfeeding, AR; n = 12), males were randomly selected to be castrated to 0 months (Group 3; n = 4), at 3 months (three AC and three AR), at 6 months (three AC and three AR) at 9 months (three AC and three AR), and 12 months of age (three AC and three AR). These were weighed and the diameter of the scrotal sac was measured weekly until castration, each individual both testicles, for processing and subsequent histomorphometric evaluation were obtained, the number of cords and quantified tubules per unit area, the prolificacy of the testis and the presence of elongated spermatids age based on each of the groups (AC and AR). The increase in testicular mass, the transition of cords to tubules and the appearance of elongated spermatids was observed ($p < 0.05$) between 3 and 6 months of age, individuals in AC, and between 6 and 9 months of age in AR. The increase in body weight and scrotal diameter, generated a growth curve and a correlation between both variables was in control individuals $r = 0.97$ and restricted individuals was $r = 0.93$. It is concluded that undernutrition during lactation affects the development of the seminiferous epithelium in Pelibuey males.

Keywords: Ram, undernourishment, seminiferous epithelium, spermatids.

4.2.3 Introducción

Las diferentes estrategias de manejo que ayudan al cordero en etapa lactante para que se adapte lo más rápido posible a su nuevo ambiente, se enfocan al cuidado materno y a la ingesta de calostro, con la finalidad de protegerlo de un ambiente adverso y tratar de cubrir sus necesidades nutrimentales, ya que el amamantamiento, provoca cambios conductuales y fisiológicos que aseguran la sobrevivencia extra-uterina (**Nowak y Pondron, 2006**). Durante esta etapa, los procesos fisiológicos que relacionan la nutrición con la reproducción, están controlados por la suplementación de nutrientes y las reservas energéticas almacenadas, por lo cual, una restricción alimenticia durante esta etapa, tiene como consecuencia, efectos variables en la fisiología reproductiva del individuo (**Scaramuzzi et al., 2006**).

En los rumiantes, un periodo de restricción alimenticia, provoca cambios metabólicos y endocrinos, que pueden ser reversibles, dependiendo de la severidad y la duración del periodo de restricción. Cuando la restricción, se presenta durante la lactancia, el metabolismo se adapta a un nivel bajo de consumo, en donde la homeostasis del individuo, se dirige principalmente a la supervivencia, ya que todos los mecanismos fisiológicos que se llevan a cabo en el organismo, se enfocan en mantener el control del ambiente interno (**Chilliard et al., 1998**). Durante la vida posnatal temprana (lactancia), un periodo restringido provoca alteraciones en el peso corporal, que a la larga afecta la función reproductiva del individuo de manera temporal o permanente (**Rhind, 2004**), ya que altera los centros metabólicos y reproductivos del cerebro que controlan los cambios en la frecuencia de secreción de los pulsos de GnRH, de tal forma que si la frecuencia de

secreción de esta hormona se ve afectada, induce variaciones en la secreción de LH y testosterona (**Hötzel et al., 1995**).

A nivel gonadal, se ha demostrado que carneros restringidos en diferentes etapas del desarrollo, presentan una disminución en la producción seminal, esto está relacionado con los cambios en la talla testicular, además, diversos estudios histológicos, demuestran que la nutrición afecta el diámetro y longitud de los túbulos seminíferos, así como la proporción que estos ocupan en el epitelio (**Setchell et al., 1965; Oldham et al., 1978; Hötzel et al., 1998**). Estas variaciones, también se ven reflejadas en el porcentaje de epitelio seminífero (**Hötzel et al., 1998**), ya que, se ha demostrado que la espermatogénesis en carneros es sensible a incrementos en el consumo de proteína y a las variaciones de energía (**Martínez et al., 2001**). Es por ello que, los cambios morfológicos que experimenta el epitelio seminífero durante el desarrollo y la aparición de las diferentes estructuras celulares, que denotan madurez, como por ejemplo, la presencia de espermátidas elongadas, pueden ser evaluadas e inferir el potencial reproductivo de los machos. El desarrollo testicular en ovinos, puede variar entre razas, ya que depende de los eventos endócrinos y fisiológicos que ocurren de manera interna (**Herrera-Alarcón et al., 2007**), sin embargo, el grado de crecimiento y maduración testicular, depende del control de los diferentes eventos ambientales y nutricionales.

Objetivo

Caracterizar el desarrollo del epitelio seminífero de machos Pelibuey con restricción alimenticia durante la lactancia.

Objetivos Específicos

- 1) Caracterizar el cambio de cordones a túbulos en el epitelio seminífero del macho Pelibuey con alimenticia restringida durante la lactancia a los 0, 3, 6, 9 y 12 meses de edad.
- 2) Describir la presencia y proporción de espermátidas elongadas en machos con alimentación restringida.
- 3) Describir y caracterizar el incremento en el peso corporal y el diámetro del saco escrotal de machos Pelibuey con alimentación restringida durante la lactancia a los 0, 3, 6, 9 y 12 meses de edad.

4.2.4 Materiales y Métodos

4.2.4.1 Ubicación

El experimento se realizó en el Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Postgraduados, ubicado en Montecillo, Municipio de Texcoco, Estado de México. Se localiza a 19°29' N y 98°53' O, a una altitud de 2250 msnm. El clima es templado subhúmedo con lluvias en verano Cb (wo) (w) (i), con precipitación de 636.5mm y temperatura media anual de 15.5°C (García, 1988).

4.2.4.2 Manejo General y Alimentación de los animales.

Se utilizaron 28 machos recién nacidos de la raza Pelibuey, los cuales fueron divididos en dos grupos. Grupo 1, machos alimentados de manera normal (amamantamiento continuo más creep feeding desde los siete días postparto, AC; n=16), Grupo 2, machos con alimentación controlada (restricción de la lactancia, desde el nacimiento hasta los 2 meses de edad, AR; n=12), la restricción alimenticia consistió en ofrecerle un biberón de 250 mL

con leche (leche en polvo para corderos) por la mañana y uno por la tarde, después del destete (dos meses de edad) y hasta el año de edad, se les proporciono la siguiente dieta, a los machos del grupo AC como a los machos del grupo AR:

Grano de maíz/sorgo (quebrado) 260 (47.2%), pasta de soya 40 (7.3%), Salvado de trigo 30 (5.4%), Cascarilla de soya 40 (7.3%), Heno de avena/alfalfa 60 (10.9%), paja o rastrojo 60 (10.9%), melaza 40 (7.4%), minerales para engorda 5 (0.9%), carbonato de calcio 5 (0.9%), urea 3.5 (0.6%), grasa 7.5 (1.4%).

Durante todo el desarrollo experimental, los animales fueron pesados y se les midió la circunferencia del saco escrotal de forma semanal.

4.2.4.3 Gonadectomía bilateral, tratamiento quirúrgico y posquirúrgico

Los machos fueron seleccionados al azar para ser gonadectomizados bilateralmente a los 0 meses (n=4), a los 3 meses (tres de AC y tres de AR), a los 6 meses (tres de AC y tres de AR), a los 9 meses (tres de AC y tres de AR), y a los 12 meses de edad (tres de AC y tres de AR). Todos los animales fueron mantenidos en corrales de observación, en un sistema de tipo intensivo y con un fotoperiodo natural, además, fueron manejados de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana **NOM-062-ZOO-1999** y al manual de prácticas y procedimientos para animales experimentales del Colegio de Postgraduados (ColPos). Los animales fueron pesados, previamente al procedimiento quirúrgico, para determinar la cantidad de anestesia (xilazina/ketamina) a utilizar y durante el transcurso del procedimiento quirúrgico, se mantuvieron en un estado anestésico total.

El tipo de gonadectomía que se utilizó, fue el método quirúrgico es decir, se extrae el testículo, realizando una incisión con un bisturí en la parte inferior del saco escrotal, en

forma de corona, extrayéndose testículo izquierdo y derecho, posteriormente se ligaron los conductos y se realizó una sutura en la zona de la incisión (http://praderasypasturas.com/files/menu/catedras/produccion_de_carne_bovina/12_Castracion.pdf).

Después de la cirugía, los animales gonadectomizados, fueron puestos en un corral, totalmente limpio y desinfectado con cal durante 5 días, y se sometieron a un tratamiento farmacológico posquirúrgico que consistió en la administración de un antibiótico (Shotapen®LA o Emicina®), un antiinflamatorio (Meglumina de flunixin®), y un analgésico (Vetalgina®), con dosis de acuerdo a la edad y al peso corporal.

4.2.4.4 Preparación del tejido testicular

Después de la castración, las gónadas, tanto izquierda como derecha, fueron separadas del epidídimo, del sistema de conductos y del tejido conectivo, posteriormente, se pesaron de manera individual mediante una balanza analítica, procesándose los testículos completos de los animales neonatales, los de 3 meses restringidos y para los de 3 meses normales (testigos), se realizó una disección de la región céntrica del testículo, aproximadamente de 2 a 3 cm³, y de 5 a 6 cm³ en los individuos que presentaban una masa testicular mayor, es decir, aquellos que correspondían a las edades de 6, 9 y 12 meses; esta porción de tejido fue preparada conforme a la técnica histológica, utilizando Bouin-Duboscq (Acido pícrico 2,4,6-(NO₂)₃C₆H₂OH, ácido acético glacial CH₃COOH, Formol puro. Fermont, México) como un medio de fijación durante 12 horas, deshidratando con un tren de alcohol en concentraciones crecientes desde 50%, 70%, 85%, 96% y 100%, durante 2 horas cada uno, posteriormente, se aclararon con xileno (Etilbenzeno C₆H₄(CH₃)₂, J.T.Baker Edo. de Méx.

Para la cuantificación de estructuras tubulares del epitelio seminífero se utilizó el programa AnaliSYS 5 Opti Basic®, y un microscopio óptico de campo claro (ZEISS Axiostar *plus* Serien-NR: 3108012683, Carl ZEISS Weri Göttingen 37081, Göttingen, Germany), adaptado a una cámara digital a color (HBO50 Colorview, Soft Imaging System, No. Serie 423003-9000), la cuantificación de los túbulos seminíferos se realizó a un aumento de 100x (10 del objetivo x 10 del ocular). Lo primero que se hizo fue seleccionar un área, que tuvo una dimensión de 1301374.38 μm^2 , esta área fue la misma para todas las imágenes histológicas de todos los grupos de individuos que formaron parte de este estudio.

Además, se utilizó una aplicación del programa que tenía como función, delinear el contorno de los túbulos seminíferos. Durante la cuantificación de estructuras, el programa realiza una base de datos del perímetro de los túbulos seminíferos y arroja los datos de las siguientes variables: área, perímetro, diámetro mayor, diámetro menor y el número de túbulos medidos para cada imagen histológica evaluada (**Ver anexos, Estudio II, imagen 2 y 8**).

Una vez obtenidos los datos de las medidas de los túbulos seminíferos, se evaluó también para cada imagen histológica, el número de espermátidas elongadas, como un indicador de la prolificidad seminal del individuo, las imágenes con túbulos que cruzaban la región superior e izquierda y las imágenes sin túbulos que cruzaban la región superior e izquierda, la presencia de lúmen, el porcentaje de epitelio seminífero y el porcentaje de encogimiento de cada túbulo seminífero, el número de cordones, túbulos por unidad de área y los túbulos con espermátidas elongadas por unidad de área.

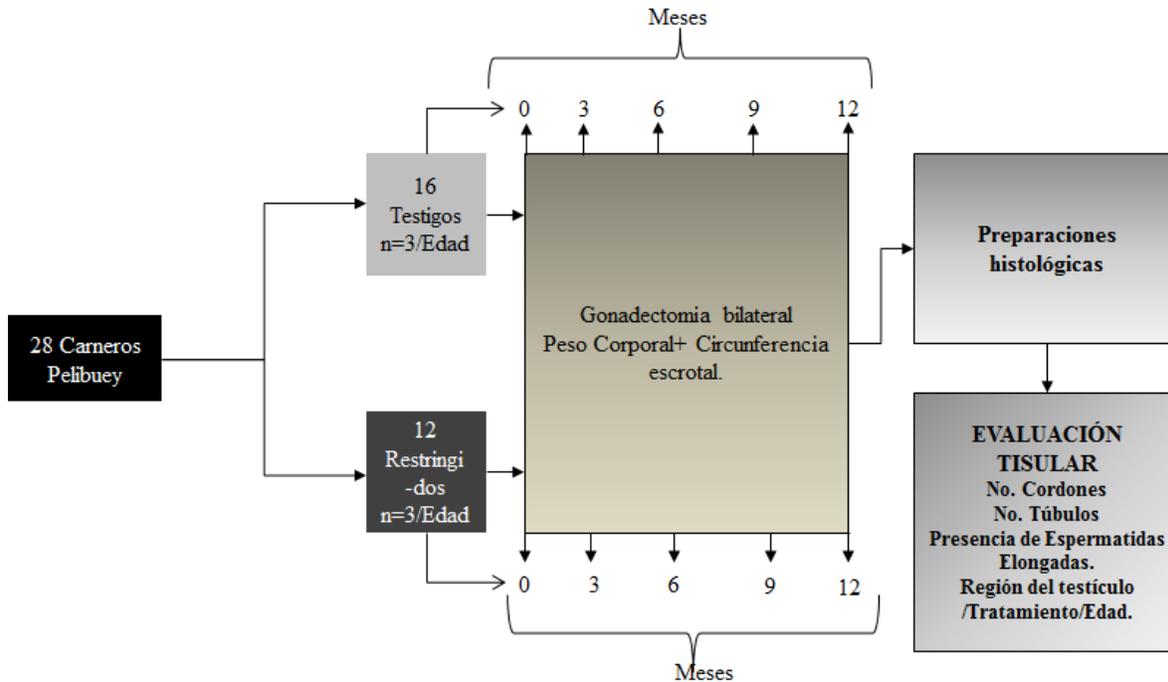


Figura 17. Diseño del experimento y representación esquemática de los tratamientos a lo largo de 2 años de duración.

4.2.4.6 Análisis estadístico

- Se utilizó el análisis de tablas de contingencia para las variables, región del testículo (izquierdo o derecho), edad y tratamientos (restringido, testigo), utilizando la prueba de independencia de chi-cuadrada (PROC FREQ/SAS)
- Se usó el modelo de análisis de varianza (ANOVA) para investigar la relación que existe entre las variables tratamientos, edad y espermatidas elongadas (PROC GLM).
- Se investigó la correlación de las variables ganancia de peso corporal y diámetro del saco escrotal, usando el análisis de correlaciones de SAS (PROC CORR).

4.2.5 Resultados y discusión

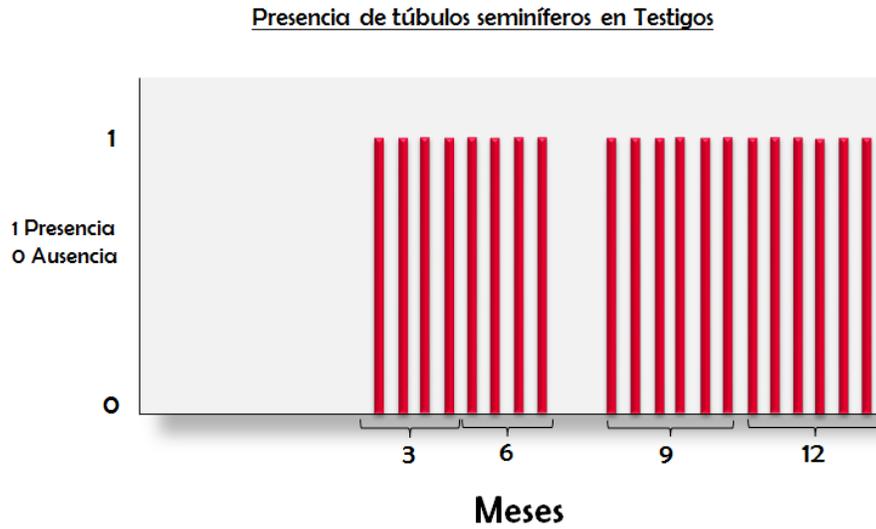
4.2.5.1 Incremento o prolificidad testicular: cambios de cordones a tubulos.

En el presente estudio, en el grupo AC durante las primeras edades (neonatales y de 3 meses de edad), en su mayoría, se observaron cordones sólidos sin lumen central visible, esto se debe a que las células germinales, probablemente espermatogonias y células de Sertoli, se encuentran en etapa de proliferación mitótica, originando un crecimiento de los túbulos de manera longitudinal, sin embargo, a partir de los 3 meses de edad los túbulos comienzan a incrementar en diámetro debido al surgimiento de espermátidas elongadas que trae como consecuencia, la aparición de lumen tubular, esto coincide con lo reportado por **Herrera-Alarcón *et al* (2007)**, quienes observaron que hacia la semana 12, en corderos Blackbelly, se observó un mayor crecimiento en diámetro y que esto presentaba una relación directa con la aparición del lumen en los túbulos, así como con el aumento en diámetro del epitelio seminífero.

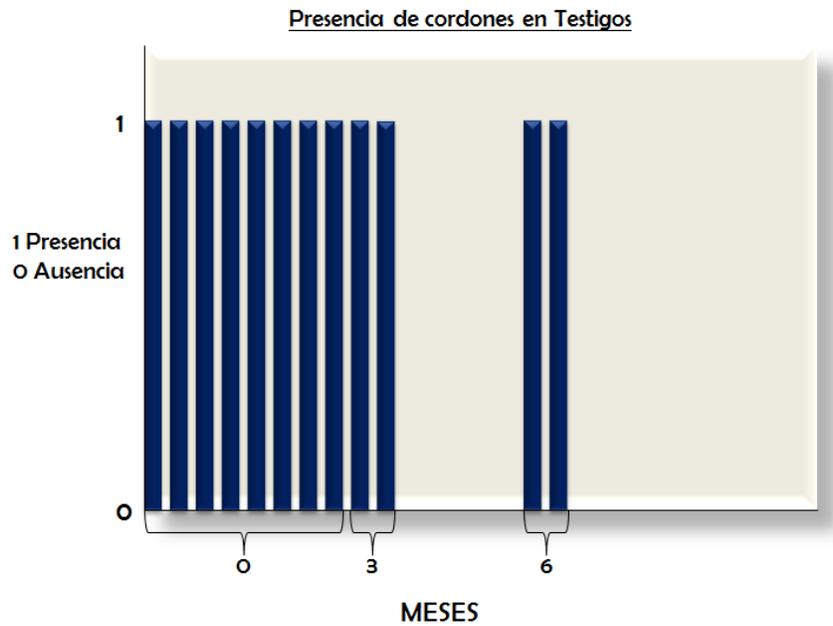
La presencia de túbulos con lumen a partir de los 3 meses, es considerado por algunos autores como el inicio de la pubertad, el comienzo de la espermatogénesis y también la maduración de las células de Sertoli (**Courot, 1967**), que fue lo observado en este estudio, para los individuos del grupo AC, sin embargo, en los individuos del grupo AR, la presencia de túbulos seminíferos, fue observada hasta los 9 meses de edad.

Por lo tanto, en este estudio, en general, la transición, es decir, el cambio de cordones a túbulos seminíferos, empezó a observarse a la edad de 3 meses ($p < 0.05$) que corresponde a etapas prepuberales, con un 71.43% de cordones y un 28.57% de túbulos. A la edad de 6 meses, que corresponde a la pubertad, se observó un aumento en el porcentaje de cordones

(66.67%) y un (33.33%) de túbulos seminíferos ($p < 0.05$) y a la edad de 9 y 12 meses, los individuos presentaban un 89% de túbulos seminíferos y un 11% de cordones (Gráfica 5 y 6).

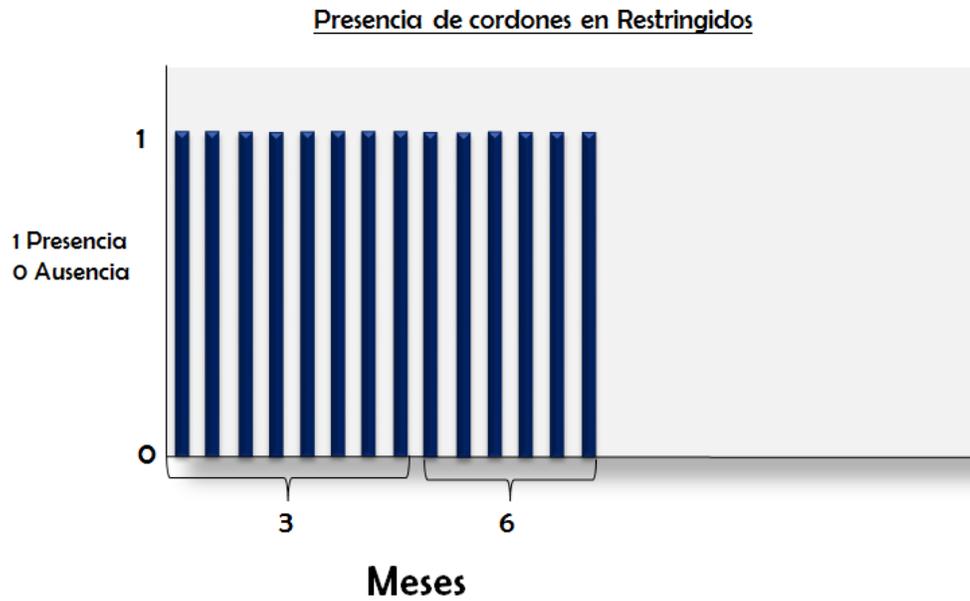


Gráfica 5. Describe la presencia/ausencia de túbulos seminíferos en testigos a lo largo de un año.

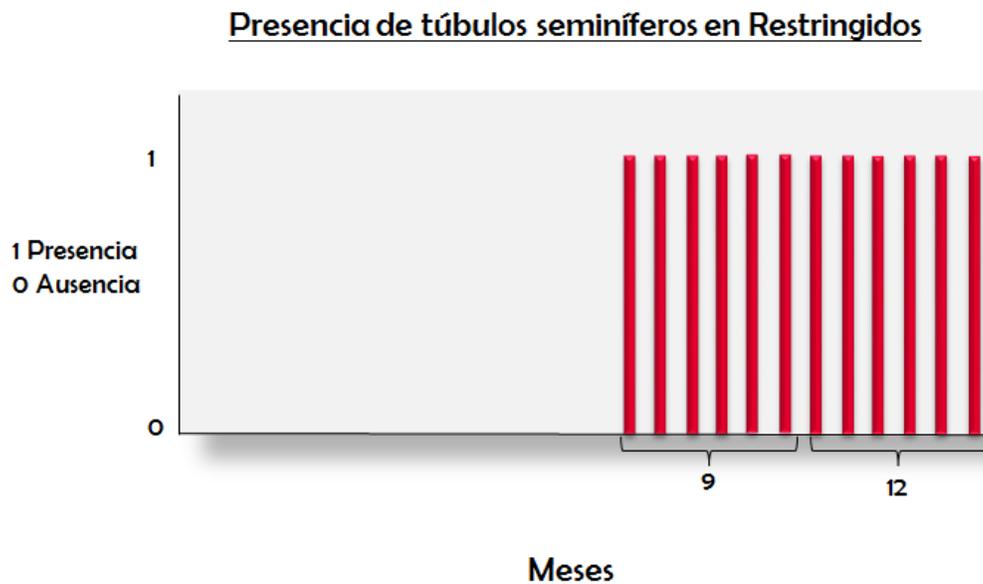


Gráfica 6. Describe la presencia/ausencia de cordones en testigos a lo largo de un año.

Para los machos con alimentación restringida durante la lactancia, presentan la transición y maduración de cordones a túbulos seminíferos, a partir de los 9 meses (Gráfica 7 y 8).



Gráfica 7. Describe la presencia/ausencia de cordones en individuos restringidos a lo largo de un año.



Gráfica 8. Describe la presencia/ausencia de túbulos seminíferos en individuos restringidos a lo largo de un año.

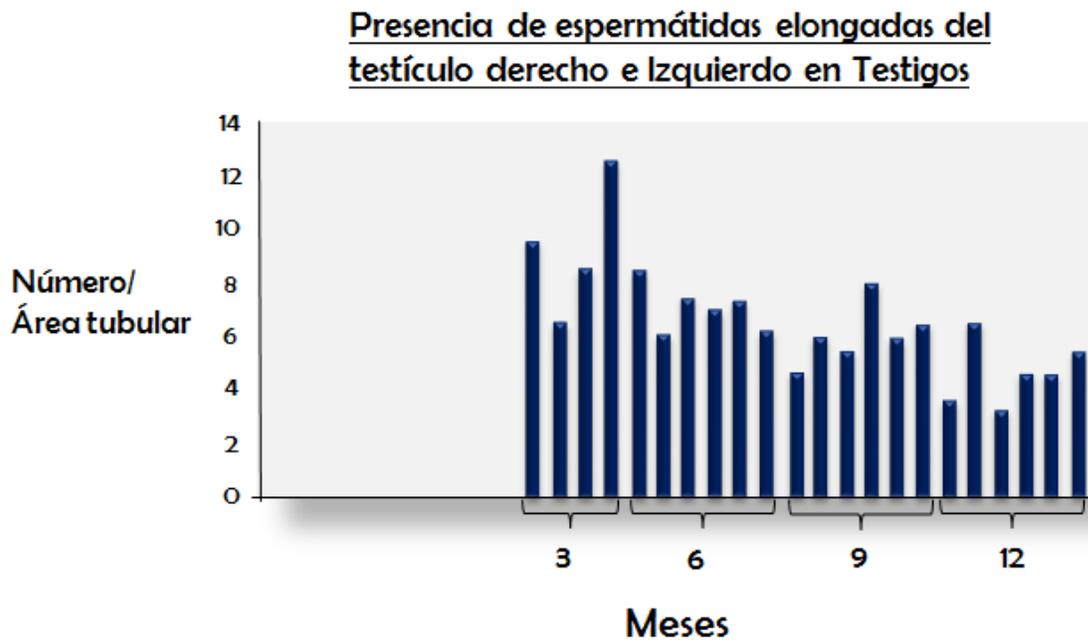
Franca y Rusell (1998) mencionaron que el epitelio seminífero, ocupa aproximadamente entre el 70 y el 90% del parénquima testicular en la mayoría de los mamíferos. En este estudio y para todos los individuos que formaron parte, la mayor proporción de tejido tubular encontrada fue a la edad de 12 meses, en donde los individuos, presentaban alrededor del 90%, sin embargo, el desarrollo del tejido tubular fue diferente en individuos del grupo AC y el AR.

Una de las características importantes, observadas en este estudio, fue que el crecimiento de los testículos esta correlacionado con el incremento del epitelio seminífero, esto se debe a que durante las etapas tempranas, existe un incremento en la longitud de los túbulos seminíferos, más que el diámetro, posteriormente, aparece el lumen tubular y se presenta, durante etapas peripuberales, un incremento en el diámetro. El desarrollo de los túbulos seminíferos en etapas neonatales en ovinos de lana fue descrito por **Courot (1962)** demostrando, también, que el aumento en la longitud de los túbulos depende de la regulación de hormonas, principalmente, las gonadotropinas LH y FSH (**Courot, 1967**).

4.2.5.2 Presencia de espermátidas elongadas por edad

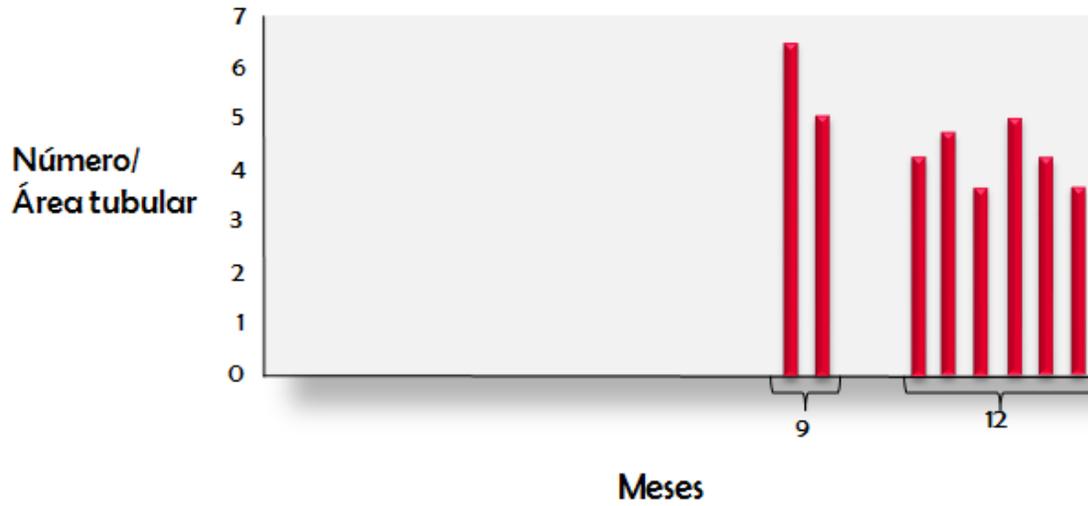
En el presente estudio, la presencia de espermátidas elongadas, estructuras que indican madurez y con ello, la expresión de etapas avanzadas de espermatogénesis, empezaron a surgir a la edad de 3 meses en los individuos del grupo AC (Gráfica 9) y a la edad de 6 meses y a los 9 meses en la mayoría de los individuos que conformaban el grupo AR (Gráfica 10; $p < 0.05$). Estas estructuras, comenzaron a observarse, junto con la aparición del lumen tubular, presentando una población más densa a la edad de 6 meses, en los machos de AC, que corresponde a la etapa puberal y presentándose en la mayoría de los túbulos

evaluados y cuantificados (Gráfica 11), En ovinos adultos, se ha observado que la espermatogénesis dura aproximadamente entre 50-53 días (**Sharpe, 1994**) y cada una de las etapas en que se divide (espermatocitogénesis, meiosis y espermiogénesis) tiene una duración aproximadamente similar entre ellas; las espermátidas elongadas, aparecen hacia el final de la espermiogénesis y es ésta, la última etapa de la formación del gameto. La presencia de estas estructuras, han sido descritas en carneros Suffolk, cuyo inicio de la espermatogénesis fue detectado entre las 10 y 15 semanas de edad, independientemente de la estación de nacimiento (**Courot *et al.*, 1975**) y también en carneros Blackbelly entre las 10 y 12 semanas de edad (**Herrera-Alarcón *et al.*, 2007**).



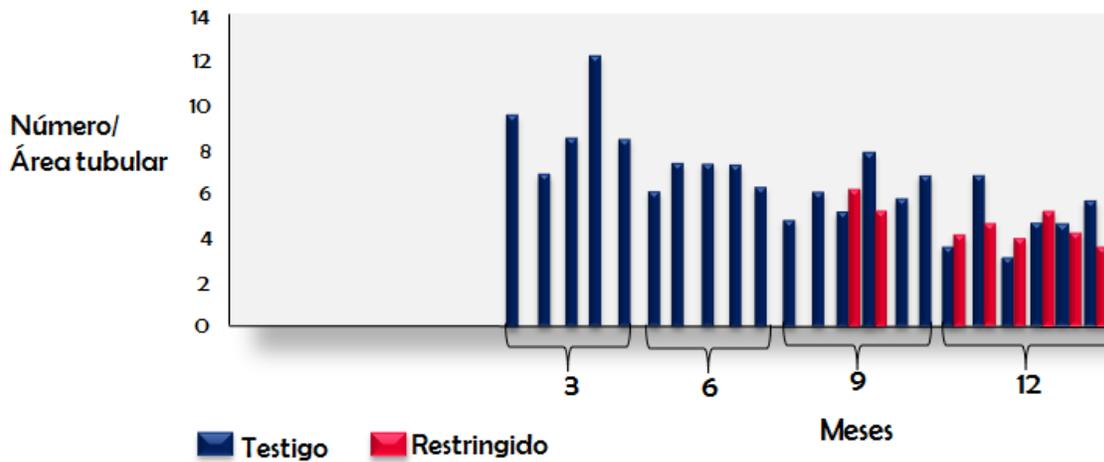
Gráfica 9. Describe el número de espermátidas elongadas encontradas en el área tubular evaluada en individuos testigo a lo largo de un año.

Presencia de espermátidas elongadas del testículo derecho e izquierdo en Restringidos



Gráfica 10. Describe el número de espermátidas elongadas encontradas en el área tubular en individuos restringidos a lo largo de un año.

Presencia de espermátidas elongadas del testículo izquierdo y derecho en Testigos y Restringidos

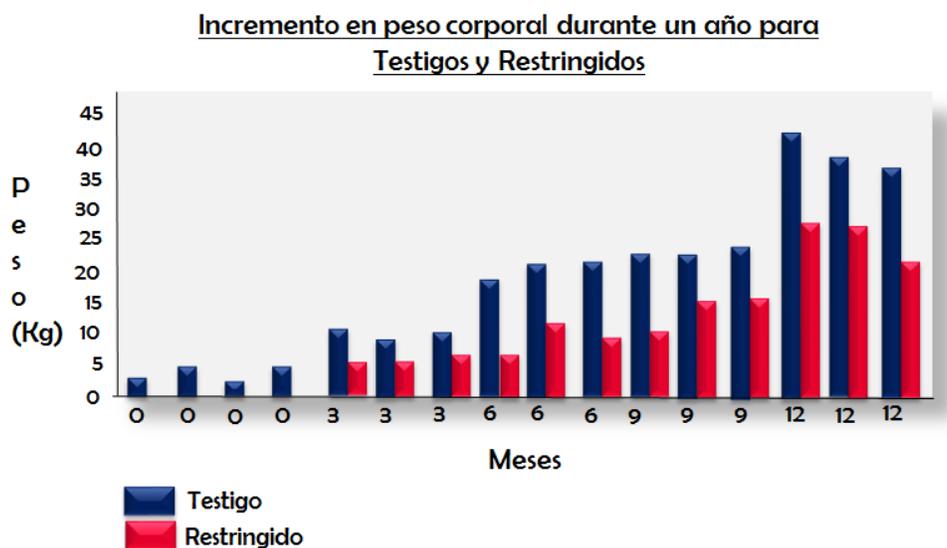


Gráfica 11. Comparación entre el número de espermátidas elongadas encontradas en el área tubular en individuos testigos y restringidos a lo largo de un año.

4.2.5.3 Correlación entre la ganancia de peso corporal y el diámetro del saco escrotal.

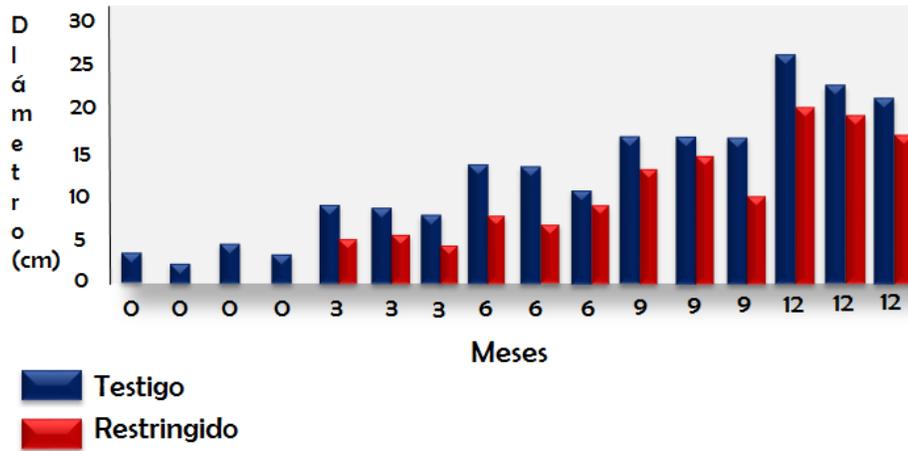
El peso corporal y el diámetro del saco escrotal, presentaron una relación positiva ($p < 0.05$) aumentando con la edad, generando una curva de crecimiento, tanto en individuos del grupo AC, como del grupo AR (Gráfica 12 y 13), que en las primeras etapas, es similar a lo reportado en machos de pelo (Herrera-Alarcón, 2007), esta curva, se incrementa entre los 3 y 6 meses, lo cual concuerda con datos presentados para otras razas (Dyrmundsson, 1973; Hochereau-de-Reviere *et al.*, 1987), después de los 3.5 meses, el crecimiento continúa de una manera gradual hasta la etapa puberal, postpuberal y la etapa adulta (madurez sexual), similar a lo reportado por otros autores (Crim y Geschwind, 1972).

Las correlaciones (Correlación de Pearson) observadas entre el diámetro testicular y el peso corporal, para este estudio, fueron muy elevadas, para el grupo AC, obteniéndose una $r = 0.97$ y para el grupo AR $r = 0.93$.



Gráfica 12. Describe el incremento en peso corporal durante un año para individuos testigos y restringidos.

Incremento en diámetro escrotal para Testigos y Restringidos durante un año.



Gráfica 13. Describe el incremento en el diámetro del saco escrotal para individuos testigos y restringidos a lo largo de un año.

Por lo tanto, el desarrollo del epitelio seminífero en individuos de AC, se presentó de la misma forma que en otras razas de pelo, esto puede comprobarse por la transición de cordones a túbulos seminíferos y la aparición de espermátidas elongadas a los 3 meses de edad, que es similar a lo encontrado por **Herrera-Alarcón *et al.* (2007)**. Sin embargo, en los individuos de AR durante la etapa lactante, el desarrollo del epitelio seminífero fue lento, presentándose la aparición de túbulos seminíferos y las primeras espermátidas elongadas a la edad de 6 meses y siendo más densas a los 9 meses de edad, presentando una ganancia diaria de peso menor, así como un reducido aumento en el diámetro escrotal, al comparar estas variables con el grupo AC a lo largo del año de evaluación. Además, se observó que la deficiencia nutrimental, en relación al consumo de leche en los individuos con alimentación restringida (AR), durante la lactancia, afectan el desarrollo neonatal normal, esto tiene un efecto directo en los futuros eventos reproductivos del cordero, como el desarrollo testicular (**Nowak y Pondron, 2006**). También, se ha reportado que individuos con alimentación restringida, son muy sensibles a las variaciones en el consumo

de alimentos, y a la distribución de nutrientes en el organismo, esto con la finalidad de mantener la homeostasis, además, la regulación del eje reproductivo en ellos, depende de la comunicación que existe entre el sistema endocrino, nervioso, pero principalmente, aquellos que están basados en la energía que proporcionan los nutrientes, en donde el sistema nervioso central y el testículo, son blancos primarios para los efectos que ejerce la nutrición (**Scaramuzzi *et al.*, 2006**).

De acuerdo a lo observado y analizado en este estudio, es importante generar un mejor conocimiento del desarrollo de los diferentes componentes del tejido testicular y de los mecanismos fisiológicos involucrados en la transición de las poblaciones celulares, así como de los factores nutricionales, especialmente durante etapas neonatales y puberales, que son los periodos de proliferación y maduración de las células testiculares, con la finalidad de mejorar e incrementar la producción espermática en los carneros, lo cual podría tener un mayor impacto económico.

4.2.6 Conclusiones

El desarrollo testicular en carneros Pelibuey subnutridos durante la lactancia, presenta un retraso considerable en el desarrollo del epitelio seminífero en relación a los machos de AC, estos por su parte, presentan un desarrollo similar al observado en otras razas. El incremento en la proporción del epitelio seminífero y su maduración está ligado a la presencia de espermátidas elongadas, que tiene como consecuencia, la aparición del lumen tubular, y a las etapas avanzadas de la espermatogénesis. La nutrición, durante la etapa lactante y posterior a esta, regula la ganancia diaria de peso corporal y el diámetro escrotal, generando una relación positiva durante el periodo experimental.

V. DISCUSIÓN GENERAL

El objetivo del presente estudio fue analizar los efectos de una restricción alimenticia durante dos etapas en el ciclo de vida del carnero. En los estudios llevados a cabo, se observó que un periodo restringido, ya sea en la etapa de lactancia o en la etapa adulta, afecta, en gran medida, todos los procesos reproductivos, desde la expresión de conductas específicas como la conducta reproductiva, hasta la producción de elementos morfológicos, como en este caso, gametos y estructuras tisulares, esto es debido a que los procesos reguladores que relacionan la nutrición con la reproducción, son los mismos que controlan la homeostasis, en donde los componentes de la dieta suministrada, parecen ser responsables de los cambios a nivel endócrino, como la secreción de gonadotropinas, principalmente, y por lo tanto en los diferentes eventos fisiológicos que se llevan a cabo en el testículo del carnero, además, las variaciones en la expresión de respuestas nutricionales, ejercen una gran influencia, también como factores reguladores de la función reproductiva entre razas y épocas.

Durante el estudio I, en carneros maduros, los cambios en la ingesta de alimentos, que en este caso particular, consistió de una alimentación restringida y la administración de una dieta experimental (alto contenido energético y proteínico), con la finalidad de mejorar la calidad del semen, se observaron grandes cambios en la producción espermática a través de las dos épocas (ER vs AE) y para ambas razas (R1 vs R2). Al respecto **Martin et al. (2010)** mencionaron que los cambios drásticos en la nutrición alteran, no sólo la masa total del tejido testicular, sino también la eficiencia con la cual los espermatozoides son producidos por las células pregaméticas, esto está relacionado con los cambios en la talla testicular, de tal forma que el cambio en el semen eyaculado, se observó hasta la séptima semana después

de un cambio favorable en la dieta, sugiriendo que los efectos en la eficiencia espermatogénica, ocurren después de la última división espermatogonial, que corresponde a la etapa meiótica. Esto es comparable con lo observado en el estudio I, donde se observó un aumento gradual en el peso corporal y el diámetro testicular a partir de la tercera semana que corresponde al inicio de la DE, sin embargo, el efecto de la DE, presentó los máximos valores entre la semana 7 y 8 de la administración, para ambas razas (R1 y R2), con un efecto mayor para la R1.

Para una evaluación de semen en campo, se debe considerar que en las variables seminales (calidad seminal), influyen los cambios en el fotoperiodo, al respecto **Evans y Maxwell (1987)** mencionaron que el efecto del fotoperiodo en ovinos, depende principalmente de la latitud geográfica. Para este estudio las razas que originalmente, habitan a los 40°LN como la R2, se observan diferencias ($p < 0.05$) en los parámetros seminales durante el anestro estacional, (Tiempo de respuesta o al eyaculado) y en la ER, se observaron diferencias en las variables volumen, tiempo de respuesta o al eyaculado, %vivos, normalidad y concentración, además, **Hochereau de Reviers et al. (1985)** mencionaron que el efecto del fotoperiodo en las razas que son muy estacionales, como la R2, la eficiencia espermatogénica, es incrementada también, a nivel intratesticular por la reducción en la tasa de degeneración (probablemente apoptosis celular) de células germinales que siguen a la división mitótica y meiótica en el ciclo espermatogénico.

Por otra parte, en R1, **Evans y Maxwell (1987)** también mencionaron que con la disminución de las horas luz (días cortos), la producción seminal debe incrementarse, sin embargo en las regiones tropicales, se ha observado que esto se manifiestan poco y se menciona que, las variaciones estacionales en el comportamiento reproductivo de las razas

que habitan latitudes tropicales, como por ejemplo, la R1, por lo regular, los cambios en calidad seminal, están más asociados a la disponibilidad de nutrientes, por ello, en este estudio, se observó, que la producción seminal, fue afectada por el fotoperiodo (AE), principalmente en las variables volumen y % de vivos y en la ER en las variables Tiempo al eyaculado o de respuesta y concentración, concluyendo que en ambas razas (R1 y R2). En la ER las características seminales, fueron mejores que en el AE y se apreció un marcado efecto de la nutrición. Para cada periodo experimental, se necesita considerar la duración en tiempo de la DE, así como del periodo de restricción alimenticia y cómo afecta los procesos reproductivos, principalmente la espermatogénesis, para comprender cómo se presenta este evento en cada etapa y por lo tanto tener una mejor comprensión de los cambios que suceden en la calidad seminal.

Del análisis realizado para el estudio II, en los machos Pelibuey, en general, el desarrollo del epitelio seminífero en los individuos testigo, presentó un desarrollo normal, si se compara con otros estudios llevados a cabo en razas de pelo, como el de **Herrera-Alarcón et al. (2007)**, y también en ovinos de lana por **Courot (1962)** ambos, sin embargo, en etapas prepuberales, donde se observó que el desarrollo del epitelio seminífero y particularmente, la presencia de lumen tubular y la aparición de espermátidas elongadas, se presentaron en los individuos de 3 meses aproximadamente, sin embargo, los individuos con restricción alimenticia presentaron un retraso en el desarrollo de aproximadamente 6 meses, ya que la presencia de lumen tubular, así como la aparición de espermátidas elongadas, se presentaron en un solo individuo a los 6 meses y en los demás a los 9 meses de edad, sin embargo, se presentaron diferencias ($p < 0.05$), tanto en el peso corporal, como en el diámetro escrotal, en donde se observa que los individuos restringidos, nunca

alcanzan el peso y diámetro de los individuos testigo. También se observó que el peso corporal y la circunferencia del saco escrotal, presentaban una alta correlación, y esto concuerda con lo encontrado en el análisis y descripción de los epitelios, ya que la ganancia de peso corporal y el aumento en el diámetro de la circunferencia escrotal están ligados también, a los incremento en las dimensiones y a la maduración del epitelio seminífero.

Por lo tanto, los cambios en la nutrición, durante una etapa restringida, como el periodo de lactancia, altera el desarrollo del epitelio seminífero y de la misma forma, la eficiencia con la cual se producen los gametos, de tal forma que, una restricción alimenticia durante esta etapa, determina, en gran medida, su vida reproductiva, pues las gónadas crecen antes y durante la pubertad, y de ello, se deriva que la presencia de túbulos seminíferos en el tejido testicular, indican que se está llevando a cabo, tanto la espermatogénesis, como la esteroidogénesis en el testículo, **Martin et al. (2008)** mencionaron que los cambios en la nutrición, afectan la secreción de gonadotropinas, únicamente por unas semanas, mientras que el crecimiento testicular, es afectado por algunos meses, esto influye principalmente en la tasa de producción espermática, que puede verse afectado por meses o de manera definitiva. Por lo tanto, del estudio histológico realizado, es claro que la nutrición afecta el número y la maduración de los túbulos seminíferos, así como la proporción que estos ocupan en el tejido testicular. Por lo tanto, se sugiere que en futuras investigaciones, se debe de enfatizar, principalmente, en los sistemas intratesticulares que son regulados por la nutrición, ya que esto tiene como finalidad, mejorar la producción y calidad del semen, tomando en cuenta, los procesos neuroendocrinos que conducen a cambios en la secreción de gonadotropinas, además de comprender cómo los factores metabólicos afectan la secreción de andrógenos en el carnero y por lo tanto, en su fisiología tisular.

VI. CONCLUSIONES GENERALES

En el estudio I, el efecto de la dieta experimental, inicio en la tercera semana, generando un incremento gradual y progresivo durante la administración de la DE, y a partir de la séptima y octava semana se obtuvieron los valores más elevados, para los carneros (R1 y R2, respectivamente), en relación con las variables seminales, fueron mejores en la ER para ambas razas. El fotoperiodo, afecta las variables seminales en ambas razas (R1 y R2).

En el estudio II, se observó presencia de estructuras y aumento en las dimensiones de los túbulos en el testículo, a partir de los 3 meses. Existe una alta correlación entre la ganancia de peso corporal y el diámetro del saco escrotal. La restricción alimenticia durante la lactancia, induce un bajo peso corporal, una disminución en la circunferencia del saco escrotal, además de un retraso de aproximadamente seis meses en el desarrollo del epitelio seminífero y por lo tanto de la espermatogénesis.

VII. LITERATURA CITADA

- Aguirre V., Orihuela A. and Vázquez R. 2007. Effect of semen collection frequency on seasonal variation in sexual behaviour, testosterone, testicular size and semen characteristics of tropical hair rams (*Ovis aries*). *Trop Anim Health Pro*, 39: 271-277.
- Albrecht U. 2012. Timing to perfection: the biology of central and peripheral circadian clocks. *Neuron*. 74: 246-260.
- Alexander G. 1984. Constraints to lamb survival. In: *Reproduction in sheep*. Lindsay DR, Pearce DT. Canberra, Australian Academy of Science, Australian Wool Corporation. 199–208 pp.
- Amann RP. 1970. Sperm production rates. In *The testis, vol 1, development, anatomy and physiology*. Eds. Gromes WR., NL Van Demark and AD Johnson. Academic Press, London, UK. 433–481 pp.
- Anel L., Alvarez M. and Martinez-Pastor F. 2006. Improvement strategies in ovine artificial insemination. *Reproduction in Domestic Animals*. 41 (2): 30-42.
- Aoki A. and Fawcett DW. 1978. Is there a local feedback from the seminiferous tubules affecting the activity of the Leydig cells?. *Biology of Reproduction*. 19: 144 -158.
- Arambepola NK., Bunick D., Cooke PS. 1998a. Thyroid hormone effects on androgen receptor messenger RNA expression in rat Sertoli and peritubular cells *Journal of Endocrinology* 156: 43–50.
- Arambepola NK., Bunick D., Cooke PS. 1998b. Thyroid hormone and follicle stimulating hormone regulate Mullerian-inhibiting substance messenger ribonucleic acid expression in cultured neonatal rat Sertoli cells. *Endocrinology* 139: 4489–4495.
- Aurich C., Schlote S., Hoppe H. and Schlote S. 1994. Involvement of endogenous opioids in the regulation of LH and testosterone release in the male horse. *Journal of Reproduction and Fertility*. 102: 327-336.
- Aurich C., Burgmann F. and Hoppe H. 1996. Opioid regulation of LH and prolactin release in the horse identical or independent endocrine pathways? *Animal Reproduction Science*. 44: 127-134.
- Aurich JE., Kühne A., Hoppe H. and Aurich C. 1996b. Seminal plasma affects membrane integrity and motility of equine spermatozoa after cryopreservation. *Theriogenology*. 46:791–797.
- Avellaneda Y., Rodríguez F., Grajales H., Martínez V. y Vasquez R. 2006. Determinación de la pubertad en corderos en el trópico alto colombiano por características corporales, calidad del eyaculado y valoración de testosterona. Universidad Nacional de Colombia. Programa Recursos Genéticos. Corpoica. 15pp.

- Banks EM. 1964. Some aspects of sexual behavior in domestic sheep, *Ovis aries*. *Behaviour*. 23: 249–279.
- Bass J. and Takahashi J.S. 2010. Circadian integration of metabolism and energetics. *Science*. 330: 1349-1354.
- Bearden H.J. and Fuquay J.W. 1997. *Applied Animal Reproduction*, 4^a. Ed., New Jersey. Prentice Hall. USA.
- Bernardi S., Brogliatti, G. y Oyarzabal MI. 2010. Estructura testicular y calidad seminal en ratones seleccionados por peso. *Int. J. Morphol.* 28(3):673-680.
- Berndtson WE., Pickett BW. and Nett TM. 1974. Reproductive physiology of the stallion: IV. Seasonal changes in the testosterone concentration of peripheral plasma. *Journal of Reproduction and Fertility*. 39: 115-121.
- Bielli A., Pérez R., Pedrana G., Milton JTB., Lopez A., Blackberry MA., Duncombe G., Rodriguez-Martinez H. and Martin GB. 2002. Low maternal nutrition during pregnancy reduces the numbers of Sertoli cells in the newborn lamb. *Reproduction, Fertility and Development*. 14: 333–337.
- Bilgin OC., Emsen E. and Davis ME. 2004. Comparison of non-linear models for describing the growth of scrotal circumference in Awassi male lambs. *Small Ruminant Research*. 52 (1-2): 155-160.
- Blache D., Chagas ML., Blackberry AM., Vercoe PE. and Martin GB. 2000. Metabolic factors affecting the reproductive axis in male sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*. 120: 1–11.
- Bronson FH. 1985. Mammalian reproduction: an ecological perspective. *Biology of Reproduction*. 32: 1–26.
- Brown BW. 1994. A review of the nutritional influences on reproduction in boars, bulls and rams. *Reproduction Nutrition Development*. 34: 89–114.
- Cameron AWN., Murphy PM., Oldham CM. 1988. Nutrition of rams and output of spermatozoa. *Proceedings of. Australian Society of Animal Production*. 17, 162–165.
- Clarke IJ. and Cummins JT. 1982. The temporal relationship between gonadotropin releasing hormone (GnRH) and luteinizing hormone (LH) secretion in ovariectomized ewes. *Endocrinology*. 111: 1737-1739.
- Courot M. 1962. Développement du testicule chez l'agneau. Etablissement de la spermatogénese. *Annales de Biologie Animale, Biophysique et Biochimie*. 2:25-42.
- Courot M. 1967. Endocrine control of the supporting and germ cells of the impuberal test. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*. 2:89-101.

- Courot M., de Reviers MM., and Pelletier J. 1975. Variations in pituitary and blood LH during puberty in the male lambs: relation to the time of birth. *Annales de Biologie, Biochimie et Biophysique*. 15:509-516.
- Cox JE., Redhead PH. and Jawad NMA. 1988. The effect of artificial photoperiod at the end of the breeding season on plasma testosterone concentrations in stallions. *Australian Veterinary Journal*. 65: 239-241.
- Crim, LW and Geschwind II. 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: 47-54.
- Chandonnet I., Roberts KD., Chapdelaine A. and Manjunath P. 1990. Identification of heparin-binding proteins in bovine seminal plasma. *Molecular Reproduction and Development*. 26:313-318.
- Chimineau P., Malpoux B., Delgado JD., Guérin Y., Ravault JP., Thimonier J. and Pelletier J. 1992. Control sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. *Animal Reproduction Science*. 30: 157-184.
- Chimineau P., Malpoux B., Brillard JP. and Fostier A. 2007. Seasonality of reproduction and production in farm fishes, birds and mammals. *Animal*. 1:419-432.
- Chilliard Y., Bocquier F. and Doreau M. 1998. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition and consequences on reproduction: a review. *Reproduction Nutrition Development*. 38: 129-150.
- Dacheaux JL., Pisselet C., Blanc MR., Hochereau de Reviers MT. and Courot M., 1981. Seasonal variations in rete testis fluid secretion and sperm production in different breeds of ram. *Journal of Reproduction and Fertility*. 16: 363-371.
- Dacheaux J., Gatti JL. and Dacheaux F. 2003. Contribution of epididymal secretory proteins for spermatozoa maturation. *Microscopy Research and Technique*. 61:7-17.
- Da Silva P., Aitken RP., Rhind SM., Racey PA. and Wallace JM. 2001. Influence of placentally mediated fetal growth restriction on the onset of puberty in male and female lambs. *Reproduction* 122: 375–383.
- Deaver DR. and Dailey RA. 1983. Effects of dopamine and serotonin on concentrations of luteinizing hormone and estradiol-17 β in plasma of cycling ewe. *Biology of Reproduction*. 28: 870-877.
- de Krester DM., Loveland KL., Meinhardt A., Simorangkir D. and Wreford N. 1998. Spermatogenesis. *Human Reproduction*. 13 (1): 1-8.
- de Krester DM. and Kerr JB. 1994. The cytology of the testis. In Knobil. E. and Neill, J.D. (eds), *Physiology & Reproduction*. Raven Press, New York, pp. 1177-1290.

- Desnoyers L. and Manjunath P. 1992. Major proteins of bovine seminal plasma exhibit novel interactions with phospholipid. *Journal of Biological Chemistry*. 267:10149–10155.
- Drymundsson OR. 1973. Puberty and early reproductive performance in sheep II Ram lambs. *Animal Breeding Abstracts*. 419-430.
- Dorrington JH. and Armstrong DT. 1975. Follicle-stimulating hormone stimulates estradiol-17beta synthesis in cultured Sertoli cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 72(7):2677-81.
- Durán-Ramírez F., Hernández-Gómez HA. and Latorre-Neme DF. 2008. Fisiología de la reproducción en carneros. En: *Manual de explotación y reproducción en ovejas y borregos*. Grupo Latino Ltda (Eds). Colombia. 244-288 pp.
- Ebling FJP., Mirakur A., Maywood ES. and Hastings MH. 1994. Photoperiodically induced changes in glutaminergic stimulation of LH secretion in male Syrian hamsters: role of circulating testosterone and endogenous opioids. *General and Comparative Endocrinology*. 96: 50-62.
- El-Hajj Ghaoui R., Gillian L., Thomson PC., Evans G. and, Maxwell WMC. 2007. Effect of seminal plasma fractions from entire and vasectomized rams on the motility characteristics, membrane status, and in vitro fertility of ram spermatozoa. *Journal of Andrology*.28:109-122.
- El Omari B., Lacroix A. and Saboureau M. 1989. Daily and seasonal variations in plasma LH and testosterone concentrations in the adult male hedgehog (*Erinaceus europaeus*). *Journal of Reproduction and Fertility*. 86: 145-155.
- Evans G. and Maxwell WMC. 1987. *Artificial Insemination of Sheep and Goats*. University Press, Sydney, NSW, Australia. 194pp.
- Fernández M., Giráldez FJ., Frutos P., Lavin P. and Mantecón AR. 2004. Effect of undegradable protein supply on testicular size, spermogram parameters and sexual behavior of mature Assaf rams. *Theriogenology*. 62(1-2): 299-310.
- Forbes JM., 1982. Effects of lighting pattern on growth, lactation and food intake of sheep, cattle and deer. *Livest. Prod. Sci*. 9, 361–374.
- Fourie PJ., Schwalbach LM., Naser FWC. and Van der Westhuizen C. 2004. Scrotal, testicular and semen characteristics of young Dorper rams managed under intensive and extensive conditions. *Small Ruminant Research*. 54: 53–59.
- Fowler PA. 1988. Seasonal endocrine cycles in the European hedgehog. *Erinaceus europaeus*. *Journal of Reproduction and Fertility*. 84: 259-272.

- Franca LR., Rusell LD. 1998. The testis of domestic animals. In: Martínez F, Regadera J (Eds). Male reproduction: a multidisciplinary overview. Madrid, Spain: Churchill Livingstone. Pp. 197-219.
- Gallegos-Sánchez J., Delaleu B., Caraty A., Malpoux B. and Thiéry JC. 1997 Estradiol acts locally within the retrochiasmatic area to inhibit pulsatile luteinizing-hormone release in the female sheep during anestrus. *Biology of Reproduction*. 56: 1544-1549.
- Garcia E. 1988. Modificaciones al Sistema de clasificación climática de Koopen, Tercera Edición. Editorial FOCET.
- Goldman D.B. 1999. The circadian timing system and reproduction in mammals. *Steroids*. 64: 679–685.
- Gonzales G. Risbrigder G., and de Krester D. 1988. *In vitro* synthesis and release of inhibin in response to FSH stimulation by isolated segments of seminiferous tubules from normal adult male rats. *Molecular and Celular Endocrinology*. 59: 179-185.
- Ghorbankhani F., Sourì M., Moeini MM., Mirmahmoudi R. 2015. Effect of nutritional state on semen characteristics, testicular size and serum testosterone concentration in Sanjabi ram lambs during the natural breeding season. *Animal Reproduction Science* 153:22–28.
- Grosse J., Maywood ES., Ebling FJP. and Hastings MH. 1993. Testicular regression in pinealectomized Syrian hamsters following infusions of melatonin delivered on non-circadian schedules. *Biology of Reproduction*. 49: 666-674.
- Grubaugb W., Sharp DC., Berglund LA., McDowell KJ., Kilmer DM., Peck LS. and Seamans KW. 1982. Effects of pinealectomy in pony mares. *Journal of reproduction and fertility*. Supplement . 32: 292-295.
- Gunn RG., Sim D. and Hunter EA. 1995. Effects of nutrition in utero and in early life on the subsequent lifetime reproductive performance of Scottish Blackface ewes in two management systems. *Animal Science*. 60. 223–230
- Hall DG., Egan A.R., Foot ZJ. and Parr RA. 1990. Effect of litter size on colostrum production in crossbred ewes. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*. 18: 240–243.
- Hall RE., Birrell SN., Tilley WD. and Sutherland RL. 1994. MDA-MB-453, an androgen-responsive human breast carcinoma cell line with high level androgen receptor expression. *European Journal of Cancer*. 30A: (4):484-90.
- Henricks DM., Kouba AJ., Lackey BR., Boone WR. and Gray SL. 1998. Identification of insulin-like growth factor I in bovine seminal plasma and its receptor on spermatozoa: influence on sperm motility. *Biology of Reproduction*. 59:330-337.

- Herrera-Alarcón J., Villagómez-Amezcuca E., González-Padilla E., Jiménez-Severiano H. 2007. Stereological Study of postnatal testicular development in Blackbelly sheep. *Theriogenology*. 68: 582-591.
- Hochereau de Reviere MT., Monet-Kuntz C., Courot M. 1987. Spermatogenesis and Sertoli cells numbers and function in rams and bulls. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*. 34: 101-114.
- Holdcraft WR. and Braun ER. 2004. Hormonal regulation of spermatogenesis. *International journal of andrology*. 27:335-342.
- Hötzel MJ., Walkden-Brown, SW., Blackberry, MA., Martin, GB. 1995. The effect of nutrition on testicular growth in mature Merino rams involves mechanisms that are independent of changes in GnRH pulse frequency. *Journal of Endocrinology*. 147: 75-85.
- Hötzel MJ., Markey CM., Walkden-Brown SW., Blackberry MA. and Martin GB. 1998. Morphometric and endocrine analyses of the effects of nutrition on the testis of mature Merino rams. *Journal and Fertility*. 113: 217-230.
- Huhtaniemi LT., Bergh A., Nikula H. and Damber JE. 1984. Differences in the regulation of steroidogenesis and tropic hormone receptors between the scrotal and abdominal testes of unilaterally cryptorchid adult rats. *Endocrinology*. 115: 550-555.
- Hulet CV. and Shelton M. 1980. Sheep and goat. In: Hafez ESE editors. *Reproduction in farm animals*. 4th edition. Lea and Febiger. Philadelphia.USA.
- Hyttel P. 2010. Gametogenesis In: *Essentials of Domestic Animal Embriology*. Eds. Edwards R, J Rodenhuis. Saunders Elsevier. 47-55 pp.
- Ibrahim SA., 1997. Seasonal variations in semen quality of local and crossbred rams raised in the United Arab Emirates. *Animal.Reproduction Science*. 49, 161-167.
- Jannini EA., Ulisse S., D'Armiento M. 1995. Thyroid hormone and male gonadal function *Endocrine Reviews*. 16: 443-459.
- Jannini EA., Crescenzi A., Rucci N., Screponi E., Carosa E., de Matteis A., Macchia E., d'Amati G., D'Armiento M. 2000. Ontogenetic pattern of thyroid hormone receptor expression in the human testis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 85: 3453-3457.
- Johnston DS., Russell LD., Friel PJ. and Griswold MD. 2001. Murine germ cells do not require functional androgen receptors to complete spermatogenesis following spermatogonial stem cell transplantation. *Endocrinology*. 142:2405-8.
- Josso N., di Clemente N., Gouedard L. 2001. Anti-Mullerian hormone and its receptors. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 179: 25-32.

- Kafi M., Safdarian M., Hashemi M. 2004. Seasonal variation in semen characteristics: scrotal circumference and libido of Persian Karakul rams: technical note. *Small Ruminant Research*. 53, 133–139.
- Kao C., Schaeffer DJ. and Jackson GL. 1992. Different neuroendocrine systems modulate pulsatile luteinizing hormone secretion in photosuppressed and photorefractory ewes. *Biology of Reproduction*. 46: 425-434.
- Karagiannidis A., Varsakelid S., Alexopoulos C., Amarantidis I. 2000. Seasonal variation in semen characteristics of Chios and Friesian rams in Greece. *Small Ruminant Research* 37:125-130.
- Karsch FJ., Dahl GE., Evans NP., Manning JM., Mayfield KP., Moenter SM. and Foster DL. 1993. Seasonal changes in gonadotrophin-releasing hormone secretion in the ewe: alterations in response to the negative feedback action of estradiol. *Biology of Reproduction*. 49: 1377-1383.
- Kerr JB. and Sharpe RM. 1985. Stimulatory effect of follicle-stimulating hormone on rat Leydig cells. A morphometric and ultrastructural study. *Cell and Tissue Research*. 239 (2): 405-15.
- Kerr JB. and Donachie K. 1986. Regeneration of Leydig cells in unilaterally cryptorchid rats: evidence for stimulation by local testicular factors. *Cell and Tissue Research*. 245: 649-655.
- Killian GJ., Chapman DA. and Rogowski LA. 1993. Fertility-associated proteins in Holstein bull seminal plasma. *Biology of Reproduction*. 49:1202–1207.
- Kiyama Z., Alexander BM., Van Kirk EA., Murdoch WJ., Hallford DM. and Moss GE. 2004. Effects of feed restriction on reproductive and metabolic hormones in ewes. *Journal of Animal Science*. 82: 2548–2557.
- Knobil E., Plant TM., Wildt L., Belchetz PE. and Marshall G. 1980. Control of the rhesus monkey menstrual cycle: permissive role of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone. *Science*. 21; 207 (4437):1371-3.
- Knight TW. 1977. Methods for the indirect estimation of testes weight and sperm numbers in Merino and Romney rams. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 20: 291–296.
- Knight TW., Gherardi S. and Lindsay DR. 1987. Effects of sexual stimulation on testicular size in the ram. *Animal Reproduction Science*. 13, 105–115.
- Lagercrantz H. and Slotkin TA. 1986. The “stress” of being born. *Scientific American*. 254: 100–107.
- Lerchl A., Sotiriadou S., Behre HM., Pierce J., Weinbauer GF., Kliesch S. and Nieschlag E. 1993. Restoration of spermatogenesis by follicle-stimulating hormone despite low intratesticular testosterone in photoinhibited hypogonadotropic Djungarian hamsters (*Phodopus sungorus*). *Biology of Reproduction*. 49: 1108-1116.

- Lesson ST., Leeson CR. and Paparo AA.1990. Capítulo 16: Aparato reproductor masculino. En: Texto Atlas de Histología. Interamericana-McGraw-Hill. México, D.F. 635-667 pp.
- Levieux D. 1982. Transmission de l'immunité passive colostrale: le point des connaissances. In: Physiologie et Pathologie Périnatales chez les Animaux de Ferme. Ed. Jarrige R. INRA. Paris. 345-369 pp.
- Lincoln GA. and Short RV. 1980. Seasonal breeding: nature's contraceptive. Recent Progress in Hormone Research. 36: 1-52.
- Lincoln GA. 1984. Central effects of photoperiod on reproduction in the ram revealed by the use of a testosterone clamp. Journal of Endocrinology. 103: 233-241.
- Lincoln GA. and Ssewanyana E. 1989. Opioid peptides and seasonal reproduction In: Brain Opioid Systems in Reproduction. Eds. Dyer RG and Bicknell RJ. Oxford Univ. Press, Oxford. 53-69 pp.
- Lincoln GA., Lincoln CE. and Mc Neilly AS. 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: 623-633.
- Lincoln GA. and Davidson W. 1977. The relationship between sexual and aggressive behavior, and pituitary and testicular activity during the seasonal sexual cycle rams, and the influence of photoperiod. Journal of Reproduction and Fertility, 49: 267-276.
- Lincoln GA. and Maeda KI. 1992. Effects of placing micro-implants of melatonin in the mediobasal hypothalamus and preoptic área in rams. Journal of Endocrinology. 132: 201-215.
- Lincoln GA. 1994. Effects of placing micro-implants of melatonin in the pars tuberalis, pars distalis and the lateral septum of the forebrain on the secretion of FSH and prolactin, and testicular size in rams. Journal of Endocrinology. 142: 267-276.
- Lindsay DR. 1991. Reproduction in the sheep and goat. In Reproduction in domestic animals. Ed. Cupps PT. 4th edition. Academic Press, San Diego. USA. 491-515 pp.
- Lozana JM., Lonergran P., Boland MP. and O'Callaghan D. 2003. Influence of nutrition on the effectiveness of superovulation programmes in ewes: effect on oocyte quality and postfertilization development. Reproduction. 125: 543-553.
- Luna Palomera C., Velázquez Martínez JR., De la Cruz Hernández JC., Blé Castillo JL., Peralta Torres JA., Berumen Alatorre AC. y Aguilar Cabrales JA. 2011. Calidad seminal y metabolitos lipídicos en carneros de pelo suplementados con aceite de palma (*Elaeis guineensis*). XXIII Reunión Científica-Tecnológica Forestal y Agropecuaria Tabasco 2011. 24 y 25 de Noviembre. Villahermosa, Tabasco. México. pp. 118-122.

- Lyon MF., Glenister PH. and Lamoreux ML. 1975. Normal spermatozoa from androgen-spermatogenesis. *Nature*. 258:620-2.
- Mackay S. 2000. Gonadal development in mammals at the cellular and molecular levels. *International Review of Cytology*. 200: 47–99.
- Mali P., Welsh MJ., Toppari J., Vihko KK. and Parvinen M. 1985. Cell interactions in the rat seminiferous epithelium with special reference to the cellular distribution of calmodulin. *Medicine and Biology*. 63:237-244.
- Mali P., Virtanen L. and Parvinen M. 1987. Expression of vimentin in rat Sertoli and spermatogenic cells. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 513:310-311.
- Malpoux B., Vigué C., Skinner DC., Thiéry JC. and Chemineau P. 1997. Control of the circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. *Brain Research Bulletin*.44: 431-438.
- Mann T., Lutwac-Mann C., 1981. Male reproductive function and semen. Springer, Berlin, New York, pp. 269-326.
- Márquez-Orozco M.C. 1997. Aparato reproductor masculino: Espermatogenesis. En: *Biología del desarrollo*. Ed. Márquez Orozco A. Edit. UNAM. P. 55.
- Marshall FH. 2008. The role of GABA (B) receptors in the regulation of excitatory neurotransmission. *Results and Problems in Cell Differentiation*.44:87-98.
- Martin GB., Sutherland SRD. and Lindsay DR. 1987. Effects of nutritional supplements on testicular size and the secretion of LH and testosterone in Merino and Booroola rams. *Animal Reproduction Science*. 12: 267–281.
- Martin GB., Tjondronegoro S. and Blackberry MA. 1994. Effects of nutrition on testicular size and the concentrations of gonadotrophins, testosterone and inhibin in plasma of mature male sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*. 101: 121-128.
- Martin GB., Tjondronegoro S., Boukhlid R., Blackberry MA., Briegel JR., Blache D., Fisher JA. and Adams NR. 1999. Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Suffolk sheep: modification of endogenous rhythms by photoperiod. *Reproduction, Fertility and Development*. 11: 355–366.
- Martin GB., Hötzel MJ., Blache D., Walkden-Brown SW., Blackberry MA., Boukhlid R., Fisher JA and Miller DW. 2002. Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Suffolk sheep: modification of response to photoperiod by annual cycle of food supply. *Reproduction, Fertility and Development*. 14: 165–175.
- Martin GB., Blache D., Miller DW. and Vercoe PE. 2010. Interactions between nutrition and reproduction in the management of the mature male ruminant. *Animal*. 4:7, 214–226.

- Martínez Meléndez, I., Mena Hernández, I., Avalos Duran, J. 2001. Granos y energéticos para los rumiantes. Editorial Corrua. Zaragoza, España. V. 6. p. 44-56.
- Martinez JM., Dominguez B., Barrientos M., Canseco R., Ortega E. and Lamothe C. 2012. Biometry and testicular growth influenced by nutrition on prepubertal pelibuey lambs. *Journal of Animal and Feed Research*. 2(3): 314-321.
- Matos, CAP., Thomas, DL., Nash, TG., Waldron, DF., Stookey JM. 1992. Genetic analyses of scrotal circumference size and growth in Rambouillet lambs. *Journal of Animal Science*. 70:43-50.
- Means AR. and Vaitukaitis J. 1972. Peptide hormone "receptors": specific binding of 3 H-FSH to testis. *Endocrinology*. 90 (1):39-46.
- Meites J., Huang HH. and Steger RW. 1981. Differences in negative and positive feedback of gonadal steroids on release of gonadotropins and prolactin in young and old rats. *Experimental Brain Research Supplement*. 3:151-7.
- Meyer SL. and Goodman RL. 1985. Neurotransmitters involved in mediating the steroid-dependent suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion in anestrus ewes: effects of receptor antagonists. *Endocrinology*. 116: 2054-2061.
- Minnerman, KP. and Wurtmann RJ. 1975. Effects of pineal compounds on mammals. *Life Science*. 17: 1189-1200.
- Mori A. 1959. Studies on the reproductive failure of ram caused by underfeeding. I. On the effects of underfeeding upon the mating potency of ram, and the effects of normal feeding upon its recovery from impotence. *Tohoku Journal of Agricultural Research*. 10: 263-281.
- Mukasa-Mugerwa E. and Ezaz Z. 1992. Relationship of testicular growth and size to age, body weight and onset of puberty in Menz ram lambs. *Theriogenology*. 38 (5): 979-88.
- Murray PJ., Rowe JB., Pethick DW and Adams NR. 1990. The effect of nutrition on testicular growth in the Merino ram. *Australian Journal of Agricultural Research*. 41(1): 185-195.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- Nowak R., Porter RH., Levy F., Orgeur P. and Schaal B. 2000. Role of mother-young interactions in the survival of offspring in domestic mammals. *Reviews of Reproduction*. 5: 153-163.
- Nowak R. and Poindron P. 2006. From birth to colostrum: early steps leading to lamb survival. *Reproduction Nutrition Development*. 46: 431-446.

- Oldham CM., Adams NR., Gherardi PB., Lindsay DR and Mackintosh JB. 1978. The influence of level of feed intake on sperm producing capacity of testicular tissue in the ram. *Australian Journal of Agricultural Research*. 29: 173–179.
- Olivera M., Ruiz T., Tarazona A. and Giraldo C. 2006. El espermatozoide, desde la eyaculación hasta la fertilización. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Vol. 19:4.
- Ortavant R., Bocquier F., Pelletier J., Thimonier J. and Volland-Nail P. 1988. Seasonality of reproduction in sheep and its control by photoperiod. *Australian Journal of Biological Sciences*. 41: 69-85.
- O'Shaughnessy P.J. 2014. Hormonal control of germ cell development and spermatogenesis. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 29: 55-65.
- Parvinen M. 1982. Regulation of the seminiferous tubules. *Endocrine Reviews*. 3: 404-417.
- Parvinen M., Vihko KK. and Toppari J. 1986. Cell interactions during the seminiferous epithelial cycle. *International Review of Cytology*. 104: 115-147.
- Pérez-Pé R., Cebrián-Pérez J.A. and Muio-Blanco T. 2001. Semen plasma proteins prevent cold – shock membrane damage to ram spermatozoa. *Theriogenology*. 56:425-434.
- Perón N. 2004. El macho en el comportamiento reproductivo del rebaño ovino. *Rvta. ACPA* 1.
- Podesta EJ., Dufau ML., Solano AR. and Catt KJ. 1978. Hormonal activation of protein kinase in isolated Leydig cells. Electrophoretic analysis of cyclic AMP receptors. *Journal of Biological Chemistry*. 253: 8994-9001.
- Parker GV and Thwaites CJ. 1972. The effects of undernutrition on libido and semen quality in adult Merino rams. *Australian Journal of Agricultural Research*. 23: 109–115.
- Rey RA., Musse M., Venara M. and Chemes HE. 2009. Ontogeny of the androgen receptor expression in the fetal and postnatal testis: its relevance on Sertoli cell maturation and the onset of adult spermatogenesis. *Microscopy Research Technique*. 72: 787-95.
- Rhind SM., Elston DA., Jones JR., Rees JR., McMillen SR. and Gunn RG. 1998. Effects of restriction of growth and development of Brecon Cheviot ewe lambs on subsequent lifetime reproductive performance. *Small Ruminant Research*. 30, 121–126.
- Rhind SM. 2004. Effects of maternal nutrition on fetal and neonatal reproductive development and function. *Animal Reproduction Science*. 82-83: 169-181.
- Ritar AJ., Adams NR. and Sanders MR. 1984. Effect of lupin feeding on LH, testosterone and testes. In: *Reproduction in sheep*. Eds. Lindsay DR and DT Pearce. Cambridge University Press, UK. 76–78 pp.

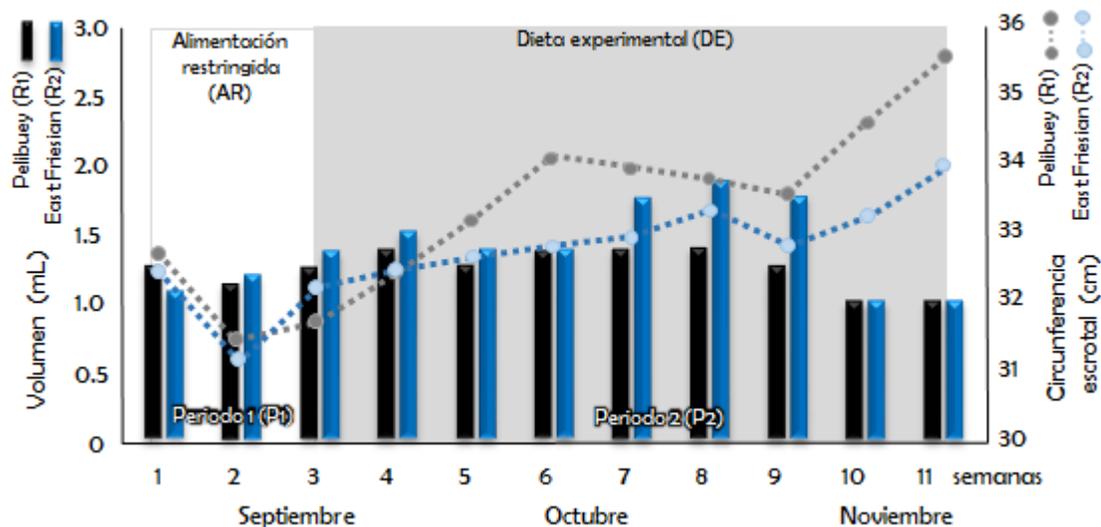
- Ritzen EM., Hansson V. and French FS. 1981. The Sertoli cell. In: The Testis. Eds. Burger H and D.M. de Krester. Raven Press, New York. 171-194 pp.
- Robinson JE. and Karsch FJ. 1984. Refractoriness to inductive day lengths terminates the breeding season of the Suffolk ewe. *Biology of Reproduction*. 31:656–663.
- Rosa HJD., Silva CC. and Bryant MJ. 2003. Seasonality of reproduction in sheep. *Small Ruminant Research*. 48: 155-171.
- Russell LD. 1980. Sertoli-germ interrelations: a review. *Gamete Research*. 3: 179-202.
- Saab SA., Sleima FT., Nassar KH., Chemaly I. and El-Skaff R. 1997. Implications of high and low protein levels on puberty and sexual maturity of growing male goat kids. *Small Ruminant Research*. 25:17-22.
- Salamon S. 1964. The effect of nutritional regimen on the potential semen production of rams. *Australian Journal of Agricultural Research*. 15: 645–656.
- Sánchez-Luengo S., Aumüller G., Albrecht M., Sen PC., Röhm K. and Wilhelm B. 2004. Interaction of PDC-109, the major secretory protein from bull seminal vesicles, with bovine sperm membrane Ca²⁺ATPase. *Journal of Andrology*. 25:234-244.
- Scaramuzzi JR., Campbell KB., Downing AJ., Kendal RN., Khalid M., Muñoz-Gutiérrez M. and Somchit A. 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Nutrition Development*. 46: 339–354 339.
- Schanbacher BD. and Lunstra DD. 1976. Acute and chronic effects of gonadotropin releasing hormone on reproductive characteristics of rams during the nonbreeding season. *Journal of Animal Science*. 44: 650-655.
- Schneider JE. 2004. Energy balance and reproduction. *Physiology & Behavior*. 81(2): 289-317.
- Setchell B., Waites GMH. and Lindner HR. 1965. Effect of undernutrition on testicular blood flow and metabolism and the output of testosterone in the ram. *Journal of Reproduction and Fertility*. 9: 149–162.
- Setchell BP. 1978. Naturally occurring and induced dysfunctions of the testis,. In *The mammalian testis*. Eds. Setchell B. and P Eleck. Cornell University Press. Ithaca, New York. 359-342 pp.
- Setchell BP. 1990. Local control of testicular fluids. *Reproduction, Fertility and Development*. 2: 291–309.
- Sharpe RM. 1986. Paracrine control of the testis. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 15: 185-207.

- Sharpe RM. 1994. Regulation of spermatogenesis. In *The Physiology of Reproduction* 2nd Edn. pp 1363–1434 Eds E Knobil and JD Neill. Raven Press, New York.
- Sharpe RM. 1999. Fetal/neonatal hormones and reproductive function of the male in adulthood. In *Fetal Programming: Influences on Development and Disease in Later Life* pp 187–194 Eds PMS O’Brien, T Wheeler and DJP Barker. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists Press, London.
- Sharpe RM., Mc Kinnell C., Kivlin C., Fisher JS. 2003. Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction* 126(6): 769-84.
- Skinner MK. and Griswold MD. 1980. Sertoli cells synthesize and secrete transferrin-like protein. *Journal of Biology Chemistry*. 255 (20): 9523-9525.
- Skinner MK. and Fritz IB. 1986. Identification of a non-mitogenic paracrine factor involved in mesenchymal-epithelial cell interactions between testicular peritubular cells and Sertoli cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 44: 85-97.
- Silverman AJ. and Witkin JW. 1994. Biosynthesis of gonadotropin-releasing hormone during the rat estrous cycle: a cellular analysis. *Neuroendocrinology*. 59 (6): 545-51.
- Smith LB., Walker WH. and O’Donnell L. 2014. Hormonal Regulation of Spermatogenesis through Sertoli cells by Androgens and Estrogens. In: *Sertoli Cell Biology*,. Ed. Griswold M. Elsevier Press. 488 pp.
- Söderquist L. and Hultén F. 2006. Normal Values for the Scrotal Circumference in Rams of Gotlandic Breed. *Reproduction in Domestic Animals*. 41(1): 61-62.
- Sutama IK. and Edey TN. 1985. Reproductive development during winter and spring of Merino ram lambs grown at three different rates. *Australian Journal of Agricultural Research*. 36: 461–467.
- Sylvester S.R. and Griswold MD. 1993. Molecular biology of iron transport in the testis. In: *Molecular Biology of the Male Reproductive System*. Ed. De Krester D. Academic Press. San Diego, 311-23 pp.
- Tähkä KM. and Rajaniemi H. 1985. Photoperiodic modulation of testicular LH receptors in the bank vole (*Clethrionomys glareolus*, S.). *Journal of Reproduction and Fertility*. 75: 513-519.
- Tähkä KM. 1989. Local control mechanisms in the testis. *The International Journal of Developmental Biology*. 33: 141-148.
- Thérién I., Bousquet D. and Manjunath P. 2001. Effect of seminal phospholipid-binding proteins and follicular fluid on bovine sperm capacitation. *Biology of Reproduction*. 65:41-51.

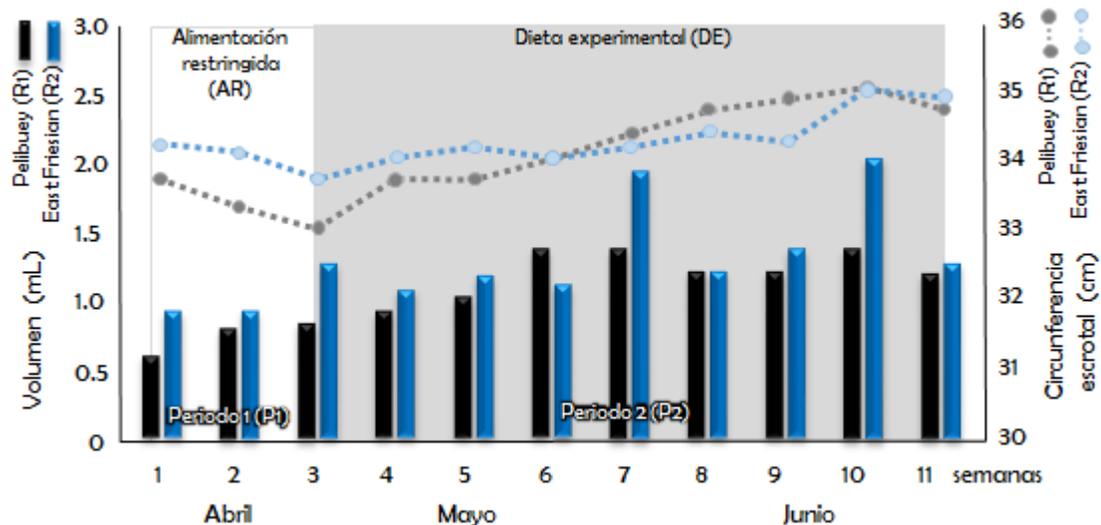
- Thompson DL., Johnson L., St. George RL. and Garza F. 1986. Concentrations of prolactin, luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in pituitary and serum of horses: effect of sex, season and reproductive state. *Journal of Animal Science*. 63: 854-860.
- Thwaites CJ. 1995. The comparative effects of undernutrition, exercise and frequency of ejaculation on the size and tone of the testes and on semen quality in the ram. *Animal Reproduction Science*. 37: 299-309.
- Toe F., Rege JEO., 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*. 36:227-240.
- Tortonese DJ. and Lincoln GA. 1994. Photoperiodic modulation of the dopaminergic control of pulsatile LH secretion in sheep. *Journal of Endocrinology*. 143: 25-32.
- Tortonese DJ. and Lincoln GA. 1995. Effects of melatonin in the mediobasal hypothalamus on the secretion of gonadotrophins in sheep: role of dopaminergic pathways. *Journal of Endocrinology*. 146: 543-552.
- Tsai MY., Yeh SD., Wang RS., Yeh S., Zhang C. and Lin HY. 2006. Differential effects of spermatogenesis and fertility in mice lacking androgen receptor in individual testis cells. *Proceedings of the National Academy Science of USA*. 103:18975-80.
- Tsubota T., Howell-Skalla I., Nitta H., Osawa Y., Mason JI., Meiers PG. and Nelson RA. 1997. Seasonal changes in spermatogenesis and testicular steroidogenesis in the male black bear *Ursus americanus*. *Journal of Reproduction and Fertility*. 109: 21-27.
- Tulley D., Burfening P.J. 1983. Libido and scrotal circumference of rams as affected by season of the year and altered photoperiod. *Theriogenology* 20: 435-448.
- Vanecek J. 1998. Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiological Reviews*. 78 (3): 687-721.
- Veldhuis JD., Sotos JF. and Sherman BM. 1991. Decreased metabolic clearance of endogenous growth hormone and specific alterations in the pulsatile mode of growth hormone secretion occur in prepubertal girls with Turner's syndrome. Genentech Collaborative Group. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 73 (5): 1073-80.
- Verhoeven G., Hoeben E. and De Gendt K. 2000. Peritubular cell-Sertoli interactions: factors involved in PmodS activity. *Andrología* 32, 41-45.
- Victoria SJ., Zapata KI., Navarrete L., Erosa DS., Ávilez AV., Pérez LP y Aguilar LA. 2009. Producción espermática en ovinos entre los seis y doce meses de edad. III Congreso Internacional de las Ciencias Agropecuarias. La Habana. Cuba.

- Wade GN. and Jones JE. 2005 Neuroendocrinology of nutritional infertility. *American Journal of Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 287: R1277–R1296.
- Waites GMH. and Gladwell RT. 1982. Physiological significance of fluid secretion in the testis and blood-testis barrier. *Physiological Reviews*. 62: 624-671.
- Wang RS., Yeh S., Tzeng CR. and Chang C. 2009. Androgen receptor roles in spermatogenesis and fertility: lessons from testicular cell-specific androgen receptor knockout mice. *Endocrine Reviews*. 30:119-32.
- Wilson CM., Griffin JE., Wilson JD., Marcelli M., Zoppi S. and McPhaul MJ. 1992. Immunoreactive androgen receptor expression in subjects with androgen resistance. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 75(6):1474-8.
- Wray S., Grant P. and Gainer H. 1989. Evidence that cells expressing luteinizing hormone-releasing hormone mRNA in the mouse are derived from progenitor cells in the olfactory placode. *Proceedings of the National Academy Science of USA*. 86 (20): 8132-6.
- Woodfill CJI., Wayne NL., Moenter SM. and Karsch FJ. 1994. Photoperiodic synchronization of a circannual reproductive rhythm in sheep: identification of season-specific time cues. *Biology of Reproduction*. 50: 965-976.
- Xiong JJ., Karsch FJ. and Lehman MN. 1997. Evidence for seasonal plasticity in the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) system of the ewe: changes in synaptic inputs onto GnRH neurons. *Endocrinology*. 138:1240-50.
- Yanagimachi R. 1994. Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity. *Zygote*. 2:371-382.

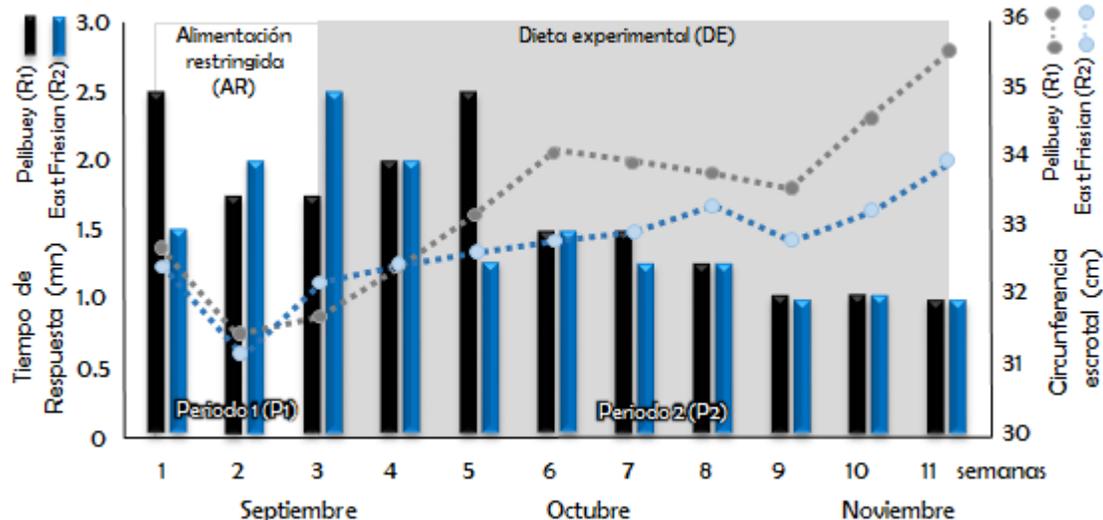
VIII. ANEXOS ESTUDIO I: LA NUTRICIÓN Y SU EFECTO EN LA CALIDAD SEMINAL EN CARNEROS PELIBUEY Y EAST FRIESIAN



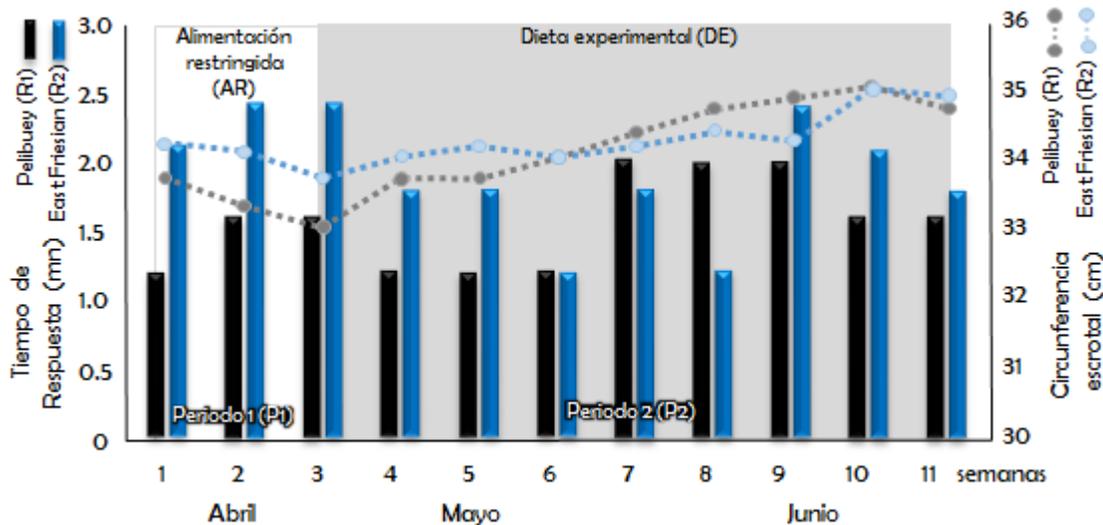
Gráfica 14. Época reproductiva (ER), se representan los cambios en el volumen (mL; barras solidas negra y azul para Pelibuey (R1) y East Friesian (R2); respectivamente) se observa, que en la semana 8 es donde la R1, alcanzó el mayor valor obtenido durante la fase experimental y en relación a la circunferencia escrotal (cm; línea punteada gris y azul claro para R1 y R2; respectivamente), se observó, que en la semana 11, fue cuando se presentó el mayor diámetro testicular.



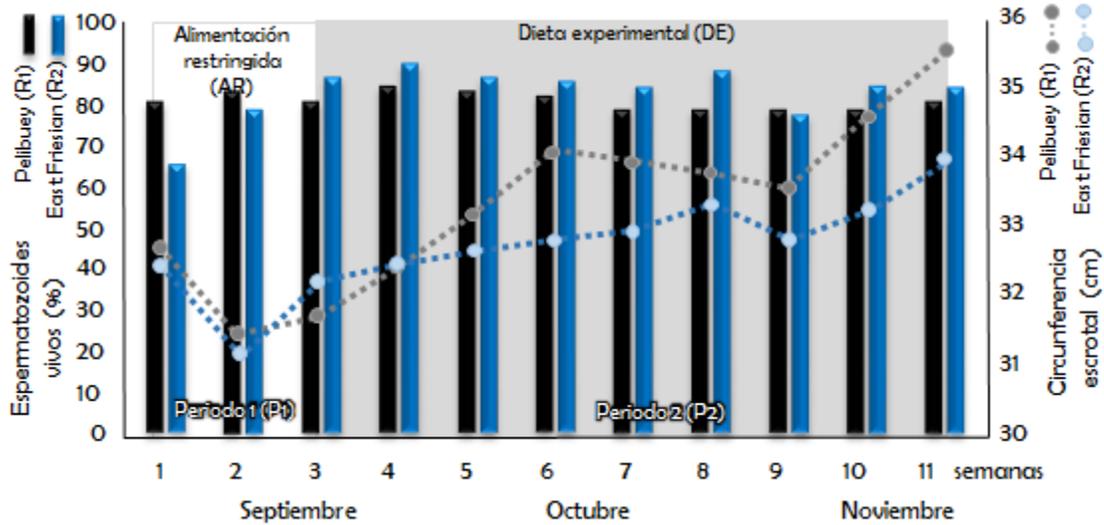
Gráfica 15. Época de anestro estacional (ER), se representan los cambios en la variable volumen (mL; barras sólidas negra y azul para R1 y R2; respectivamente), se observa, que en la semana 7 es donde los sementales alcanzaron el mayor valor obtenido durante la fase experimental y en relación a la circunferencia escrotal (cm; línea punteada gris y azul claro para R1 y R2; respectivamente), se observó, que en la semana 10, fue cuando se presentó el mayor diámetro testicular.



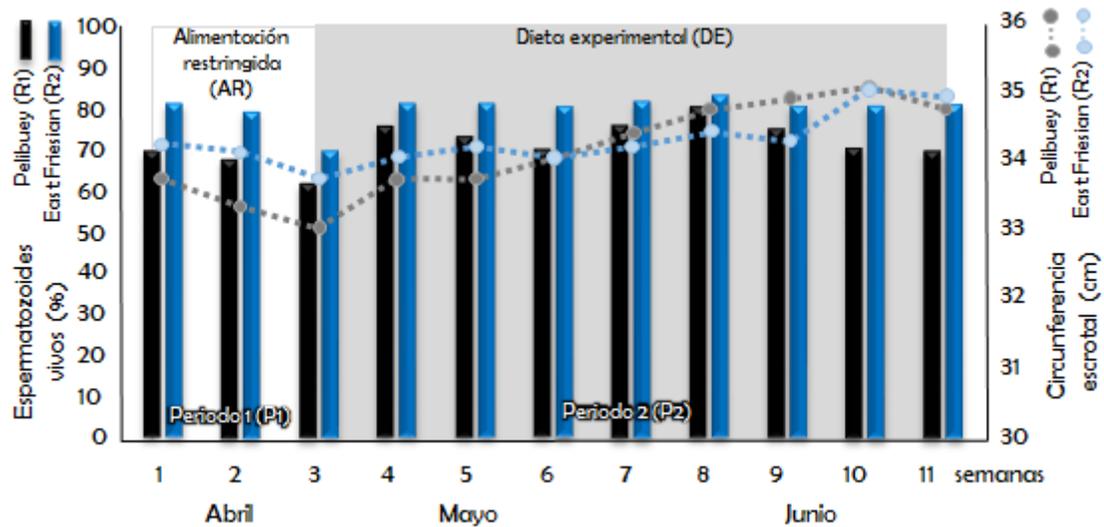
Gráfica 16. Época reproductiva (ER), se representan los cambios en el Tiempo de Respuesta (min; barras sólidas negra y azul para Pelibuey (R1) y East Friesian (R2); respectivamente) se observa, que en la semana 1 y 5 es donde los sementales alcanzaron el mayor valor obtenido durante la fase experimental en la R1 y en la semana 3, la R2 alcanzó su valor máximo.



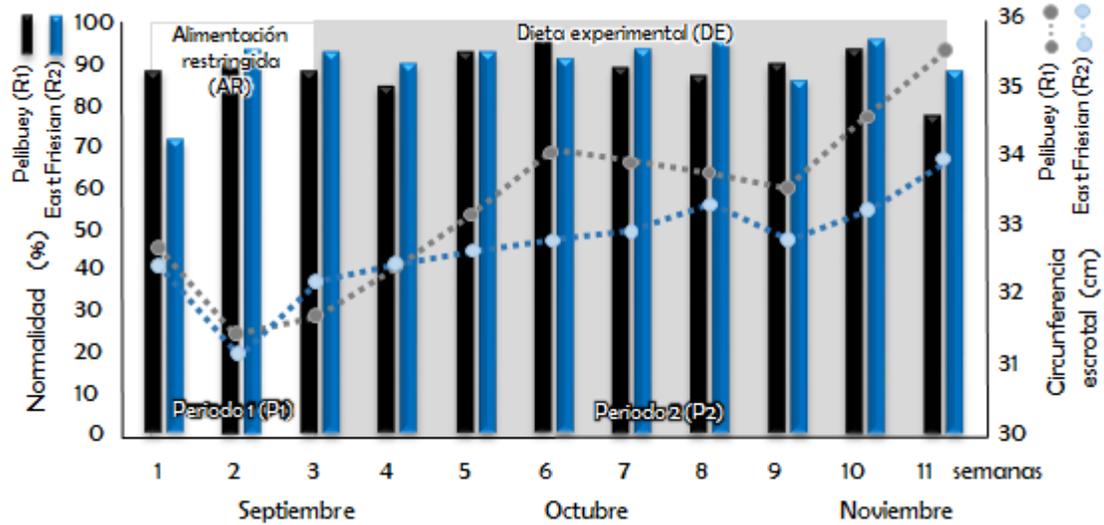
Gráfica 17. Época de anestro estacional (ER), se representan los cambios en la variable Tiempo de Respuesta (min; barras sólidas negra y azul para R1 y R2; respectivamente), se observa, que en la semana 9 es donde los sementales alcanzaron el mayor valor obtenido durante la fase experimental y en relación a la circunferencia escrotal (cm; línea punteada gris y azul claro para R1 y R2; respectivamente), se observó, que en la semana 10, fue cuando se presentó el mayor diámetro testicular.



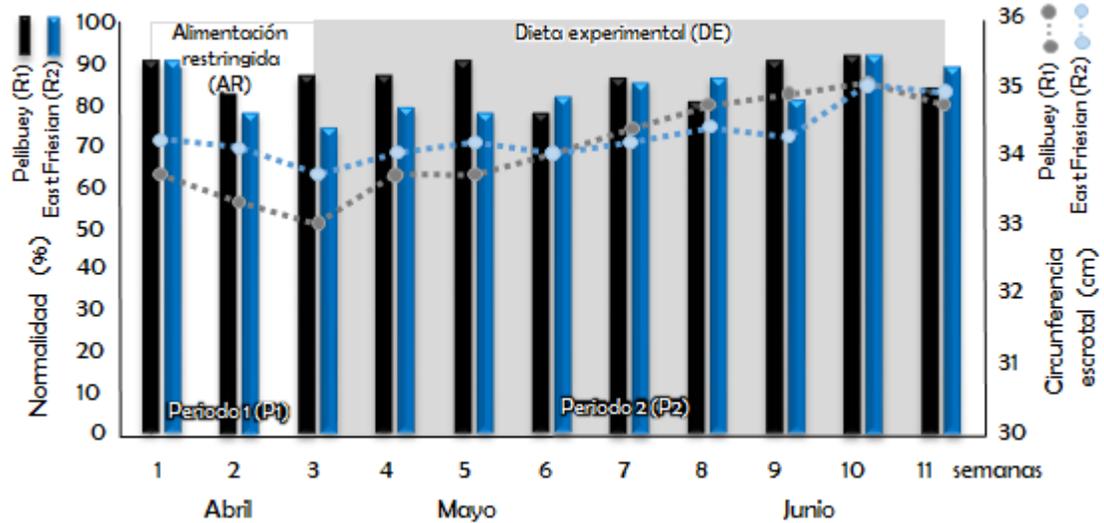
Gráfica 18. Época reproductiva (ER), se representan los cambios en el porcentaje de espermatozoides vivos (%; barras sólidas negra y azul para Pelibuey (R1) y East Friesian (R2); respectivamente) se observa, que en la semana 4 es donde los sementales de la R1 y R2 alcanzaron el mayor valor obtenido durante la fase experimental.



Gráfica 19. Época de anestro estacional (ER), se representan los cambios en la variable porcentaje de espermatozoides vivos (%; barras sólidas negra y azul para R1 y R2; respectivamente), se observa, que en la semana 8 es donde los sementales alcanzaron el mayor valor obtenido durante la fase experimental.



Gráfica 20. Época reproductiva (ER), se representan los cambios en la variable Normalidad (%; barras sólidas negra y azul para Pelibuey (R1) y East Friesian (R2); respectivamente) se observa, que en la semana 4 es donde los sementales de la R1 y en la semana 6 para la R2, alcanzaron el mayor valor obtenido durante la fase experimental.



Gráfica 21. Época de anestro estacional (ER), se representan los cambios en la variable Normalidad (%; barras sólidas negra y azul para R1 y R2; respectivamente), se observa, que en la semana 10, es donde los sementales alcanzaron el mayor valor obtenido durante la fase experimental por la R1 y en la semana 5 para la R2.

ANEXOS ESTUDIO II: EFECTO DE LA SUBNUTRICIÓN POSTNATAL EN EL DESARROLLO DEL EPITELIO SEMINÍFERO DE MACHOS PELIBUEY

APLICACIONES UTILIZADAS PARA LA EVALUACIÓN CELULAR EN EL PROGRAMA Analysis 5 Opti Basic®

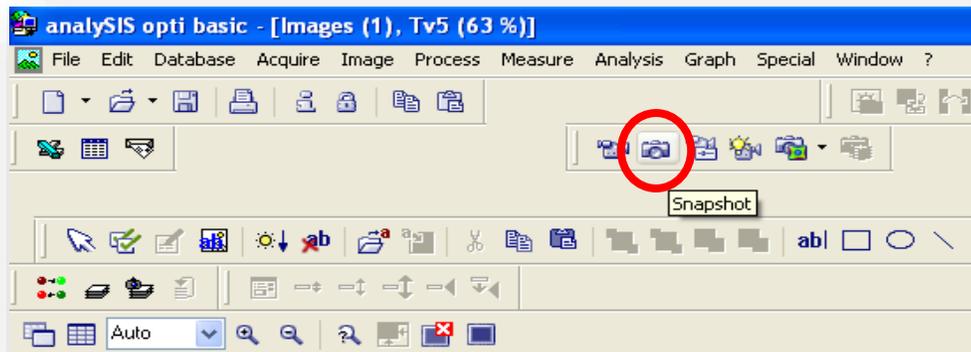


Imagen 1.

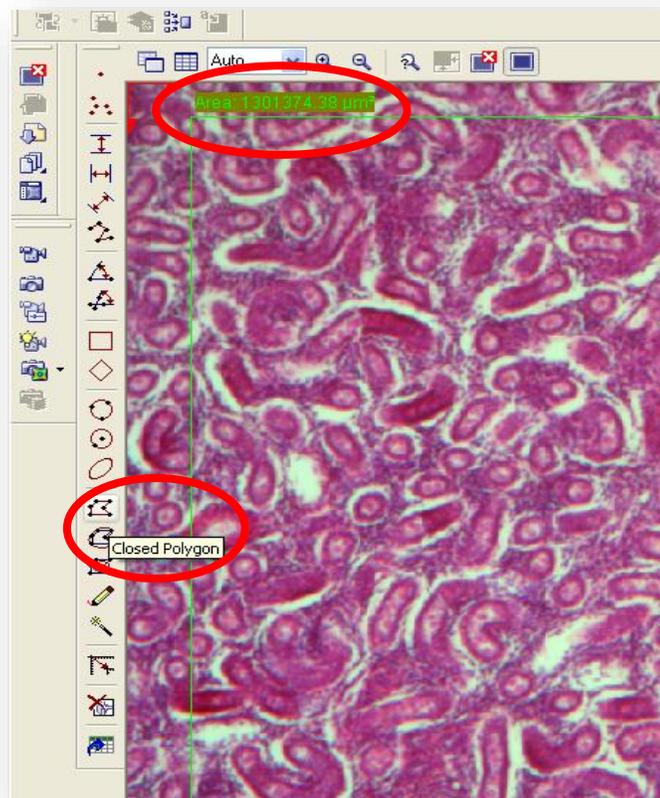


Imagen 2.

Imagen 1. El ícono de “snap shot”, mediante el cual se tomaron las imágenes histológicas. 2. La unidad de área, expresada en μm^2 y el ícono “Closed Polygon” mediante el cual, se realizaron las mediciones de las áreas de las estructuras celulares.

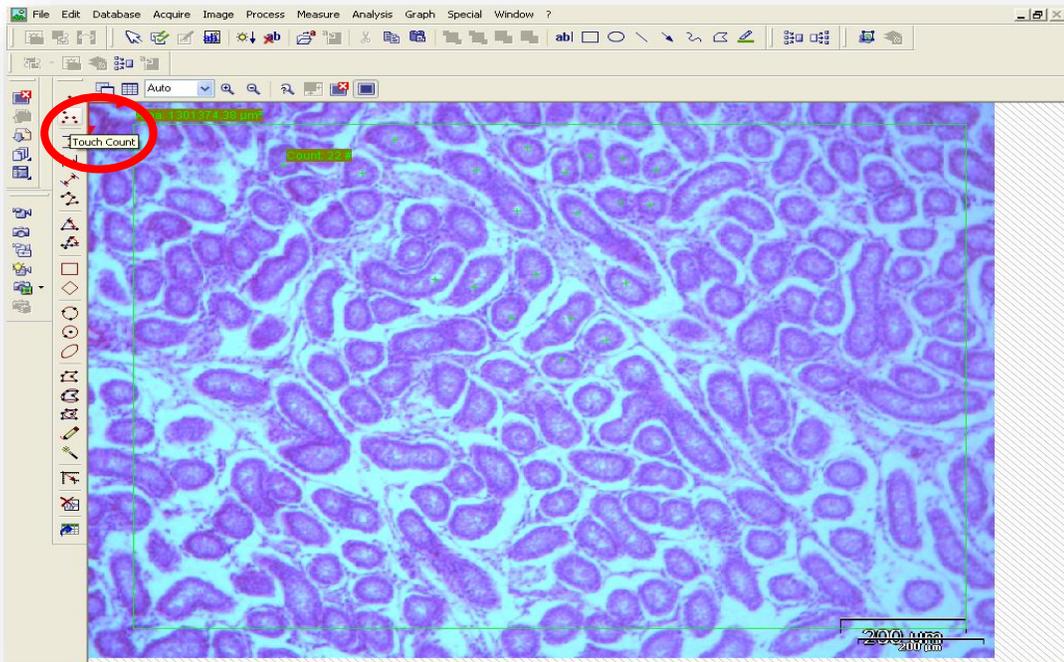


Imagen 3

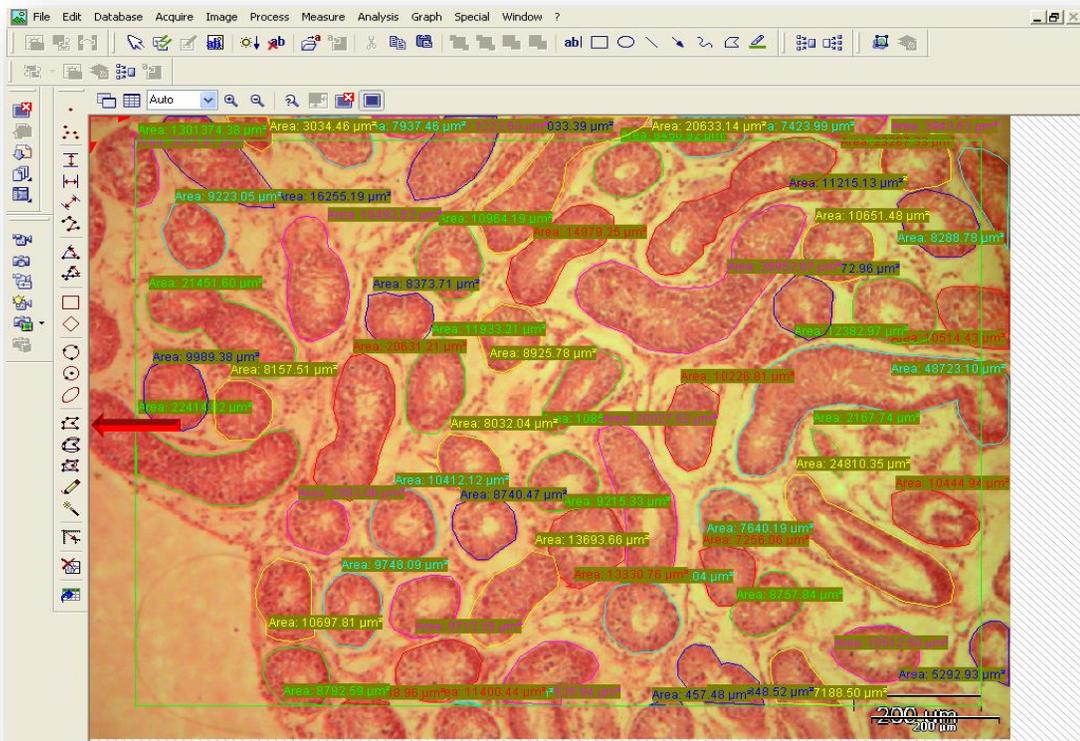


Imagen 4

Imagen 3. Icono “Touch Count”, mediante el cual se contaron el número de túbulos. Imagen 4. Medida del área de túbulos seminíferos, mediante el icono “Closed Polygon”.

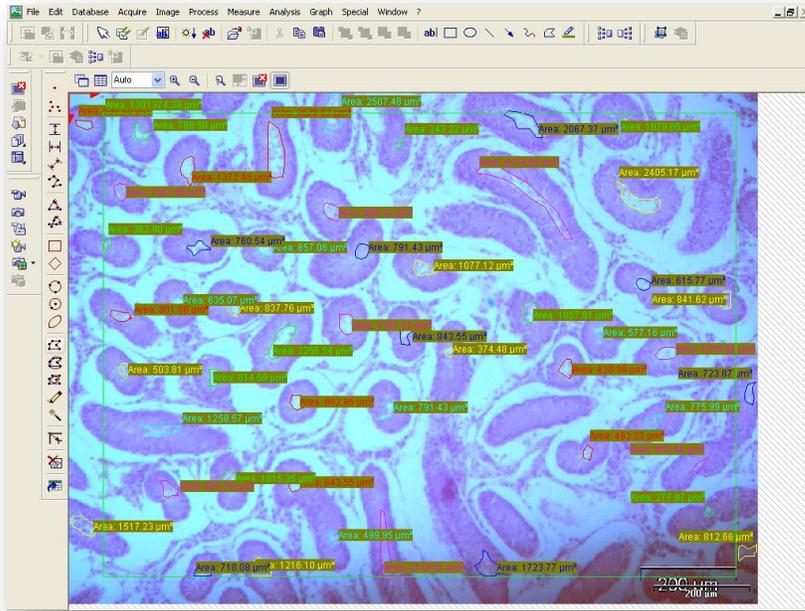


Imagen 5.

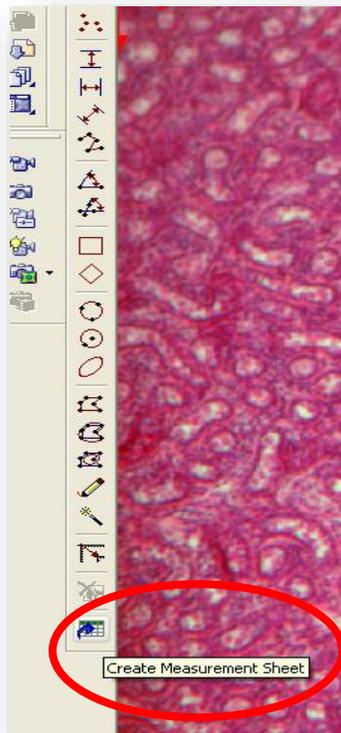


Imagen 6.

Imagen 5. Medida del área del lumen de túbulos seminíferos, mediante el ícono “Closed Polygon”. Imagen 6. Mediante el ícono “Create Measurement Sheet” se elaboró una hoja de cálculo.

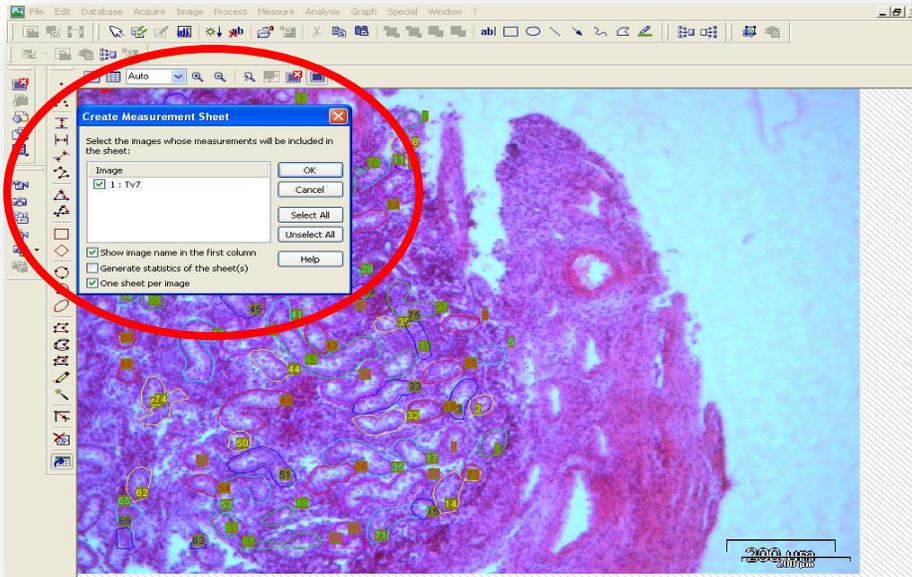


Imagen 7.

	Image Name	2D Object	2D Object	2D Object	2D Object	F
		Area	Perimeter	Diameter Max	Diameter Min	
		μm^2	μm	μm	μm	
1	Tv7	2339.54	189.07	70.31	46.70	
2	Tv7	1704.47	164.87	57.82	43.52	
3	Tv7	3136.76	243.41	95.46	48.71	
4	Tv7	2441.85	190.08	67.39	48.23	
5	Tv7	1887.85	170.09	58.95	43.09	
6	Tv7	2273.91	188.93	73.57	43.94	
7	Tv7	1785.54	173.27	61.34	44.22	
8	Tv7	1631.12	154.77	51.71	42.26	
9	Tv7	1634.98	158.03	52.30	43.16	
10	Tv7	2520.99	207.15	72.46	47.24	
11	Tv7	2366.57	203.55	78.11	38.33	
12	Tv7	3852.91	273.36	106.90	51.57	
13	Tv7	2351.12	207.71	80.63	43.09	
14	Tv7	3760.25	254.39	97.73	58.63	
15	Tv7	1606.02	154.29	49.34	43.49	
16	Tv7	8479.88	475.23	169.17	84.58	
17	Tv7	3188.88	236.56	80.65	51.26	
18	Tv7	2698.58	201.87	70.35	51.24	
19	Tv7	2912.85	212.03	75.31	53.47	
20	Tv7	1777.82	162.77	54.73	43.52	
21	Tv7	1725.70	158.36	52.87	45.43	
22	Tv7	4856.67	327.03	107.64	62.64	
23	Tv7	2212.14	176.80	59.24	49.34	
24	Tv7	5144.29	347.69	126.92	75.19	

Imagen 8.

Imagen 7. Comando para crear una hoja de cálculo. Imagen 8. Hoja de cálculo en donde se evaluó el Área, Perímetro, Diámetro Máximo y Diámetro mínimo de cada estructura tubular.

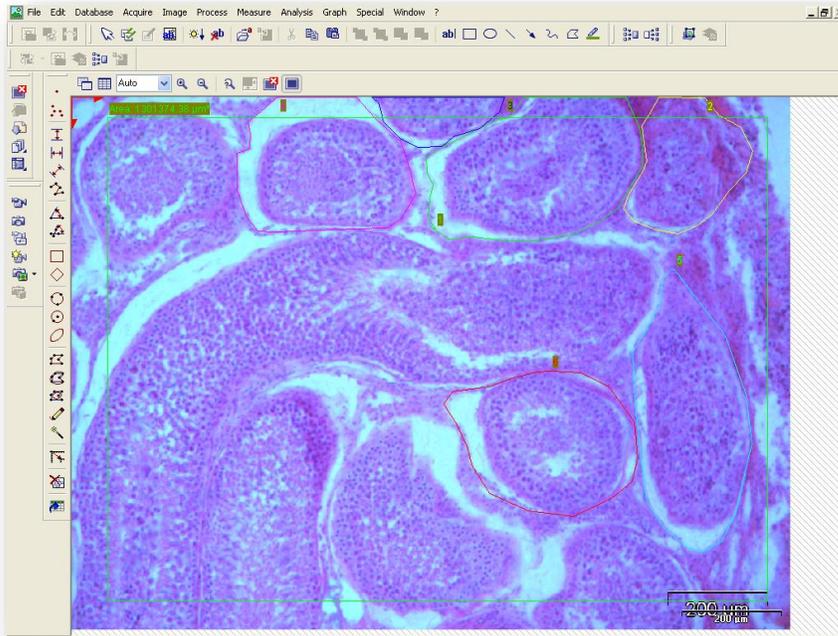


Imagen 9.

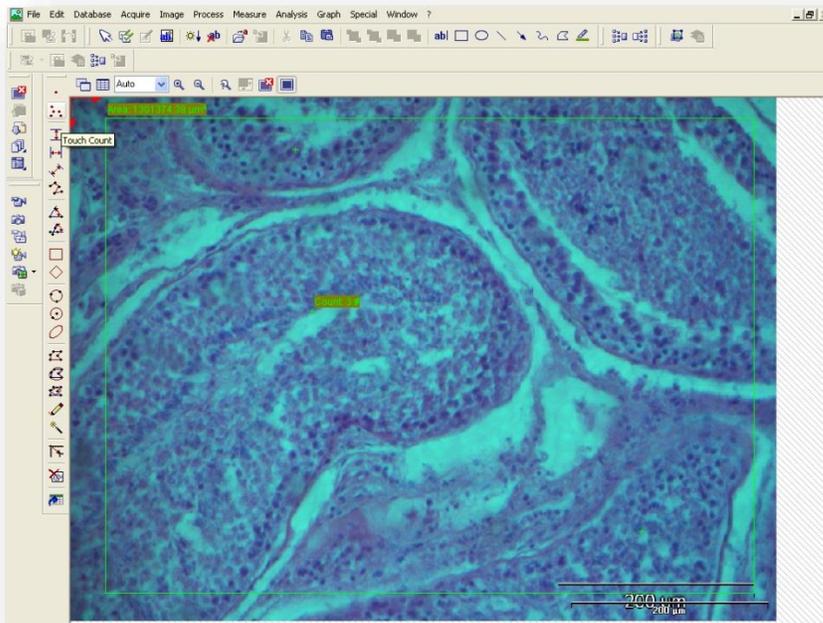


Imagen 10. Imagen 9. Medidas de diámetro de túbulos seminíferos de individuos en edad adulta, mediante el ícono “Closed Polygon”. Imagen 10. Mediante el ícono “Touch Count” se cuantificó la presencia o ausencia de espermátidas elongadas.

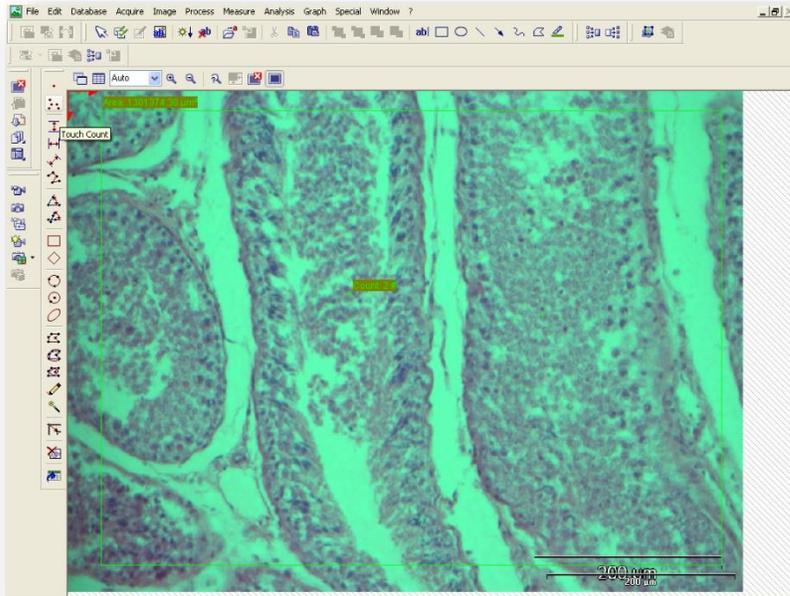


Imagen 11.

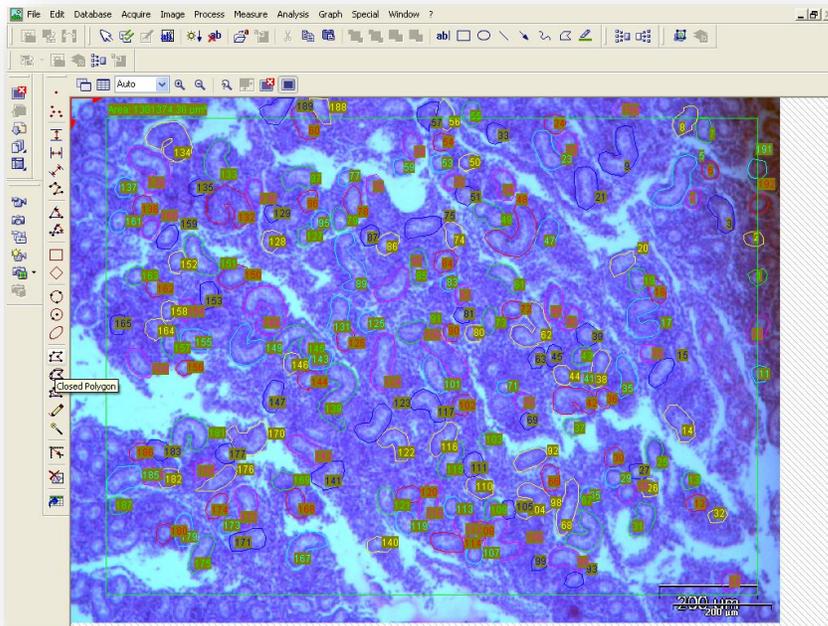


Imagen 12. Imagen 11. Mediante el ícono “Touched Count”, se cuantificó la presencia o ausencia de espermatidas elongadas en los túbulos seminíferos. Imagen 12. Mediante el ícono “Closed Polygon”, se cuantificaron las estructuras tubulares del testículo.

IMÁGENES HISTOLÓGICAS Y COMPARACIONES DEL EPITELIO SEMINÍFERO PARA EL ESTUDIO II EFECTO DE LA SUBNUTRICIÓN POSTNATAL EN EL DESARROLLO DEL EPITELIO SEMINÍFERO DE MACHOS PELIBUEY

Abreviaturas:

C= Cordones

Ts= Túbulos seminíferos

L= Lúmen

Ti= Tejido intersticial

M= Macrófago

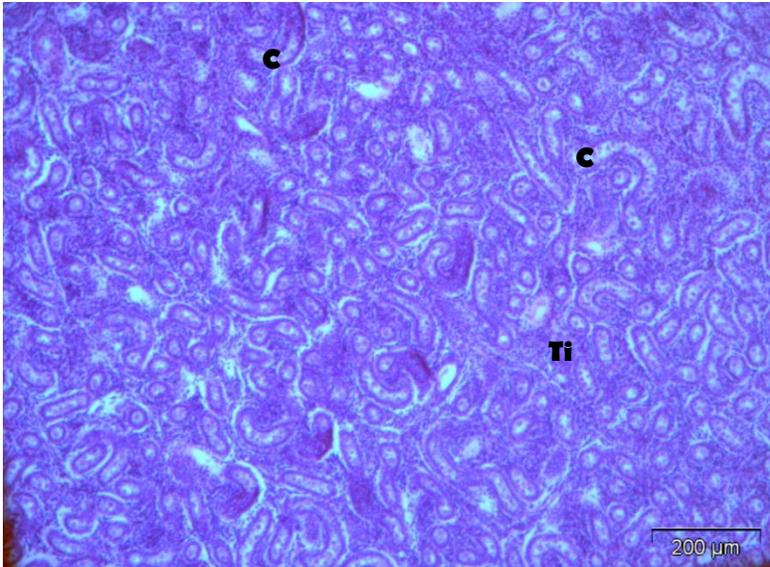
Rt= Rete testis

Ca= Capilar

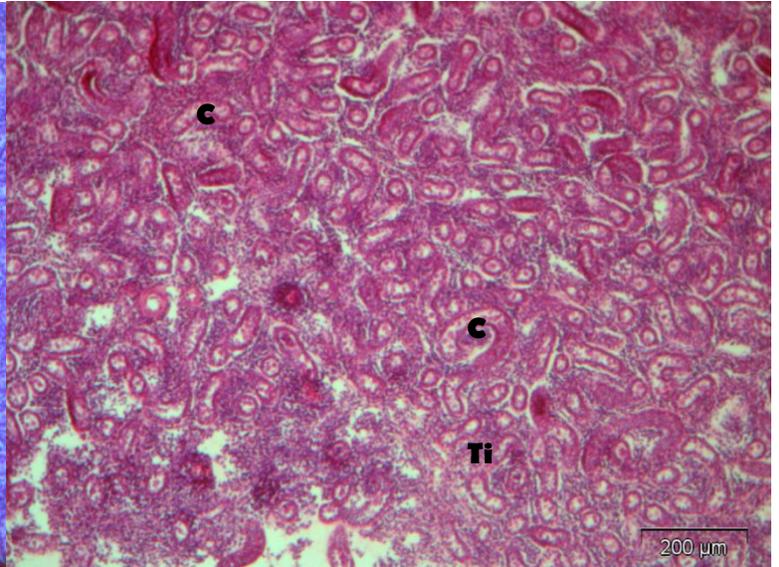
Lb= Lámina basal

Id= Identificación

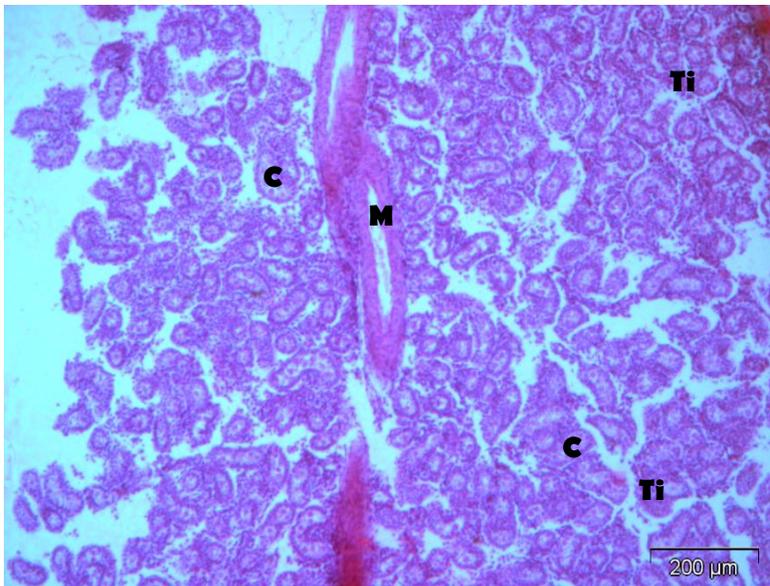
Neonato (0 meses)



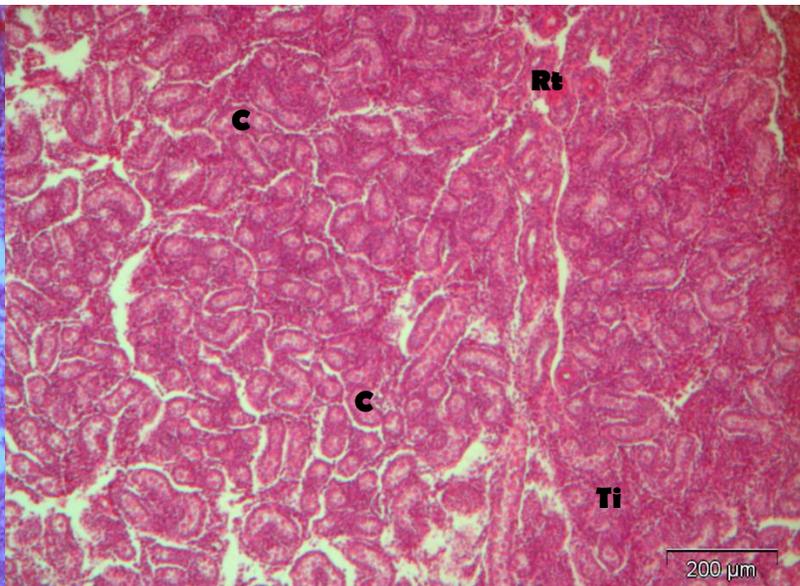
Neonato (0 meses) Testigo, Testículo derecho,
Id. Laboratorio y LaROCa: 1



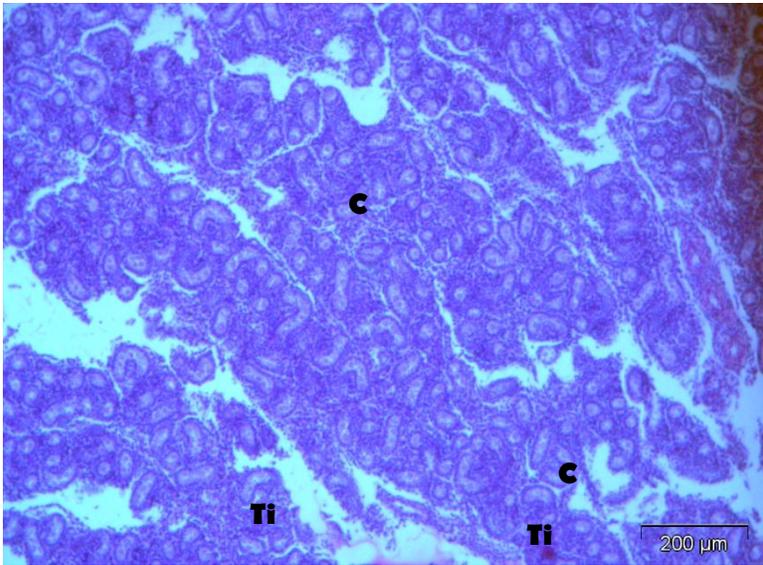
Neonato (0 meses) Testigo, Testículo izquierdo,
Id. Laboratorio y LaROCa: 1



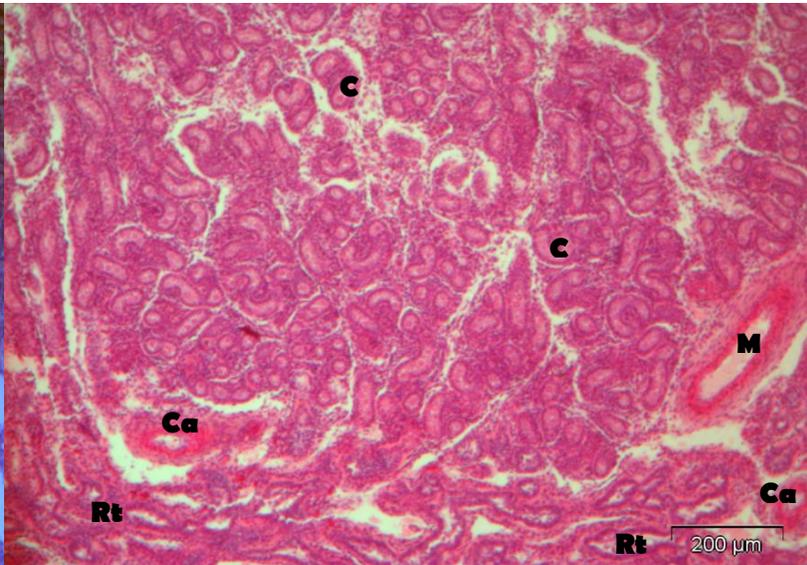
Neonato (0 meses), Testigo Testículo derecho,
Id. Laboratorio y LaROCa: 2



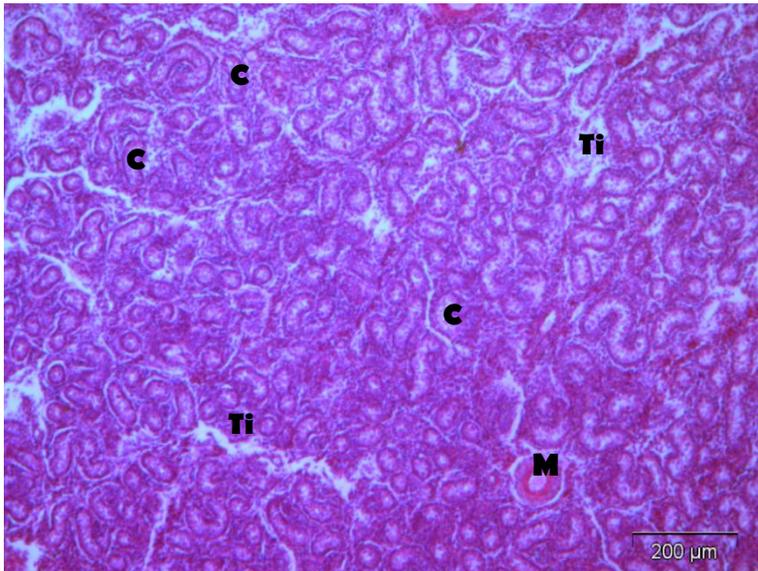
Neonato (0 meses), Testigo, Testículo
Izquierdo, Id. Laboratorio y LaROCa: 2



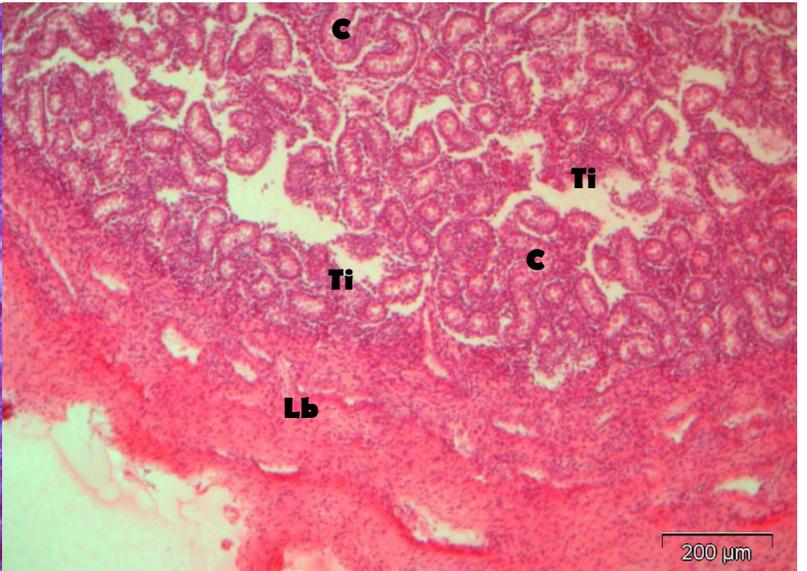
Neonato (0 meses), Testigo, Testículo derecho, Id. Laboratorio y LaROCa: 3



Neonato (0 meses), Testigo, Testículo Izquierdo, Id. Laboratorio y LaROCa: 3

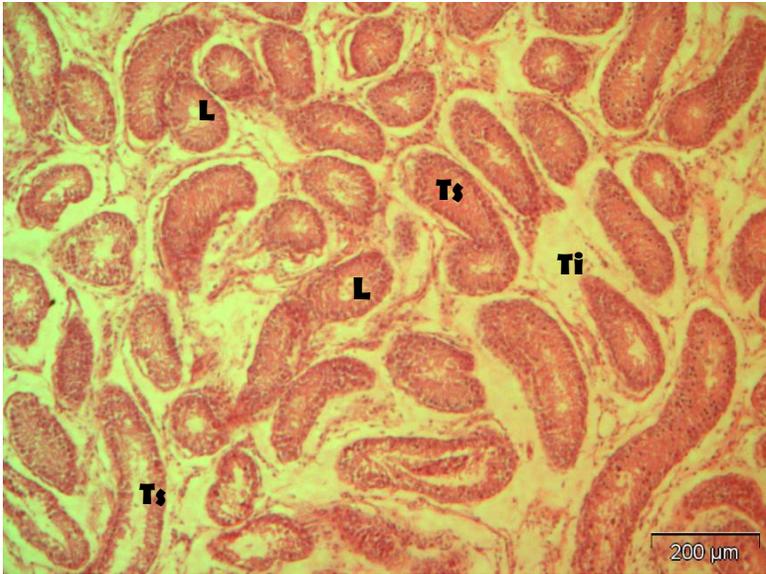


Neonato (0 meses), Testigo, Testículo derecho, Id. Laboratorio y LaROCa: 4

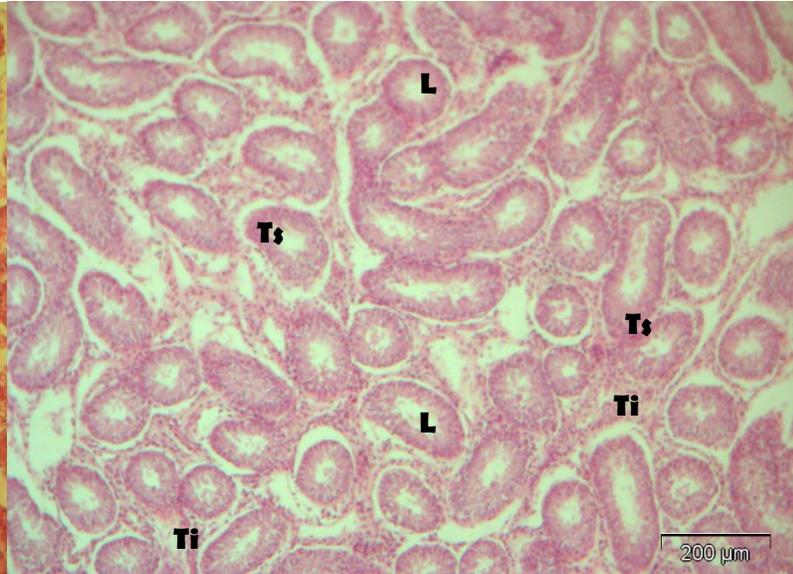


Neonato (0 meses), Testigo, Testículo izquierdo, Id. Laboratorio y LaROCa: 4

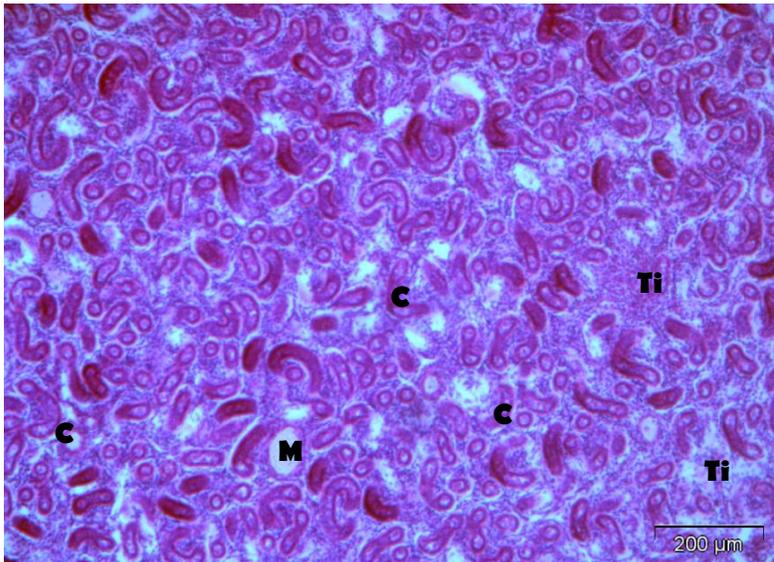
3 MESES: Carneros prepúberes



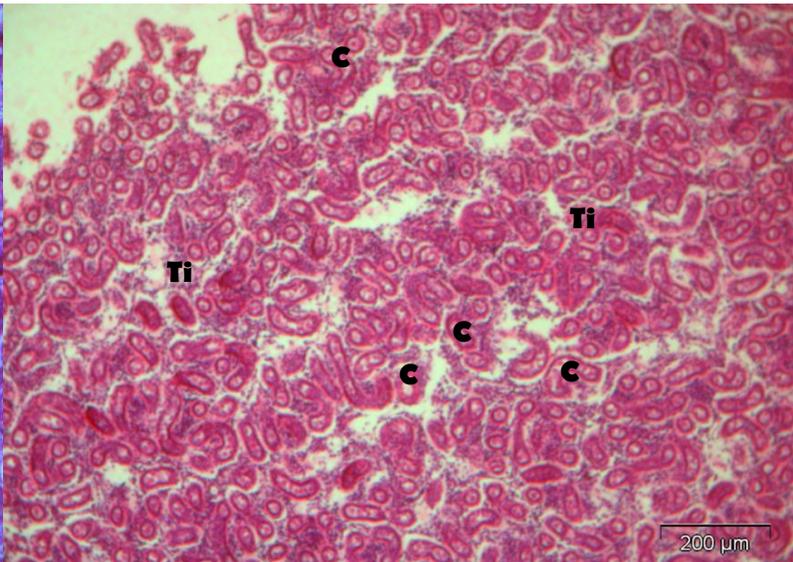
3 Meses, Testigo, Testículo Derecho, Id. Laboratorio: 5D, LaROCa: 156/06.



3 Meses, Testigo, Testículo izquierdo, Id. Laboratorio: 5I, LaROCa: 156/06.

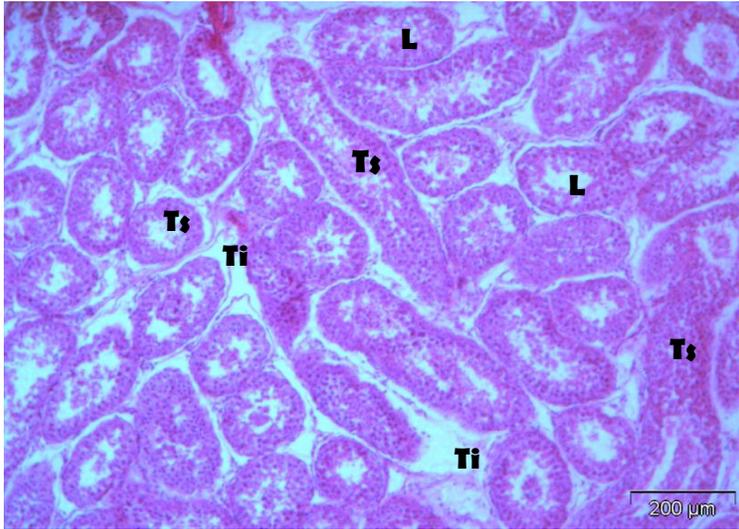


3 Meses, Restringido, Testículo Derecho, Id. Laboratorio: 10D, LaROCa: 92/512.

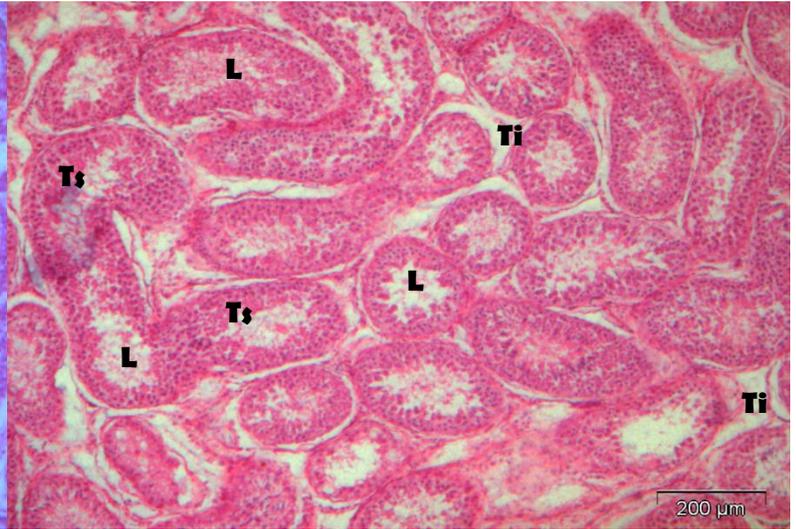


3 Meses, Restringido, Testículo izquierdo, Id. Laboratorio: 10I, LaROCa: 92/512.

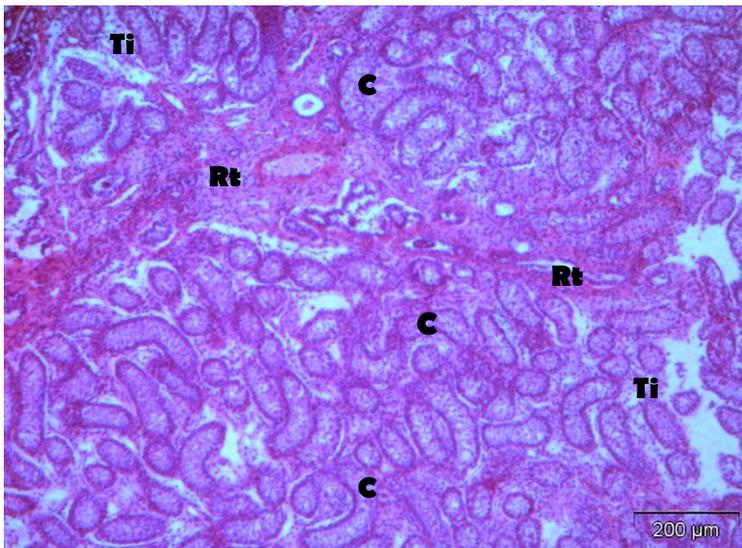
6 MESES: Carneros púberes



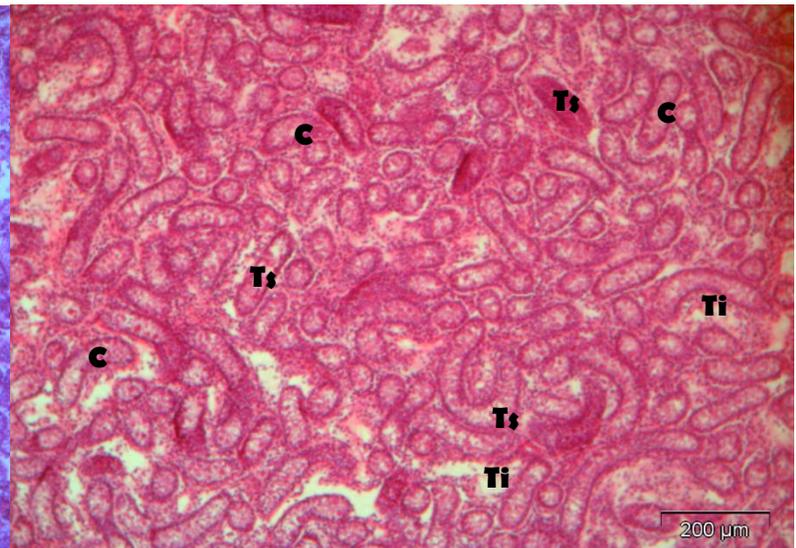
6 Meses, Testigo, Testículo derecho, Id.
Laboratorio: 14D, LaROCa: 208/571.



6 Meses, Testigo, Testículo izquierdo, Id.
Laboratorio: 14I, LaROCa: 208/571

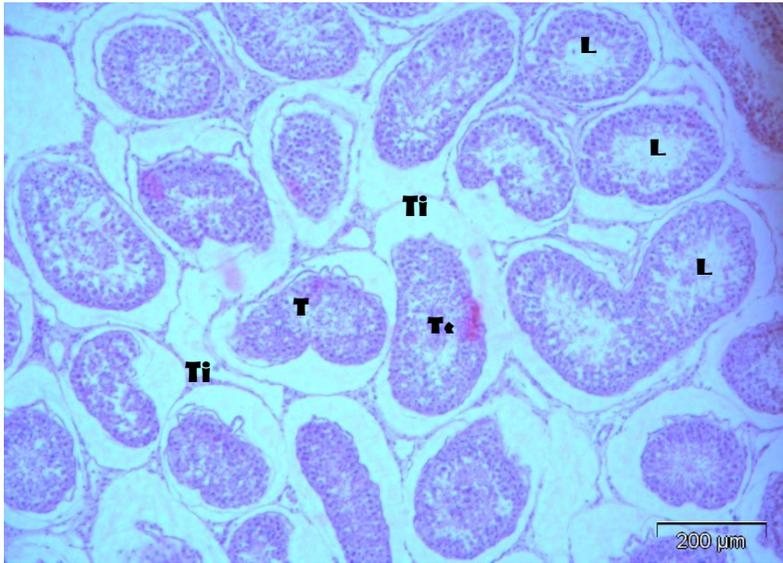


6 Meses, Restringido, Testículo derecho, Id.
Laboratorio 16D, Id LaROCa: 63/805.

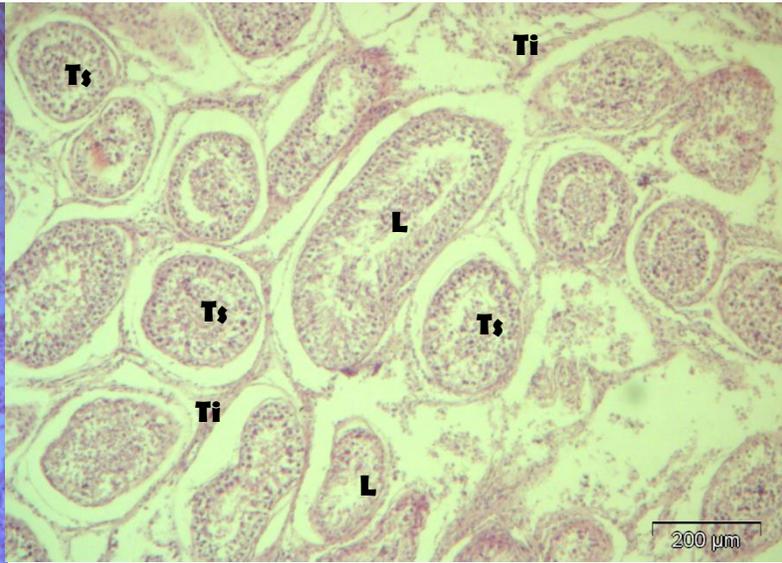


6 Meses, Restringido, Testículo izquierdo,
Id. Laboratorio 16D, Id LaROCa: 63/805.

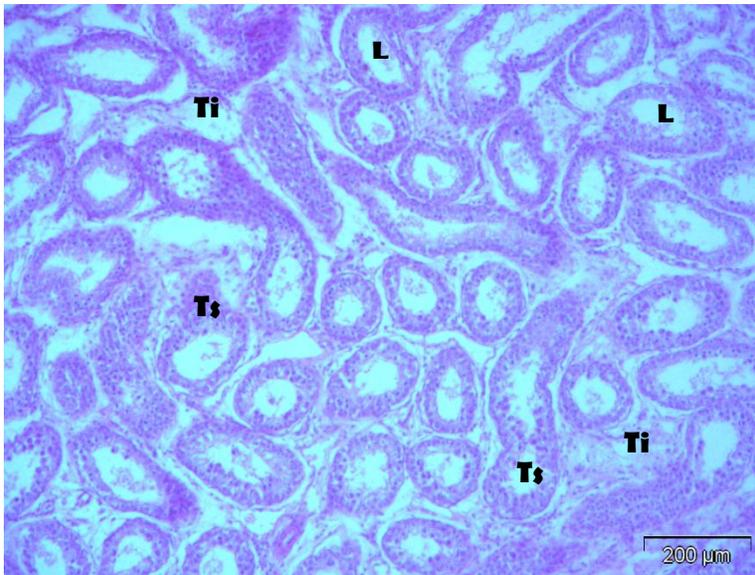
9 MESES: Carneros pospúberes-adultos



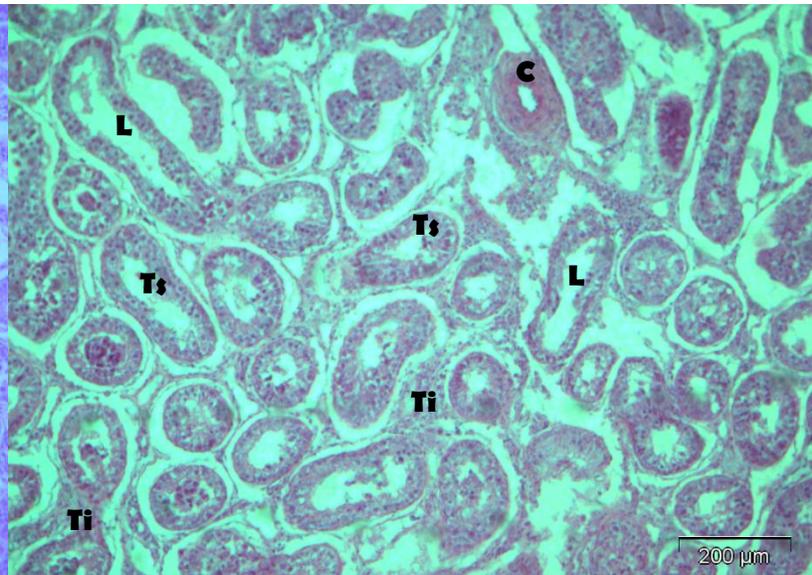
9 Meses, Testigo, Testículo derecho, Id. Laboratorio: 18D, LaROCa: 723/660.



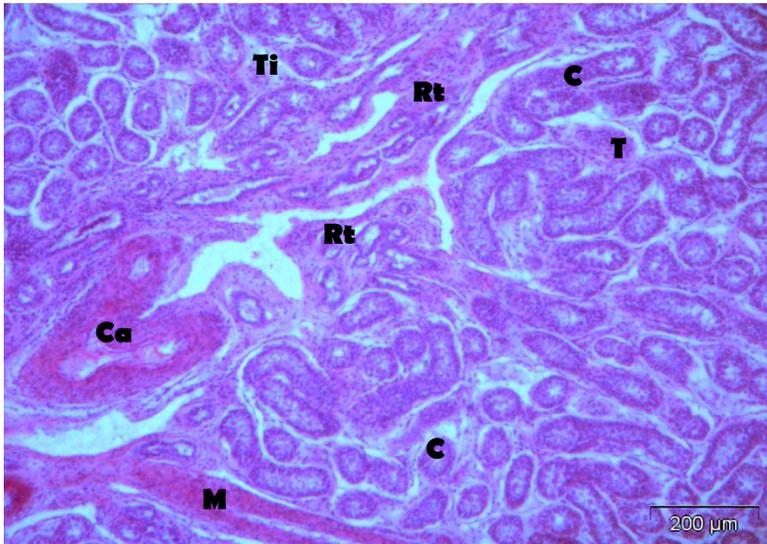
9 Meses, Testigo, Testículo izquierdo, Id. Laboratorio: 18I, LaROCa: 723/660.



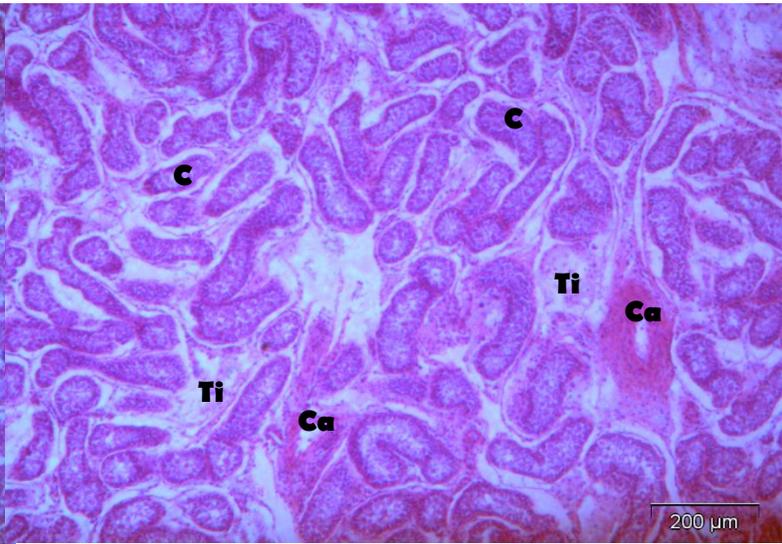
9 Meses, Restringido con presencia de túbulos, Testículo derecho, Id. Laboratorio: 22D, LaROCa: 192/653.



9 Meses, Restringido con presencia de túbulos, Testículo izquierdo, Id. Laboratorio: 22I, LaROCa: 192/653.

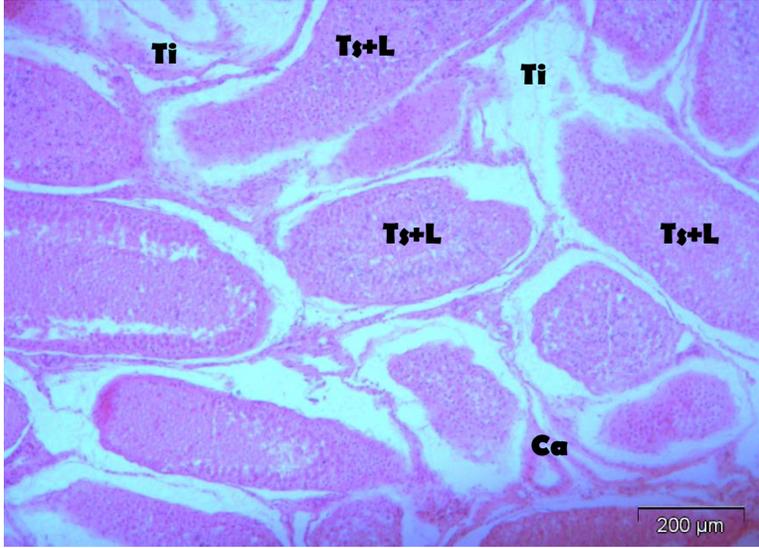


9 Meses, Restringido con presencia de cordones, Testículo derecho, Id. Laboratorio: 20D, LaROCa: 147/719.

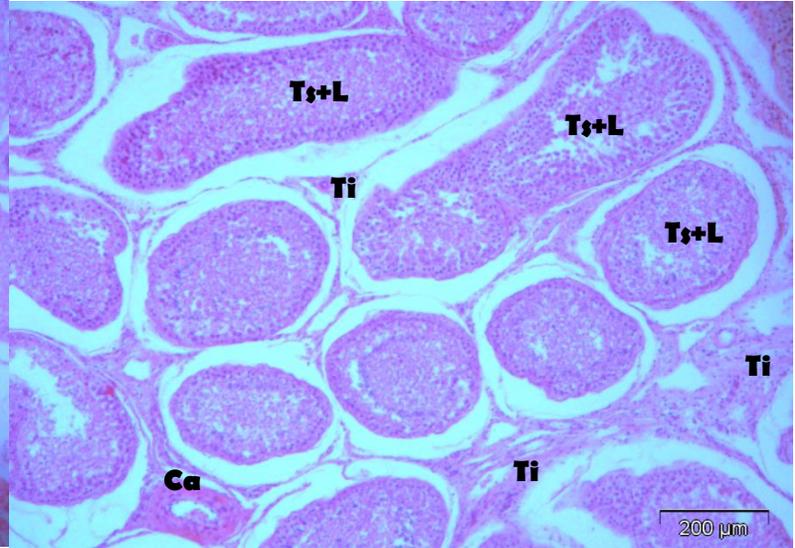


9 Meses, Restringido con presencia de cordones, Testículo Izquierdo, Id. Laboratorio 20I, LaROCa: 147/719.

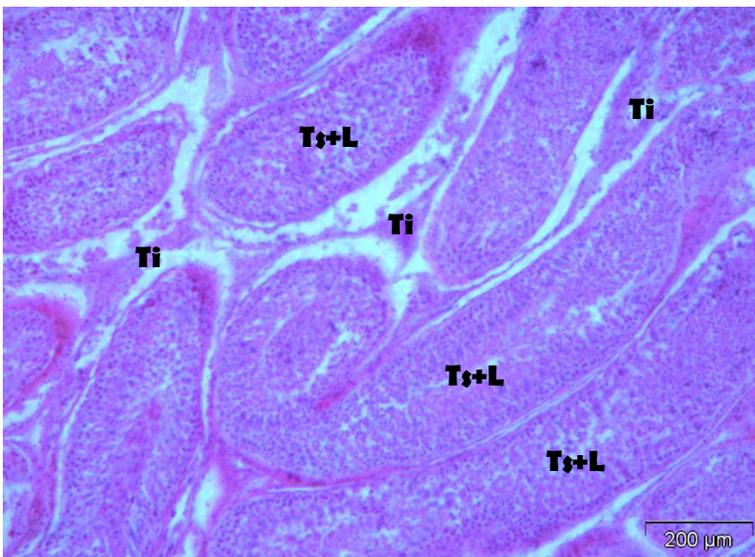
12 MESES: Carneros Adultos



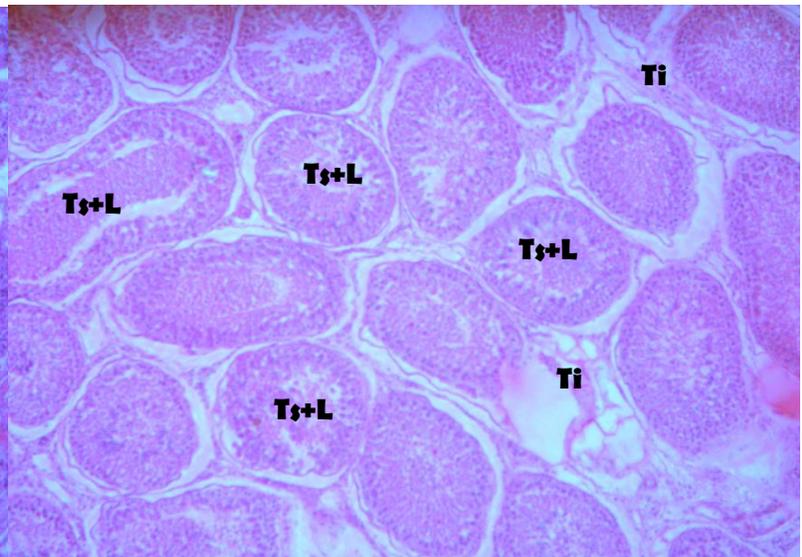
12 Meses, Restringido, Testículo derecho,
Id. Laboratorio 24D, Id. LaROCa: 256/462.



12 Meses, Restringido, Testículo izquierdo,
Id. Laboratorio 24I, Id. LaROCa: 256/462



12 Meses, Restringido, Testículo derecho, Id.
Laboratorio 27D, Id. LaROCa: 135/204.



12 Meses, Restringido, Testículo izquierdo, Id.
Laboratorio 27I, Id. LaROCa: 135/204.

