

## La época del año y el plano nutricional y su influencia sobre la morfología espermática en carneros Corriedale en pastoreo\*

López, A.<sup>1</sup>; Regueiro, M.<sup>1</sup>; Castrillejo, A.<sup>2</sup>; Pérez-Clariget, R.<sup>1</sup>

### RESUMEN

Se evaluó el efecto del mes de colección y el plano nutricional sobre la morfología espermática en 20 carneros Corriedale de 18 meses de edad, la mitad pastoreando sobre campo nativo y la otra mitad sobre campo mejorado. Los planos nutricionales determinaron diferencias en peso y circunferencia escrotal, pero la evolución de ambas variables fue similar en ambos grupos. El plano nutricional solo afectó el porcentaje de espermatozoides con implantación abaxial de cola; el mes de colección influyó el porcentaje de espermatozoides con acrosomas dañados, contorno y tamaño anormal, pieza media anormal y abaxial, torsión simple y doble de cola y con gota citoplasmática distal. El porcentaje de espermatozoides con cabeza piriforme, estrechos en la base, cabezas sueltas normales y anormales, cola enrollada y con gota citoplasmática proximal no fue influido por el mes de colección. Las anomalías espermáticas aumentaron en primavera y alcanzaron los máximos valores en verano. Las anomalías observadas con mayor frecuencia fueron las de cola, gota citoplasmática distal y de cabeza representando juntas el 75% del total de las anomalías. Las anomalías específicas más frecuentes fueron la gota citoplasmática distal y la torsión simple de cola, sumando ambas casi 50% del total de anomalías observadas.

**Palabras clave:** Carnero, Morfología espermática

### SUMMARY

The effect of month of semen collection and nutritional level on spermatic morphology of 20 Corriedale rams 18 months old, half of them grazing on native, and the other half grazing on improved pasture were studied. Nutritional levels determined differences in ram weight and scrotal circumference, but evolution of both variables was similar among the two groups. Nutritional levels affected only percentage of spermatozoa with abaxial mid-piece, whereas month of collection affected percentages of spermatozoa with acrosome damage, abnormal contour and variable size, abnormal and abaxial mid-piece, simple and double bent tails and distal droplet. Percentages of pear-shaped, narrow at the base, normal and abnormal free heads, terminally coiled tail and proximal droplet spermatozoa were not affected by month of collection. Spermatic abnormalities increased during spring and reached higher levels in summer. Most frequently abnormalities observed were tail-related, distal droplet and head abnormalities, which together represented 75% of total abnormal spermatozoa found. Most frequent specific anomalies were distal droplet and simple bent tail; together these made up almost 50% of total observed anomalies.

**Key words:** Ram, Sperm morphology.

### INTRODUCCIÓN

El estudio de la morfología espermática valora la incidencia de las diferentes formas que se apartan de la morfología normal de los espermatozoides. El conocimiento del impacto negativo que tienen elevados porcentajes de anomalías espermáticas, fundamentalmente las de cabeza, sobre la fertilidad de los carneros (Hulet y col., 1965), así como, la disponibilidad de técnicas accesibles para evaluarla, justifican su incorporación cuando se evalúa semen. La morfología de los espermatozoides refleja la salud de los túbulos seminíferos y en parte la de los epidídimos (Barth y Oko, 1989), aún más, la alteración de la morfología espermática se considera el primer signo de cambios degenerativos en el epididimo seminal (Lagerlöf, 1938). Los espermatozoides

que se observan en un eyaculado iniciaron su proceso de formación en el epididimo seminífero aproximadamente dos meses antes, ya que en el carnero la espermatogénesis dura entre 47 y 49 días (Ortavant, 1958) y el pasaje por el epididimo 13 días (Setchell, 1977), por lo cual se debe tener en cuenta que las alteraciones de la morfología espermática se producirían con varias semanas de anterioridad al momento en que son observadas.

También se deben tener en cuenta los factores que influyen la morfología espermática del carnero. La época del año (Colas, 1980; Mickelsen y col., 1981; Nonato-Girao y Mies-Filho, 1985; Pérez-Clariget y col., 1997) y la temperatura (Williamson, 1974; Carmenate y Gamcik, 1982; Manco y col., 2000) influyen el porcentaje de anomalías espermáticas.

Los efectos de la nutrición parecen no ser tan importantes en esta especie (Bielli y col., 1997; Fourie y col., 2004) como en el macho cabrío (Almeida y col., 2007). En condiciones pastoriles, los carneros están sometidos a cambios en la disponibilidad y calidad del forraje así como al fotoperiodo y la temperatura, entre otros factores, y a las interacciones entre ellos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del mes de colección del semen y dos planos nutricionales sobre las alteraciones específicas de la morfología espermática en carneros Corriedale en pastoreo a lo largo de un año, así como, determinar las anomalías espermáticas más frecuentes que se presentan en carneros en condiciones pastoriles a latitudes intermedias.

\*Parte de la información de este trabajo fue presentada como poster en el III Congreso de la Asociación Uruguaya de Producción Animal-Montevideo, noviembre 2010.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, Garzón 780, Montevideo, Uruguay.

<sup>2</sup>Establecimiento El Recreo, Durazno, Uruguay.

Recibido: 15/11/10 Aprobado: 5/4/11

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización

El trabajo se realizó en un establecimiento comercial ubicado en el centro del Uruguay (32° Latitud Sur) bajo condiciones de pastoreo extensivo característico de la región. A esta latitud, las horas luz varían entre 14 h 30' en diciembre a 9 h 40' en junio. Las temperaturas promedio durante el trabajo variaron entre 9 °C en junio a 25.5 °C en enero. La precipitación pluvial se distribuyó a lo largo del año aunque no uniformemente: la mínima precipitación mensual se registró en julio (53mm) y la máxima en enero (202 mm). Los suelos predominantes son basálticos y su vegetación dominada en verano por gramíneas perennes (*Paspalum*, *Axonopus*, *Bothriochloa*) y en invierno por gramíneas (*Stipa*, *Poa*), leguminosas (*Adesmia bicolor*, *Trifolium polymorphum*) y no gramíneas (*Oxalis*, *Cyperaceae*, *Eryngium*) y presenta una variación estacional de la disponibilidad de materia seca por Ha, siendo máxima en primavera y en otoño (Formoso y Castrillejo, 1989).

### Animales y diseño experimental

Se utilizaron 20 carneros Corriedale nacidos en primavera que al momento del inicio del trabajo tenían 17-18 meses de edad y que fueron monitoreados durante 12 meses (marzo a febrero del siguiente año). Desde el destete (90 -120 días de edad), la mitad de los animales pastorearon sobre campo mejorado con rye grass perenne, *Lotus corniculatus* y trébol blanco (*Trifolium repens*) (Campo Mejorado, CM, n=10) y los restantes pastorearon sobre campo nativo (Campo Nativo, CN, n=10). Todos permanecieron sobre el mismo tipo de pasturas hasta el final del trabajo. Los carneros fueron esquilados en marzo y en setiembre y fueron manejados bajo el mismo esquema que el resto de los animales de su categoría. No fueron utilizados para dar servicio pero no se les impidió el contacto visual ni olfativo con hembras. Mensualmente a todos los animales se les registró el peso, se inspeccionaron los testículos y se les midió la circunferencia escrotal (CE) en el diámetro testicular máximo. El peso corporal fue corregido por el peso de vellón de acuerdo al procedimiento descrito por Gastel y col. (1995) para obtener el peso vivo (PV). El mismo día se colectó

una muestra de semen utilizando un electroeyaculador diseñado para ovinos. La colección de semen con electroeyaculador no altera los resultados de morfología espermática comparados con los que se obtienen cuando el semen es obtenido con vagina artificial (Marco-Jiménez y col., 2005). Inmediatamente después de obtenido el eyaculado, una alícuota de semen era diluida en una solución salina formolada y mantenida refrigerada hasta el momento de su evaluación. Las anomalías de acrosoma, pieza media y cola fueron registradas examinando una gota de esta preparación utilizando un microscopio de contraste de fases con aumento de 1000x y clasificadas de acuerdo a Sullivan (1977). Para examinar con mayor detalle las anomalías de cabeza, se realizó un frotis de cada muestra que se tiñó con fucsina básica-eosina de acuerdo al método descrito por Williams (1920) y modificado por Lagerlöf (1934) y clasificadas de acuerdo a éste último. En cada preparado se contaron 200 espermatozoides (total: 400 espermatozoides por eyaculado). Las anomalías consideradas fueron: anomalías de cabeza: acrosoma dañado, contorno anormal, tamaño diferente, piriformes, cabezas sueltas anormales y estrechas en la base; anomalías de pieza media: pieza media anormal y abaxiales; anomalías de cola: torsiones simples o dobles y colas enrolladas; se registraron también los espermatozoides con gota citoplasmática proximal y distal y las cabezas sueltas normales.

### Análisis estadístico

Los datos fueron analizados en un diseño completamente al azar utilizando el programa estadístico SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC). Los datos de PV y CE fueron analizados por medidas repetidas en el tiempo utilizando el procedimiento MIXED con el mes de colección como efecto repetido. El modelo incluyó el efecto del mes de colección y el plano nutricional y la interacción entre ambos como efectos fijos. Los datos de morfología espermática fueron analizados bajo modelos lineales generalizados utilizando el procedimiento GENMOD con transformación logit. El modelo incluyó los efectos mes de colección y del plano nutricional y su interacción como efectos fijos. Los datos de anomalías esper-

máticas fueron también analizados agrupados en anomalías de cabeza, pieza media y cola y como anomalías totales. Se realizaron correlaciones de Spearman entre variables. Las medias fueron consideradas diferentes cuando el  $P \leq 0.05$ . Los resultados se expresan en media ajustadas  $\pm$  eem.

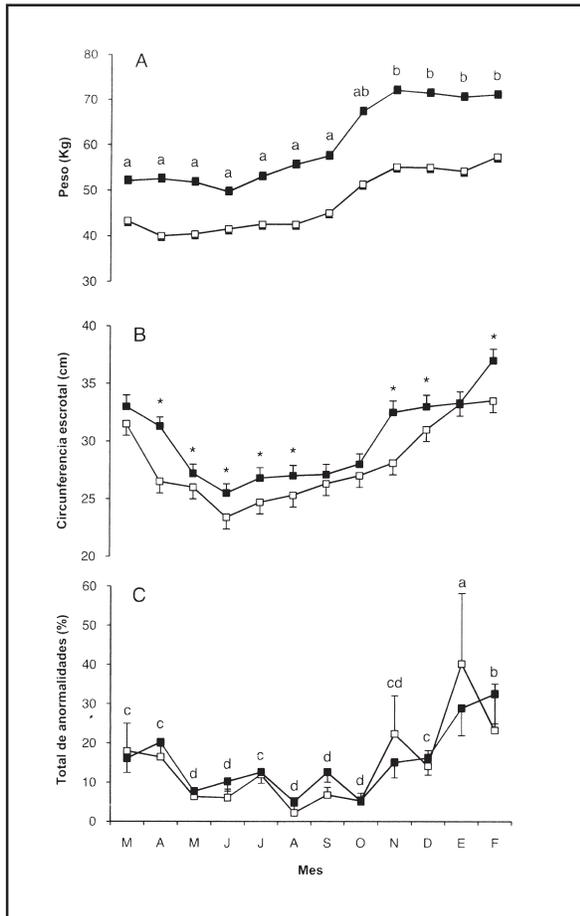
## RESULTADOS

### Peso vivo y circunferencia escrotal

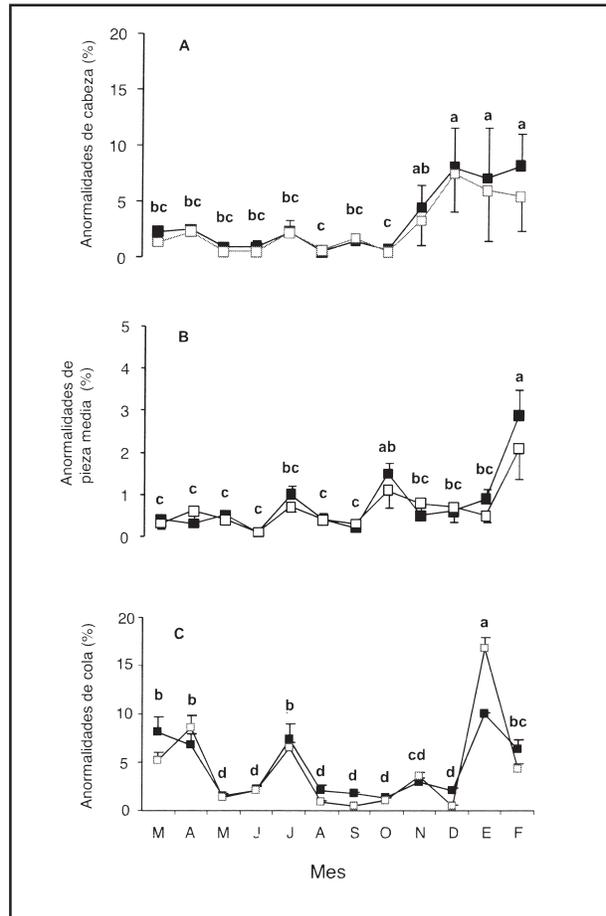
Los diferentes planos nutricionales se reflejaron en diferencias en el PV de los carneros ( $P < 0.001$ ). Los carneros del Grupo-CM fueron en promedio 28% más pesados durante todo el trabajo que los del Grupo-CN (Grupo-CM:  $60.4 \pm 0.7$  kg vs Grupo-CN:  $47.3 \pm 0.6$  kg, promedio general). Sin embargo, la evolución del PV a lo largo del año fue similar en ambos grupos: se mantuvo constante durante el otoño e invierno (marzo a agosto), se incrementó en primavera (setiembre a noviembre;  $P < 0.05$ ) y volvió a mantenerse constante en el verano (diciembre a febrero;  $P > 0.1$ ; Fig. 1A). En ambos grupos el PV final fue mayor al inicial ( $P < 0.05$ ) indicando que los animales continuaban creciendo. El mes y los tratamientos afectaron ( $P < 0.0001$ ) la CE y se encontró una interacción ( $P < 0.0001$ ) entre ambos factores. Si bien, la media de la CE no era diferente entre grupos al inicio de los registros, los carneros del grupo CM tuvieron CE mayores ( $P < 0.05$ ) a los del grupo CN en varias ocasiones a lo largo del trabajo (Figura 1B). La CE en ambos grupos decreció en otoño (marzo a mayo,  $P < 0.05$ ), alcanzó su nadir en junio ( $P < 0.05$ ), permaneció constante el resto del invierno (julio-agosto) y aumentó en primavera y verano alcanzando su máximo valor en febrero ( $P < 0.05$ ; Figura 1B).

### Anomalías espermáticas

El plano nutricional solo afectó ( $P < 0.01$ ) el porcentaje de espermatozoides abaxiales ( $1.2 \pm 0.5$  y  $0.5 \pm 0.2\%$  para los carneros de los grupos CM y CN, respectivamente); no se encontró interacción entre el plano nutricional y el mes de colección en ninguna de las variables analizadas. El mes de colección afectó el porcentaje de anomalías de cabeza, pieza media y cola, y por ende, el porcentaje de anomalías totales ( $P < 0.001$ ). En ambos grupos los mayores porcentajes ( $P < 0.05$ ) de anomalías de cabeza se



**Figura 1.** Peso Vivo (kg, A), circunferencia escrotal (cm, B) y porcentaje de anomalías totales ( $x \pm eem$ , C) en carneros Corriedale pastoreando sobre pasturas mejoradas (■, n=10) y campo nativo (□, n=10) a lo largo de un año. El asterisco indica diferencias entre grupos ( $P < 0.01$ ), letras diferentes indican diferencias entre meses ( $P < 0.05$ ). En la Fig. A la diferencia entre tratamientos es significativa ( $P < 0.05$ ) en todos los meses.



**Figura 2.** Porcentaje ( $x \pm eem$ ) de anomalías de cabeza (A), pieza media (B) y cola (C) en carneros pastoreando sobre pasturas mejoradas (■, n=10) o campo nativo (□, n=10). Letras diferentes indican diferencias entre meses ( $P < 0.05$ ).

registraron en verano (Fig. 2A); el máximo porcentaje de anomalías de pieza media se registró en el mes de febrero (Fig. 2B), mientras que el de cola y total se observaron en enero (Fig. 2C y 1C). Cuando se analizaron las anomalías específicas independientemente del plano nutricional, se encontró que todas eran influidas por el mes de colección ( $P < 0.001$ ) excepto los porcentajes de espermatozoides con cabezas piriformes y estrechas en la base, cabezas sueltas normales y anormales, gotas citoplasmáticas proximales y colas enrolladas (Cuadros 1, 2 y

3). El porcentaje de espermatozoides con acrosoma dañado fue máximo ( $P < 0.05$ ) al inicio del verano (diciembre:  $5.1 \pm 1.9\%$ ), mientras que los porcentajes de espermatozoides con cabezas con contorno anormal y tamaño diferente fueron máximos ( $P < 0.05$ ) a mitad del mismo (febrero:  $1.1 \pm 0.2\%$  y  $1.6 \pm 0.2\%$ , respectivamente, Cuadro 1). Las anomalías de cabeza representaron el 21% del total de anomalías observadas en todo el trabajo, siendo los defectos de acrosoma y las cabezas de diferente tamaño las anomalías de cabeza más frecuentes (36

y 18% del total de anomalías de cabeza, respectivamente).

Las anomalías de pieza media fueron máximas ( $P < 0.05$ ) a mediados de verano en ambos grupos de carneros (febrero:  $2.9 \pm 0.4\%$  y  $2.1 \pm 0.5\%$  en los grupos CM y CN, respectivamente; Figura 2B). Independientemente del plano nutricional, el porcentaje de espermatozoides con pieza media anormal fue máximo ( $P < 0.05$ ) en verano (febrero:  $2.3 \pm 0.6\%$ ), mientras que, el porcentaje de abaxiales alcanzó los valores más elevados en invierno (julio:  $1.3 \pm 0.1\%$ ) y pri-

**Cuadro 1.** Porcentaje de anomalías de cabeza en semen de carneros a lo largo de un año (media ± eem).

Mes	Acrosoma dañado	Contorno anormal	Diferente tamaño	Piriforme	Cabeza suelta anormal	Estrecho en la base
Marzo	0.5 ± 0.11 <sup>cd</sup>	0.3 ± 0.07 <sup>bc</sup>	0.4 ± 0.09 <sup>bc</sup>	0.1 ± 0.02	0.4 ± 0.02	0.3 ± 0.04
Abril	0.9 ± 0.11 <sup>bcd</sup>	0.5 ± 0.09 <sup>bc</sup>	0.4 ± 0.07 <sup>bc</sup>	0.2 ± 0.02	0.4 ± 0.02	0.3 ± 0.02
Mayo	0.1 ± 0.02 <sup>d</sup>	0.3 ± 0.02 <sup>bc</sup>	0.3 ± 0.09 <sup>bc</sup>	0.1 ± 0.01	0	0.1 ± 0.02
Junio	0.4 ± 0.09 <sup>d</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>	0	0	0.7 ± 0.09
Julio	0.6 ± 0.09 <sup>cd</sup>	0.7 ± 0.16 <sup>ab</sup>	0.5 ± 0.07 <sup>bc</sup>	0.4 ± 0.04	0	0.4 ± 0.04
Agosto	0.1 ± 0.02 <sup>d</sup>	0 <sup>c</sup>	0.4 ± 0.02 <sup>bc</sup>	0	0	0.1 ± 0.02
Septiembre	0.9 ± 0.11 <sup>bcd</sup>	0.3 ± 0.04 <sup>bc</sup>	0.4 ± 0.11 <sup>bc</sup>	0.1 ± 0.01	0	0.2 ± 0.02
Octubre	0.4 ± 0.04 <sup>d</sup>	0.2 ± 0.04 <sup>bc</sup>	0 <sup>c</sup>	0	0	0.2 ± 0.02
Noviembre	0.9 ± 0.20 <sup>bcd</sup>	0.7 ± 0.11 <sup>ab</sup>	0.4 ± 0.09 <sup>bc</sup>	0.5 ± 0.04	1.3 ± 0.43	1.0 ± 0.11
Diciembre	5.1 ± 1.86 <sup>a</sup>	1.0 ± 0.16 <sup>ab</sup>	0.6 ± 0.13 <sup>b</sup>	0.4 ± 0.02	0.8 ± 0.38	0.2 ± 0.02
Enero	2.5 ± 0.54 <sup>b</sup>	0.8 ± 0.16 <sup>ab</sup>	1.1 ± 0.18 <sup>ab</sup>	1.1 ± 0.20	1.4 ± 0.56	0.5 ± 0.07
Febrero	2.3 ± 0.56 <sup>b</sup>	1.1 ± 0.22 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.22 <sup>a</sup>	1.5 ± 0.25	0.5 ± 0.16	0.6 ± 0.14

Literales diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ).

**Cuadro 2.** Porcentaje de piezas medias y colas anormales en semen de carneros a lo largo de un año (media ± eem).

Mes	Pieza Media anormal	Abaxial	Torsión simple	Torsión doble	Cola enrollada
Marzo	0.6 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.1 ± 0.02 <sup>bc</sup>	5.9 ± 0.55 <sup>bc</sup>	0.8 ± 0.04 <sup>bc</sup>	0.6 ± 0.04
Abril	0.5 ± 0.16 <sup>b</sup>	0.4 ± 0.04 <sup>bc</sup>	7.3 ± 0.56 <sup>b</sup>	0.7 ± 0.22 <sup>bc</sup>	0.3 ± 0.04
Mayo	0.2 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.5 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.9 ± 0.90 <sup>e</sup>	0.3 ± 0.22 <sup>bc</sup>	0.6 ± 0.22
Junio	0.1 ± 0.02 <sup>b</sup>	0 <sup>c</sup>	1.8 ± 0.23 <sup>de</sup>	0 <sup>c</sup>	0.2 ± 0.02
Julio	0.4 ± 0.09 <sup>b</sup>	1.3 ± 0.11 <sup>a</sup>	5.7 ± 0.51 <sup>bc</sup>	1.1 ± 0.09 <sup>ab</sup>	1.0 ± 0.09
Agosto	0.6 ± 0.09 <sup>b</sup>	0 <sup>c</sup>	1.3 ± 0.15 <sup>de</sup>	0 <sup>c</sup>	0.3 ± 0.04
Septiembre	0.5 ± 0.22 <sup>b</sup>	0 <sup>c</sup>	0.6 ± 0.11 <sup>e</sup>	0.7 ± 0.22 <sup>bc</sup>	0.3 ± 0.02
Octubre	1.6 ± 0.11 <sup>b</sup>	1.0 ± 0.22 <sup>a</sup>	1.0 ± 0.11 <sup>e</sup>	0 <sup>c</sup>	0.3 ± 0.04
Noviembre	0.5 ± 0.22 <sup>b</sup>	0.5 ± 0.04 <sup>b</sup>	1.8 ± 0.18 <sup>de</sup>	1.9 ± 0.20 <sup>a</sup>	1.3 ± 0.16
Diciembre	0.8 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.2 ± 0.02 <sup>bc</sup>	0.6 ± 0.05 <sup>e</sup>	0.6 ± 0.09 <sup>bc</sup>	0.5 ± 0.04
Enero	1.0 ± 0.16 <sup>b</sup>	0.3 ± 0.04 <sup>bc</sup>	12.7 ± 0.49 <sup>a</sup>	0.8 ± 0.22 <sup>bc</sup>	0.7 ± 0.11
Febrero	2.3 ± 0.58 <sup>a</sup>	0.5 ± 0.04 <sup>b</sup>	3.8 ± 0.27 <sup>cd</sup>	2.0 ± 0.22 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.18

Literales diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ).

mavera (octubre: 1.0 ± 0.2%; Cuadro 2). Las anomalías de pieza media representaron el 7% del total de anomalías observadas en todo el trabajo, siendo las piezas medias anormales la alteración específica más frecuentemente encontrada (66% del total de anomalías de pieza media).

Los mayores porcentajes ( $P < 0.05$ ) de colas anormales fueron observados en enero en ambos grupos (10 ± 0.1 y 16.8 ± 1.2% en los grupos CM y CN, respectivamente, Figura 2C). Cuando se analizaron las anomalías específicas de cola independientemente del plano nutricional (Cuadro 2), el máximo porcentaje de espermatozoides con torsiones simples fue observado en enero (12.7 ± 0.5%) cuando aumentó en forma marcada con

respecto al mes anterior (diciembre: 0.6 ± 0.05%) para luego bajar al siguiente mes (febrero: 3.8 ± 0.3). Por su parte, el porcentaje de espermatozoides con torsiones dobles fue máximo en febrero (2.0 ± 0.2%). Las anomalías de cola fueron las alteraciones más frecuentemente observadas en todo el trabajo (31%), siendo las torsiones simples la anomalía específica más común (73% del total de anomalías de cola). El porcentaje de espermatozoides con gota citoplasmática distal sufrió fluctuaciones a lo largo del año observándose en ambos grupos valores altos ( $P < 0.05$ ) desde septiembre a febrero exceptuando el mes de octubre (Cuadro 3). Esta alteración fue la segunda más frecuente (23% del total de anomalías).

Las anomalías que no fueron influenciadas por ninguno de los factores estudiados se presentan en el Cuadro 1 (porcentaje de cabezas piriformes, cabezas sueltas anormales y estrechos en la base), Cuadro 2 (porcentaje de colas enrolladas), y Cuadro 3 (espermatozoides con gota citoplasmática proximal y cabezas sueltas normales). Los porcentajes de espermatozoides con gota citoplasmática proximal y las cabezas sueltas normales representaron respectivamente 7 y 11% del total de anomalías observadas a lo largo del trabajo. Las correlaciones entre porcentaje de anomalías de cabeza y horas luz del mes correspondiente a la colección de semen, del mes anterior y de dos meses antes, fueron 0.80 ( $P < 0.001$ ), 0.73 ( $P < 0.001$ ) y 0.66

**Cuadro 3.** Porcentaje de espermatozoides con gota citoplasmática proximal y distal y cabezas sueltas normales por mes de colección.

Mes	Gota citoplasmática proximal (%)	Gota citoplasmática distal (%)	Cabezas sueltas normales (%)
Marzo	2,55 ± 0,79	2,00 <sup>bc</sup> ± 0,24	2,30 ± 0,32
Abril	2,30 ± 0,40	2,85 <sup>bc</sup> ± 0,51	2,70 ± 0,40
Mayo	0,35 ± 0,05	2,75 <sup>bc</sup> ± 0,52	1,35 ± 0,30
Junio	0,30 ± 0,03	2,85 <sup>bc</sup> ± 0,46	1,50 ± 0,30
Julio	0,40 ± 0,10	0,35 <sup>c</sup> ± 0,10	1,45 ± 0,13
Agosto	0,23 ± 0,06	0,20 <sup>c</sup> ± 0,06	1,00 ± 0,14
Septiembre	0,65 ± 0,07	7,10 <sup>a</sup> ± 1,10	0,45 ± 0,08
Octubre	0,45 ± 0,14	0,60 <sup>c</sup> ± 0,09	0,70 ± 0,06
Noviembre	2,35 ± 0,49	7,60 <sup>a</sup> ± 0,92	1,05 ± 0,13
Diciembre	0,50 ± 0,09	4,20 <sup>ab</sup> ± 0,40	0,40 ± 0,05
Enero	1,80 ± 0,35	6,35 <sup>a</sup> ± 0,95	5,55 ± 1,60
Febrero	2,20 ± 0,38	7,35 <sup>a</sup> ± 1,34	3,30 ± 0,54

Literales diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.05)

(P<0.019), respectivamente. El porcentaje de cabezas sueltas anormales y acrosomas dañados fueron las variables que presentaron mayor correlación con las horas luz del mes de colección ( $r = 0.81$  y  $0.70$ , respectivamente;  $P < 0.01$ ), del mes anterior ( $r = 0.75$  y  $0.64$ , respectivamente;  $P < 0.03$ ) y de dos meses antes de la colección ( $r = 0.74$  y  $0.58$ , respectivamente,  $P < 0.05$ ). También, se encontraron correlaciones significativas entre el porcentaje de anomalías de cabeza y temperatura máxima registradas en el mes de colección ( $r = 0.64$ ;  $P < 0.002$ ). El porcentaje de cabezas sueltas normales y la temperatura del mes de colección y del mes anterior también fueron altas y significativas ( $r = 0.67$  y  $0.60$ ;  $P < 0.07$ ) pero no se encontró correlación significativa ( $P > 0.1$ ) entre estas variables y las horas luz.

## DISCUSIÓN

El plano nutricional no afectó la morfología espermática, excepto el porcentaje de espermatozoides abaxiales que fue mayor en los carneros pastoreando pasturas mejoradas que campo nativo. La suplementación incrementa la producción espermática en carneros (Salamon, 1964; Kheradmand y col., 2006), pero los efectos sobre la calidad del semen no son evidentes. La suplementación no afectó el porcentaje de espermatozoides vivos/muertos (Fernández y col., 2004; Kheradmand y col., 2006), ni mejoró la motilidad o la morfología espermática (Salamon, 1964). Aún más, nuestro equipo (Bielli y col., 1997) no observó cambios

en los porcentajes de anomalías en carneros y condiciones similares. En el presente trabajo, si bien, las medias entre tratamientos difirieron estadísticamente, sólo en octubre el porcentaje de espermatozoides abaxiales observados superó el 1%.

Por el contrario, el mes de colección afectó la morfología espermática; sólo los porcentajes de espermatozoides con cabeza piriforme, con gota citoplasmática proximal y cabezas sueltas (normales y anormales) y estrechos en la base no fueron influidos por este factor. En términos generales, los porcentajes de alteraciones espermáticas aumentaron en primavera y lograron los máximos valores en verano. El aumento de las anomalías espermáticas coincidió con el incremento del PV y CE. El crecimiento de la CE y el PV en carneros en primavera había sido previamente reportado por nuestro grupo (Pérez-Clariget y col., 1997, 1998) y es reflejo de la mayor disponibilidad y calidad de pasturas, tanto nativas como mejoradas, que se da naturalmente en primavera en la región (Berreta y col., 1994). Es improbable que una mejora en el plano nutricional sea responsable del incremento en el porcentaje de anomalías espermáticas observadas, por lo que, otros factores como el fotoperiodo y la temperatura incluidos en el efecto mes, deben haber influido negativamente sobre la espermatogénesis y su efecto no pudo ser contrarrestado por una mejor alimentación. Sin embargo, si tenemos en cuenta el tiempo que transcurre en la for-

mación de un espermatozoide antes de ser eyaculado (Ortavant, 1958; Setchel, 1977), los espermatozoides colectados en parte de la primavera fueron formados en invierno, cuando la disponibilidad y calidad del forraje es menor (Formoso y Castrillejo, 1989; Berreta y col., 1994), pero, esta disminución no se vio reflejada en cambios en el PV.

El efecto del fotoperiodo sobre el porcentaje de espermatozoides anormales en el semen de carnero ha sido descrito por diferentes autores trabajando en latitudes altas del hemisferio norte y con razas con gran dependencia de las horas luz (Colas, 1980; Mickelsen y col., 1981), así como en carneros Corriedale en latitudes similares a las del presente trabajo (Nonato-Girao y Mies-Filho, 1985) y en Uruguay (Pérez-Clariget y col., 1997). También se ha descrito el efecto detrimental de las altas temperaturas sobre la espermatogénesis tanto en modelos experimentales (Williamson, 1974; Manco y col., 2000) como en trabajos de campo (Dutt y Simpson, 1957; Cupps y col., 1960). Sin embargo, existen variaciones entre razas en cuanto a la termo resistencia (Carmenate y Gamcik, 1982; Taha y col., 2000) o la fotodependencia (Martin y col., 2002). Las razas altamente fotodependientes y a latitudes alejadas del Ecuador presentan los mayores porcentajes de anomalías espermáticas fundamentalmente en primavera, reflejando la alteración de la espermatogénesis en respuesta al fotoperiodo adverso (Colas, 1980; Mickelsen y col., 1981). En nues-

tro trabajo, los mayores porcentajes de anomalías fueron observados en verano, en los meses de mayor calor (diciembre a febrero). Aún más, las anomalías de cabeza estuvieron asociadas a la media de temperatura máxima del mes correspondiente a la colección del eyaculado ( $r: 0.71; P<0.009$ ) También es de notar que el mayor porcentaje de colas con torsión simple fue observado en enero. Temperaturas de 37.9°C (Manco y col., 2000) o 40°C (Williamson 1974) aplicadas directamente al escroto provocaron un aumento de las anomalías de cabeza, cabezas sueltas y de cola observado dos a tres semanas después de aplicado el shock térmico (Williamson, 1974; Manco y col., 2000). Las temperaturas del verano (temperatura máximas media: 29.1°C, 30.9°C, 29.4°C en diciembre, enero y febrero, respectivamente) muy probablemente contribuyeron al aumento de anomalías observadas en ese periodo, confirmando que la espermatogénesis en esta raza es susceptible a las altas temperaturas como había sido señalado por Carmenate y Gamcik (1982) quienes observaron que en Cuba las altas temperaturas influían el porcentaje de anomalías de cabeza y total en carneros Corriedale pero no en carneros Pelibuey. Sin embargo, se debe tener en cuen-

ta que los espermatozoides que se observan en el eyaculado son formados varias semanas antes, como ya se dijo, por lo que no se puede descartar el efecto detrimental del fotoperiodo, más teniendo en cuenta que las anomalías de cabeza estuvieron asociadas a las horas luz tanto del mes correspondiente como con las del mes anterior a la colección del eyaculado ( $r: 0.66, P<0.019$ , y  $0.73, P<0.008$ , para el mes correspondiente, y el mes anterior, respectivamente). Teniendo en cuenta que las anomalías de cabeza son producto de alteraciones de la espermatogénesis, es posible plantear que en los carneros Corriedale en condiciones pastoriles en latitudes intermedias, el fotoperiodo inhibitorio de primavera interfiere la espermatogénesis pero que esta influencia no es tan marcada como en otras razas más fotodependientes. Por último, existió una variación individual entre carneros en la mayoría de las anomalías estudiadas ( $P<0.01$ ), evidenciando respuestas de diferente intensidad a los estímulos a los que los carneros estaban sometidos.

Independientemente del mes, las anomalías más frecuentemente observadas fueron las de cola, seguidas de espermatozoides con gota citoplasmática distal y

las anomalías de cabeza que representaron juntas 75% del total de las anomalías observadas. Las anomalías específicas más frecuentes fueron espermatozoides con gota citoplasmática distal y con torsión simple de cola sumando entre ellas casi 50% del total de anomalías observadas en todo el trabajo. Las anomalías de cola han sido reportadas como las más frecuentes también por otros autores (Colas, 1980; Mickelsen y col. 1981; Stefanov y col., 2009).

Los resultados del presente trabajo sugieren que los carneros en condiciones pastoriles y latitudes intermedias responden al incremento de la disponibilidad y calidad del forraje de primavera aumentando el tamaño testicular. Sin embargo, el fotoperiodo inhibitorio de esa estación altera la espermatogénesis, reflejado en un incremento de anomalías de cabeza, sin llegar a los niveles que presentan razas altamente fotodependientes a latitudes elevadas y son sensibles a las altas temperaturas del verano; es en esta estación cuando se registraron los máximos valores de anomalías espermáticas, sin que un mejor plano nutricional modificara el efecto de estos factores.

## Referencias Bibliográficas

- Almeida, A.; Schwalbach, L.; Cardoso, I.; Greyling, J.** (2007). Scrotal, testicular and semen characteristics of young Boer bucks fed winter veld hay: The effect of nutritional supplementation. *Small Ruminant Research* 73 (1):216-220.
- Barth, A.D.; Oko, R. J.** (1989). Abnormal morphology of bovine spermatozoa. Ames Iowa, Ed. Iowa State University Press, Ames Iowa, 291 p.
- Berreta, E.J.; San Julián, R.; Montossi, F.; Silva, J.A.** (1994). Natural pastures and sheep production in the basaltics regions in Uruguay. Proc. IV World Merino Congress, April, Montevideo, Uruguay, pp. 245-261.
- Bielli, A.; Gastel, T.; Pérez, R.; López, A.; Castrillejo, A.; Regueiro, M.; Forsberg, M.; Lundeheim, N.; Rodríguez-Martínez, H.** (1997). Influence of nutrition on seasonal variations in testicular morphology and function in Corriedale rams. *J. Reprod. Dev.* 43(2):171-180.
- Carmenate, P.C.; Gamcik, P.** (1982). Effect of some climatic factors on the physical and morphological properties of ram semen. *Folia Veter.* 26:65-75.
- Colas, G.** (1980). Variations saisonnières de la qualité du sperme chez la bélier Ile-de-France. I. Etude de la morphologie cellulaire et de la motilité massale. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 20(6):1789-1799.
- Cupps, P. T.; McGowan, B.; Rahlmann, D. F.; Reddon, A. R.; Weir, W. C.** (1960). Seasonal changes in the semen of rams. *J. Anim. Sci.* 19:208-213.
- Dutt, H.; Simpson, E.C.** (1957). Environmental temperature and fertility of Southdown rams early in the breeding season. *J. Anim. Sci.* 16:136-143.
- Fernández, F.; Giráldez, P.; Frutos, P.; Lavín, A.; Mantecón.** (2004). Effect of undegradable protein supply on testicular size, spermogram parameters and sexual behavior of mature Assaf rams. *Theriogenology* 62(12): 299-310.
- Fourie, P.J.; Schwalbach, L.M.; Naser, F.W.C.; Van der Westhuizen, C.** (2004). Scrotal, testicular and semen characteristics of young Dorper rams managed under intensive and extensive conditions. *Small Ruminant Research* 54:53-59.
- Formoso, D.; Castrillejo, A.** (1989). Selectividad ovina en sistemas intensivos de pastoreo. *Producción Ovina* 2:1-9.

- Gastel M.T.; Bielli, A., Pérez, R.; López, A.; Castrillejo, A.; Tagle, R.; Franco, J.; Laborde, D.; Forsberg, M.; Rodríguez-Martínez, H.** (1995). Seasonal variations in testicular morphology in Uruguayan Corriedale rams. *Anim. Reprod. Sci.* 40(1): 59-75.
- Hulet, C.V.; Foote, W.C.; Blackwell, R.L.** (1965). Relationship of semen quality and fertility in the ram to fecundity in the ewe. *J.Reprod.Fertil.* 9:311-315.
- Kheradmand, A.; Babaei, H.; Batavani, R.A.** (2006). Effect of improved diet on semen quality and scrotal circumference in the ram. *Vet. Arhiv.* 76:333-341
- Lagerlöf N.** (1934). Researches concerning morphologic changes in the semen picture and in the testicles of sterile and subfertile bulls. *Acta Path. Microbiolog. Scand. Suppl.* 19: 254-267.
- Lagerlöf, N.** (1938). Infertility in male domestic animals. *Vet. Med.* 33:550-61.
- Manco M, Y; Leyva V, V; Camacho S, J; Cueva M, S.** (2000). Efecto de la temperatura escrotal sobre el comportamiento sexual y la calidad de semen de ovinos Pelibuey y Merino Precoz Alemán. *Rev. Inv. Vet. Perú* 1:153-162.
- Marco-Jiménez, F.; Puchades, S.; Gadea, J.; Vicente, J.S.; Viudes-de-Castro, M.P.** (2005). Effect of semen collection method on pre and post-thaw Guirra ram spermatozoa. *Theriogenology* 64 (8): 1756-1765.
- Martin, G.B; Hötzel, M.J.; Bache, D.; Walkden-Brown, S.W.; Bñackberry, M.A.; Boukhliq, R.; Fisher, J.S.; Miller, D.W.** (2002). Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Suffolk sheep: modification of responses to photoperiod by annual cycle in food supply. *Reproduction, Fertility and Development* 14(3):165-175.
- Mickelsen, W.D.; Paisley, L.G.; Dahmen, J.J.** (1981). The effect of season on the scrotal circumference and sperm motility and morphology in rams. *Theriogenology* 16(1):45-51.
- Nonato-Girao, R.; Mies-Filho, A.** (1985). Características do semen de carneiros Corriedale mantidos em fotoperíodo e temperatura controlados e naturais. *Pesq. Agropec. Brás. Brasília* 20:1395-1407.
- Ortavant, R.** (1958). Lê cycle spermatogénétique chez lé bélier. These Doct. Sci. Université de Paris, Paris, France.
- Pérez-Clariget, R.; López, A.; Castrillejo, A.; Bielli, A.; Laborde, D.; Gastel, T.; Tagle, R.; Queirolo, D.; Franco, J.; Forsberg, M.; Rodríguez-Martínez, H.** (1997). Reproductive seasonality of Corriedale rams under extensive rearing conditions. *Acta Vet. Scand.* 38(1):109-117.
- Pérez-Clariget R., Forsberg M., Rodríguez-Martínez H.** (1998). Seasonal variation in live weight, testes size, testosterone, LH secretion, melatonin and thyroxine in Merino and Corriedale rams in a subtropical climate. *Acta Vet. Scand.* 39(1): 35-47.
- Setchell, B. P.** (1977). Male reproductive organs and semen. En: Cole H.H., Cupps P. T, *Reproduction in Domestic Animals*, Third ed., New York, Academic Press pp 229-25.
- Salamon, S.** (1964). The effect of nutritional regimen on the potential semen production of rams. *Aust. J. Agric. Res.* 15(4):645 – 656.
- Stefanov, R.; Sabev, M; Nikolov, I.; Anev, G. ; Ivanova-Kicheva, M.; Miteva, K.; Lazov, K.** (2009). Influence of some natural-climatic factors on the sperm production of northeast Bulgarian fine-fleece breed. *Biotechnology in Animal Husbandry* 25:695-701.
- Sullivan, J.J.** 1977. Morphology and motility of spermatozoa. En: Salibury, G. W.; Van Denmark, N.L. and Lodge, J.R. (Eds), *Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle*, Second Edition, W.H.Freeman and Company, San Francisco, pp 286-328.
- Taha T. A.; Abdel-Gawad, E. I.; Ayoub, M. A.** (2000). Monthly variations in some reproductive parameters of Barki and Awassi rams throughout 1 year under subtropical conditions 1. Semen characteristics and hormonal levels. *Anim. Sci.* 71:317-324.
- Williams, W.W.** (1920). Technique of collecting semen for laboratory examination with a review of several diseased bulls. *Cornell Vet.* 10: 87-94.
- Williamson, P.** (1974). The fine structure of ejaculated ram spermatozoa following scrotal heating. *J.Reprod. Fert.* 40:191-195.