

<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	I
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	VIII
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	XIII
<b>ÍNDICE DE ABREVIATURAS</b> .....	XV
<b>1.-INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2.-REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	7
2.1. Crecimiento y desarrollo testicular.....	8
2.1.1. Métodos de estimación.....	9
2.1.2. Factores de variación.....	12
2.1.2.1. Raza.....	12
2.1.2.2. Alimentación.....	14
2.1.2.3. Fotoperiodo.....	21
2.1.2.4. Otros.....	24
2.2. Capacidad de servicio.....	25
2.2.1. Métodos de valoración.....	26
2.2.2. Factores de variación.....	28
2.2.2.1. Raza.....	28
2.2.2.2. Edad.....	29
2.2.2.3. Alimentación.....	30
2.2.2.4. Fotoperiodo.....	32
2.2.2.5. Otros.....	33
2.3. Calidad del semen.....	37
2.3.1. Métodos de extracción de semen.....	37
2.3.2. Métodos de valoración.....	39

2.3.2.1. Volumen del eyaculado.....	40
2.3.2.2. Concentración de espermatozoides.....	40
2.3.2.3. Motilidad masal e individual. ....	42
2.3.2.4. Anomalías morfológicas.....	44
2.3.2.5. Otros parámetros.....	45
2.3.3. Factores de variación.....	46
2.3.3.1. Raza.....	46
2.3.3.2. Edad. ....	47
2.3.3.3. Alimentación.....	48
2.3.3.4. Fotoperiodo.....	50
2.3.3.5. Otros.....	52
<b>3.-OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>54</b>
3.1. Objetivos.....	55
3.2. Planteamiento experimental.....	56
3.2.1. Prueba 1.....	56
3.2.2. Prueba 2.....	58
<b>4.-MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>61</b>
4.1. Prueba 1. ....	62
4.1.1. Animales.....	62
4.1.2. Alimentos. ....	63
4.1.3. Desarrollo experimental. ....	65
4.1.4. Incubación <i>in sacco</i> .....	68
4.1.5. Estimación de la digestibilidad.....	70
4.1.6. Análisis del semen.....	71
4.1.7. Determinaciones analíticas.....	73
4.1.7.1. Alimentos y restos no consumidos.....	73

4.1.7.2. Residuos de las incubaciones <i>in sacco</i> .....	74
4.1.7.3. Hormonas.....	75
4.1.8. Cálculos y ajustes matemáticos.....	75
4.1.8.1. Cinética de degradación y degradabilidad efectiva.....	75
4.1.8.2. Crecimiento testicular.....	76
4.1.9. Análisis estadístico.....	77
4.1.9.1. Ingestión.....	77
4.1.9.2. Peso vivo y ganancia de peso.....	79
4.1.9.3. Concentración plasmática de hormonas.....	80
4.1.9.4. Crecimiento testicular.....	81
4.1.9.5. Características del semen.....	81
4.2. Prueba 2.....	83
4.2.1. Animales.....	83
4.2.2. Alimentos.....	84
4.2.3. Desarrollo experimental.....	85
4.2.4. Análisis del semen.....	87
4.2.5. Determinaciones analíticas.....	87
4.2.5.1. Alimentos.....	87
4.2.5.2. Hormonas.....	88
4.2.6. Análisis estadístico.....	88
4.2.6.1. Ganancia de peso vivo.....	88
4.2.6.2. Concentración plasmática de hormonas.....	89
4.2.6.3. Circunferencia escrotal y volumen testicular.....	90
4.2.6.4. Características del semen y capacidad de servicio.....	90

<b>5.-RESULTADOS</b> .....	92
5.1. Prueba 1. ....	93
5.1.1. Ingestión. ....	93
5.1.1.1. Primer periodo. ....	93
5.1.1.2. Segundo periodo. ....	95
5.1.1.3. Tercer periodo.....	96
5.1.2. Variaciones de peso vivo.....	97
5.1.2.1. Primer periodo. ....	97
5.1.2.2. Segundo periodo. ....	97
5.1.2.3. Tercer periodo.....	98
5.1.3. Concentración plasmática de hormonas.....	99
5.1.3.1. Hormona luteinizante (Lh).....	99
5.1.3.1.1. Primer periodo. ....	99
5.1.3.1.2. Segundo periodo.....	100
5.1.3.1.3. Tercer periodo. ....	101
5.1.3.2. Hormona folículoestimulante (Fsh). ....	101
5.1.3.2.1. Primer periodo. ....	101
5.1.3.2.2. Segundo periodo.....	102
5.1.3.2.3. Tercer periodo.....	103
5.1.3.3. Testosterona. ....	104
5.1.3.3.1. Primer periodo. ....	104
5.1.3.3.2. Segundo periodo.....	105
5.1.3.3.3. Tercer periodo .....	106
5.1.3.4. Relaciones entre la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona.....	106
5.1.4. Crecimiento de los testículos.....	109

5.1.4.1. Circunferencia escrotal. ....	109
5.1.4.1.1. Primer periodo: valores observados. ....	109
5.1.4.1.2. Segundo periodo: valores observados. ....	110
5.1.4.1.3. Tercer periodo: valores observados.....	111
5.1.4.1.4. Parámetros estimados con el modelo logístico.....	112
5.1.4.2. Volumen testicular. ....	115
5.1.4.2.1. Primer periodo: valores observados. ....	115
5.1.4.2.2. Segundo periodo: valores observados. ....	116
5.1.4.2.3. Tercer periodo: valores observados.....	117
5.1.4.2.4. Parámetros estimados con el modelo logístico.....	117
5.1.4.3. Relaciones entre la circunferencia escrotal, el volumen testicular y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona en cada periodo. ....	120
5.1.5. Calidad del semen. ....	121
5.1.5.1. Relaciones entre las características del semen, la circunferencia escrotal, el volumen testicular y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona al final del tercer periodo experimental. ....	123
5.2. Prueba 2. ....	125
5.2.1. Ingestión y variaciones de peso vivo.....	125
5.2.2. Concentración plasmática de hormonas. ....	126
5.2.2.1. Hormona luteinizante (Lh).....	126
5.2.2.2. Hormona folículoestimulante (Fsh). ....	127
5.2.2.3. Testosterona. ....	128
5.2.2.4. Relaciones entre la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona. ....	129
5.2.3. Evolución del tamaño de los testículos. ....	132
5.2.3.1. Circunferencia escrotal y volumen testicular.....	132

5.2.3.2. Relaciones entre la circunferencia escrotal, volumen testicular, peso vivo y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona. ....	134
5.2.4. Calidad del semen. ....	135
5.2.4.1. Volumen de eyaculado, concentración y cantidad total de espermatozoides.....	135
5.2.4.2. Otras características del semen. ....	137
5.2.4.3. Relaciones entre las características del semen, la circunferencia escrotal, el volumen testicular y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona.....	139
5.2.4.3.1. Semana 5.....	139
5.2.4.3.2. Semana 9.....	141
5.2.5. Capacidad de servicio.....	143
5.2.5.1. Relaciones entre los parámetros registrados en las pruebas de capacidad de servicio, la circunferencia escrotal, el volumen testicular, las características del semen y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona. ....	144
5.2.5.1.1. Semana 6.....	144
5.2.5.1.2. Semana 10.....	146
<b>6.-DISCUSIÓN.....</b>	<b>148</b>
6.1. Prueba 1. ....	149
6.1.1. Ingestión. ....	149
6.1.1.1. Primer periodo. ....	149
6.1.1.2. Segundo periodo. ....	153
6.1.2. Variaciones de peso vivo.....	159
6.1.2.1. Primer periodo. ....	159
6.1.2.2. Segundo periodo. ....	162
6.1.3. Concentración plasmática de hormonas. ....	166
6.1.3.1. Hormona Lh. ....	166
6.1.3.2. Hormona Fsh.....	170

6.1.3.3. Testosterona.....	172
6.1.4. Crecimiento testicular.....	175
6.1.5. Calidad del semen. ....	179
6.2. Prueba 2. ....	183
6.2.1. Variaciones de peso vivo.....	183
6.2.2. Perfil hormonal.....	186
6.2.3. Tamaño testicular. ....	190
6.2.4. Calidad del semen. ....	196
6.2.5. Capacidad de servicio.....	201
<b>7.-CONCLUSIONES</b> .....	<b>205</b>
<b>8.-RESUMEN</b> .....	<b>208</b>
<b>9.-BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>215</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

### Página

<b>Tabla I:</b> Grado de precocidad y edad de inicio de la etapa de crecimiento rápido de los testículos en distintos genotipos ovinos.....	13
<b>Tabla II:</b> Circunferencia escrotal (CE) en machos adultos de diferentes razas. ....	13
<b>Tabla III:</b> Variación estacional del diámetro de los testículos (mm) en machos adultos de diferentes razas. ....	23
<b>Tabla IV:</b> Variación estacional de la concentración plasmática de Fsh y de testosterona en moruecos. ....	23
<b>Tabla V:</b> Coeficientes de variación de diferentes parámetros del comportamiento sexual de los moruecos.....	29
<b>Tabla VI:</b> Peso y edad media de los corderos pertenecientes a cada grupo experimental al inicio del ensayo.....	62
<b>Tabla VII:</b> Composición del pienso que recibieron los animales durante las dos semanas anteriores al experimento (g/100 g de pienso). ....	63
<b>Tabla VIII:</b> Contenido de materia seca (MS), materia orgánica (MO), fibra neutro detergente (FND), proteína bruta (PB), proteína degradable (PDR) y no degradable (PNDR) en el rumen y de energía metabolizable (M/D) de la paja de cebada, del heno de prado y de los piensos con bajo (B) y alto (A) contenido en proteína bruta, utilizados en la primera prueba experimental.....	64
<b>Tabla IX:</b> Composición del diluyente utilizado en la preparación del semen. ....	72
<b>Tabla X:</b> Colorante utilizado en el estudio de las anomalías morfológicas de los espermatozoides. ....	73
<b>Tabla XI:</b> Valores medios del peso (PV), circunferencia escrotal (CE) y volumen testicular (VT) al inicio del ensayo para cada grupo experimental.....	83
<b>Tabla XII:</b> Contenido de materia seca (MS), materia orgánica (MO), fibra neutro detergente (FND), proteína bruta (PB), proteína degradable (PDR) y proteína no degradable (PNDR) en el rumen y de energía metabolizable (M/D) de la paja de cebada y de los piensos con bajo (B), medio (M) y alto (A) contenido de proteína bruta, utilizados en la segunda prueba experimental.....	84

<b>Tabla XIII:</b> Valores medios de consumo (g MS/animal y día) de pienso y de paja de cebada en el primer periodo correspondientes a cada grupo experimental.....	93
<b>Tabla XIV:</b> Valores medios de consumo (g MS/animal y día) de pienso y de paja de cebada en el segundo periodo correspondientes a cada grupo experimental.....	95
<b>Tabla XV:</b> Ganancia diaria de peso (IPV) durante el primer periodo y peso vivo (PV) al final del mismo, para cada grupo experimental. ....	97
<b>Tabla XVI:</b> Ganancia diaria de peso (IPV) durante el segundo periodo y peso vivo al final del mismo, para cada grupo experimental. ....	98
<b>Tabla XVII:</b> Valores medios de la concentración plasmática de Lh (ng/ml) en el primer periodo, para cada grupo experimental. ....	99
<b>Tabla XVIII:</b> Valores medios de la concentración plasmática de Lh (ng/ml) en el segundo periodo, para cada grupo experimental. ....	100
<b>Tabla XIX:</b> Valores medios de la concentración plasmática de Fsh (ng/ml) en el primer periodo, para cada grupo experimental. ....	102
<b>Tabla XX:</b> Valores medios de la concentración plasmática de Fsh (ng/ml) en el segundo periodo, para cada grupo experimental. ....	103
<b>Tabla XXI:</b> Valores medios de la concentración plasmática de testosterona (ng/ml) en el primer periodo, para cada grupo experimental. ....	104
<b>Tabla XXII:</b> Valores medios de la concentración plasmática de testosterona (ng/ml) en el segundo periodo, para cada grupo experimental. ....	105
<b>Tabla XXIII:</b> Coeficientes de correlación entre la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, para cada grupo experimental. ....	106
<b>Tabla XXIV:</b> Valores medios de la circunferencia escrotal (cm) correspondientes al primer periodo, para cada grupo experimental. ....	109
<b>Tabla XXV:</b> Valores medios de la circunferencia escrotal (cm) en el segundo periodo, para cada grupo experimental.....	111
<b>Tabla XXVI:</b> Valores medios de la circunferencia escrotal inicial (CEI), circunferencia escrotal final (CEF) y coeficiente de proporcionalidad ( $\mu$ ), para cada grupo experimental. ....	112
<b>Tabla XXVII:</b> Valores medios del volumen testicular (cc) en el primer periodo, para cada grupo experimental. ....	115

<b>Tabla XXVIII:</b> Valores medios del volumen testicular (cc) en el segundo periodo, para cada grupo experimental. ....	116
<b>Tabla XXIX:</b> Valores medios del volumen testicular inicial (VTI), volumen testicular final (VTF) y coeficiente de proporcionalidad ( $\mu$ ), para cada grupo experimental.....	117
<b>Tabla XXX:</b> Coeficientes de correlación entre la circunferencia escrotal (CE), el volumen testicular (VT), el peso vivo (PV) y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona en cada periodo experimental.....	121
<b>Tabla XXXI:</b> Valores medios de las características de los eyaculados: Volumen (VE), concentración de espermatozoides en el eyaculado (CC), cantidad total de espermatozoides en el eyaculado (CTE), porcentaje de espermatozoides vivos (PEV) y de espermatozoides con anomalías morfológicas (PEA), motilidad masal (MM) y motilidad individual (MI), para cada grupo experimental.....	122
<b>Tabla XXXII:</b> Análisis de varianza de las características de los eyaculados: Volumen (VE), concentración de espermatozoides en el eyaculado (CC), cantidad total de espermatozoides en el eyaculado (CTE), porcentaje de espermatozoides vivos (PEV) y de espermatozoides con anomalías morfológicas (PEA), motilidad masal (MM) y motilidad individual (MI). ....	123
<b>Tabla XXXIII:</b> Coeficientes de correlación entre las características del semen, la circunferencia escrotal (CE), el volumen testicular (VT) y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona (Tes).....	124
<b>Tabla XXXIV:</b> Valores medios de la variación de peso (kg) entre el inicio y la quinta y entre la quinta y la novena semanas del ensayo, para cada grupo experimental. ....	125
<b>Tabla XXXV:</b> Evolución de la concentración plasmática de Lh (ng/ml) a lo largo del ensayo, para cada grupo experimental. ....	126
<b>Tabla XXXVI:</b> Evolución de la concentración plasmática de Fsh (ng/ml) a lo largo del ensayo, para cada grupo experimental. ....	128
<b>Tabla XXXVII:</b> Evolución de la concentración plasmática de testosterona (ng/ml) a lo largo del ensayo, para cada grupo experimental.....	129
<b>Tabla XXXVIII:</b> Coeficientes de correlación entre la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, para cada grupo experimental. ....	130
<b>Tabla XXXIX:</b> Valores medios de la circunferencia escrotal (cm) en las semanas 1, 5 y 9 del ensayo, para cada grupo experimental.....	132

<b>Tabla XL:</b> Valores medios del volumen testicular (cc) en las semanas 1, 5 y 9 del ensayo, para cada grupo experimental. ....	133
<b>Tabla XLI:</b> Coeficientes de correlación entre la circunferencia escrotal (CE), el volumen testicular (VT), el peso vivo (PV) y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona en las semanas 1, 5 y 9 del ensayo experimental. ....	134
<b>Tabla XLII:</b> Valores medios del volumen de eyaculado (VE), concentración (CC) y cantidad total de espermatozoides (CTE) en las semanas 5 y 9 del ensayo, para cada grupo experimental.....	136
<b>Tabla XLIII:</b> Análisis de varianza de las características de los eyaculados: Volumen (VE), concentración (CC) y cantidad total de espermatozoides en el eyaculado (CTE). ....	137
<b>Tabla XLIV:</b> Valores medios de las características del semen: Motilidad masal (MM), motilidad individual (MI), porcentaje de espermatozoides vivos (PEV) y de espermatozoides con anomalías morfológicas (PEA) en las semanas 5 y 9 del ensayo, para cada grupo experimental. ....	138
<b>Tabla XLV:</b> Análisis de varianza de las características de los eyaculados: Motilidad masal (MM), motilidad individual (MI), porcentaje de espermatozoides vivos (PEV) y de espermatozoides con anomalías morfológicas (PEA) en las semanas 5 y 9 del ensayo.....	139
<b>Tabla XLVI:</b> Coeficientes de correlación entre las características del semen, la circunferencia escrotal (CE), el volumen testicular (VT) y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona (Tes), en la semana 5 del ensayo experimental. ....	140
<b>Tabla XLVII:</b> Coeficientes de correlación entre las características del semen, la circunferencia escrotal (CE), el volumen testicular (VT) y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, en la semana 9 del ensayo experimental. ....	141
<b>Tabla XLVIII:</b> Valores medios de los parámetros registrados en las pruebas de capacidad de servicio: Montas sin eyaculación (MSE), montas con eyaculación (MCE) y tiempo de reacción (TR) en las semanas 6 y 10 del ensayo, para cada grupo experimental.....	143
<b>Tabla IL:</b> Análisis de varianza de los parámetros registrados en las pruebas de capacidad de servicio: Montas sin eyaculación (MSE), montas con eyaculación (MCE) y tiempo de reacción (TR). ....	144
<b>Tabla L:</b> Coeficientes de correlación entre los parámetros registrados en las pruebas de capacidad de servicio, la circunferencia escrotal (CE), el	

volumen testicular (VT), las características del semen y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, en la semana 6 del ensayo experimental..... 145

**Tabla LI:** Coeficientes de correlación entre los parámetros registrados en las pruebas de capacidad de servicio, la circunferencia escrotal (CE), el volumen testicular (VT), las características del semen y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, en la semana 10 del ensayo experimental..... 146

**Tabla LII:** Valores de ganancia de peso para corderos de distintas razas alimentados a voluntad con forraje y piensos con diferente contenido de proteína bruta (PB). ..... 159

## ÍNDICE DE FIGURAS

### Página

<b>Figura I:</b> Evolución de la ingestión de pienso durante el primer periodo del experimento, para cada grupo experimental. ....	94
<b>Figura II:</b> Evolución de la ingestión de pienso durante el primer y segundo periodo del experimento, para cada grupo experimental. ....	96
<b>Figura III:</b> Evolución de la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, a lo largo del ensayo experimental en el grupo BB. ....	107
<b>Figura IV:</b> Evolución de la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, a lo largo del ensayo experimental en el grupo BA. ....	107
<b>Figura V:</b> Evolución de la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, a lo largo del ensayo experimental en el grupo AA. ....	108
<b>Figura VI:</b> Evolución de la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, a lo largo del ensayo experimental en el grupo AB. ....	108
<b>Figura VII:</b> Valores observados y estimados de la circunferencia escrotal de un animal experimental perteneciente al grupo BB. ....	113
<b>Figura VIII:</b> Valores observados y estimados de la circunferencia escrotal de un animal experimental perteneciente al grupo BA. ....	113
<b>Figura IX:</b> Valores observados y estimados de la circunferencia escrotal de un animal experimental perteneciente al grupo AA. ....	114
<b>Figura X:</b> Valores observados y estimados de la circunferencia escrotal de un animal experimental perteneciente al grupo AB. ....	114
<b>Figura XI:</b> Valores observados y estimados del volumen testicular de un animal experimental perteneciente al grupo BB. ....	118
<b>Figura XII:</b> Valores observados y estimados del volumen testicular de un animal experimental perteneciente al grupo BA. ....	119
<b>Figura XIII:</b> Valores observados y estimados del volumen testicular de un animal experimental perteneciente al grupo AA. ....	119
<b>Figura XIV:</b> Valores observados y estimados del volumen testicular de un animal experimental perteneciente al grupo AB. ....	120
<b>Figura XV:</b> Evolución de la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, a lo largo del ensayo experimental en el grupo que recibió el menor aporte de proteína (Bajo). ....	130

<b>Figura XVI:</b> Evolución de la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, a lo largo del ensayo experimental en el grupo que recibió el aporte medio de proteína (Medio). .....	131
<b>Figura XVII:</b> Evolución de la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, a lo largo del ensayo experimental en el grupo que recibió el mayor aporte de proteína (Alto). .....	131
<b>Figura XVIII:</b> Evolución del consumo de pienso y del consumo de paja en uno de los animales experimentales, a lo largo del tiempo. ....	154
<b>Figura XIX:</b> Valores medios de la ingestión de materia seca total, expresada en gramos por kg de peso metabólico, para cada periodo y grupo experimental. ....	157
<b>Figura XX:</b> Valores medios de la ingestión de proteína bruta, expresada en gramos por kg de peso metabólico, para cada periodo y grupo experimental. ....	158
<b>Figura XXI:</b> Evolución del ritmo de crecimiento (IPV) en el grupo AB durante las 8 primeras semanas del segundo periodo. ....	164
<b>Figura XXII:</b> Evolución del ritmo de crecimiento (IPV) en el grupo BA durante las 8 primeras semanas del segundo periodo. ....	165
<b>Figura XXIII:</b> Evolución de la velocidad de crecimiento de la circunferencia escrotal en los grupos BB y AA. ....	177
<b>Figura XXIV:</b> Relación entre el peso vivo y la circunferencia escrotal en cada uno de los grupos experimentales (datos correspondientes a un animal experimental de cada grupo experimental). ....	178
<b>Figura XXV:</b> Relación entre el incremento de peso vivo (IPV, g/día) y el incremento de circunferencia escrotal (ICE, cm/día) de los animales durante el primer periodo experimental. ....	191
<b>Figura XXVI:</b> Relación entre la circunferencia escrotal (CE) y la producción espermática (espermatozoides/eyaculado) en la semana 5 del experimento. ....	199

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>CC</b> .....	Concentración de espermatozoides en el eyaculado
<b>CE</b> .....	Circunferencia escrotal
<b>CEF</b> .....	Circunferencia escrotal final
<b>CEI</b> .....	Circunferencia escrotal inicial
<b>CTE</b> .....	Cantidad total de espermatozoides en el eyaculado
<b>CV</b> .....	Coefficiente de variación
<b>DE</b> .....	Degradabilidad efectiva
<b>FND</b> .....	Fibra neutro detergente
<b>Fsh</b> .....	Hormona folículoestimulante
<b>ICE</b> .....	Incremento de circunferencia escrotal
<b>IMST</b> .....	Ingestión de materia seca total
<b>IPV</b> .....	Incremento de peso vivo
<b>Lh</b> .....	Hormona luteinizante
<b>M/D</b> .....	Energía metabolizable
<b>MCE</b> .....	Número de montas con eyaculación
<b>MI</b> .....	Motilidad individual
<b>MM</b> .....	Motilidad masal
<b>MO</b> .....	Materia orgánica
<b>MOD</b> .....	Materia orgánica digestible
<b>MS</b> .....	Materia seca
<b>MSE</b> .....	Número de montas sin eyaculación
<b>PB</b> .....	Proteína bruta
<b>PDR</b> .....	Proteína degradable en el rumen
<b>PEA</b> .....	Porcentaje de espermatozoides anormales
<b>PEV</b> .....	Porcentaje de espermatozoides vivos
<b>Pienso A</b> .....	Pienso con alto contenido de proteína bruta
<b>Pienso B</b> .....	Pienso con bajo contenido de proteína bruta

**Pienso M**..... Pienso con contenido medio de proteína bruta  
**PNDR** ..... Proteína no degradable en el rumen  
**PV** ..... Peso vivo  
**Tes**..... Testosterona  
**TR**..... Tiempo de reacción  
**μ**..... Coeficiente de proporcionalidad  
**VE**..... Volumen de eyaculado  
**VT** ..... Volumen testicular  
**VTF**..... Volumen testicular final  
**VTI** ..... Volumen testicular inicial

---

## **1.- INTRODUCCIÓN**

---

En la última década, la ganadería de ovino de leche ha experimentado un profundo cambio en el modelo de producción, al que no han sido ajenas las explotaciones ganaderas de nuestra comunidad autónoma, en especial aquellas ubicadas en la provincia de León (Lavín, 1996).

En primer lugar, es necesario destacar que, en gran parte de las explotaciones, y con el objetivo de incrementar la producción de leche, se han ido sustituyendo progresivamente, por absorción, las razas autóctonas (Churra y Catellana, fundamentalmente) por razas importadas de alta producción, en especial por la raza Assaf, de la cual, en general, se dispone de muy poca información (Martinez *et al.*, 1999).

Por otra parte, además de los cambios en la raza explotada, también se ha modificado el manejo de la alimentación y de la reproducción. Así, en la alimentación se ha pasado de un modelo basado en el aprovechamiento de los recursos forrajeros propios, en gran parte mediante el pastoreo, a realizar la alimentación prácticamente “en presebre” con el empleo de elevadas cantidades de pienso en la ración, que permitan cubrir las necesidades de animales con producciones cada vez mayores.

En lo que a reproducción se refiere, en aras de aumentar la productividad de los animales, se ha incrementado el uso de técnicas, tales como la sincronización de celos o el diagnóstico de gestación mediante ecografía, que han permitido reducir el intervalo entre partos, mejorar las tasas globales de fertilidad y prolificidad de los rebaños y lograr una producción de corderos y de leche más uniforme a lo largo del año (Lavín, 1996).

Evidentemente, la fertilidad de los sementales condiciona el rendimiento reproductivo y el beneficio que se puede obtener con la aplicación de las técnicas de reproducción anteriormente citadas (Cameron y Fairnie, 1984; Greig, 1991; Broers, 1995). En la práctica, sin embargo, el manejo de los sementales no ha evolucionado en la misma medida que el de las ovejas.

Esta situación puede atribuirse, en parte, a que todavía no se conoce con precisión la importancia de todos los factores que influyen en la fertilidad masculina. Hay todavía numerosos interrogantes en lo que respecta a mecanismos de acción, interrelaciones entre distintos factores e identificación y cuantificación de fuentes de variación, a los que es necesario responder para mejorar el manejo de los sementales.

En este sentido, y a pesar de que se ha realizado un gran esfuerzo en el estudio de la interacción entre la nutrición y la reproducción de los moruecos, permanecen aún algunas cuestiones sin resolver, especialmente en lo referente a la nutrición proteica, que impiden hacer recomendaciones precisas sobre la alimentación de estos animales, tanto en el periodo de crecimiento como en la etapa adulta.

Algunos autores mantienen que, en animales adultos, la ingestión de proteína puede influir sobre algunas características reproductivas, tales como la capacidad de servicio, el tamaño de los testículos o las características del semen (Oldham *et al.*, 1978; Alkass y Bryant, 1982; Martin *et al.*, 1994b; Thwaites, 1994; Hötzel *et al.*, 1997).

Otros autores, por el contrario, consideran que aún no se conoce con precisión la relación entre la ingestión de proteína y la actividad reproductora de los sementales. En primer lugar, hay diferentes trabajos de investigación, cuyos resultados sugieren que las

características reproductivas no varían en respuesta a cambios en la ingestión de proteína (Braden *et al.*, 1974; Rowe y Murray, 1984; Brown, 1994). En segundo lugar, el diseño experimental de numerosos ensayos, cuyos resultados apoyan esta relación, no es el más apropiado y, por tanto, no permite separar el efecto debido a la ingestión de energía y de proteína (Murray *et al.*, 1990; Boukhliq *et al.*, 1997). En último lugar, llama la atención el hecho de que, en general, cambios en la ingestión de proteína no causan variaciones en la concentración plasmática de las hormonas relacionadas con la actividad reproductora (Boukhliq *et al.*, 1997).

La controversia sobre el efecto de la ingestión de proteína podría estar relacionada con el nivel de ingestión y el historial nutritivo previo; con el tipo de proteína consumida, en especial en lo que se refiere a la relación entre la proteína degradable en el rumen y la proteína no degradable en el rumen; con la duración del ensayo, ya que el tiempo necesario para observar una respuesta podría variar con diferentes factores (raza, condición corporal, relación energía/proteína, nivel de ingestión, estado de reservas corporales de proteína, etc.).

Asimismo, es obligado destacar que estudios recientes sugieren que el mecanismo de acción de la ingestión de proteína no sería de tipo hormonal (Hötzel *et al.*, 1995; Boukhliq *et al.*, 1997).

Contribuir a esclarecer esta controversia es, *per se*, un reto de investigación de gran interés, pero, además, es imprescindible para sentar las bases científicas en las que debe apoyarse la alimentación de los sementales ovinos.

En relación con el periodo de crecimiento, se sabe que la proteína microbiana sintetizada en el rumen permite desarrollar tasas moderadas de ganancia de peso, pero que es necesario aportar suficiente cantidad de proteína no degradable en la ración si se desea que los animales expresen su máximo potencial de crecimiento (Ørkovs *et al.*, 1970; Manso, 1994; Urbaniak, 1995b; Brusa, 1998).

Cuando el aporte de proteína no degradable en el rumen es insuficiente, y la ingestión de energía no es un factor limitante, se restringe el crecimiento y se favorece el engrasamiento (Lawrence y Fowler, 1997; Brusa, 1998).

Se sabe que para algunos órganos, tales como la glándula mamaria, este patrón de crecimiento es negativo, ya que el depósito de tejido adiposo puede limitar el desarrollo del tejido secretor (Johnsson y Hart, 1985; Zhang *et al.*, 1995).

En relación con los testículos no existen datos concluyentes sobre el efecto de la relación energía/proteína de la ración, aunque algunos trabajos sugieren que el exceso de energía durante la cría podría influir negativamente en la espermatogénesis y la libido cuando los animales alcanzan la madurez (Cates, 1991).

Es posible, por tanto, que la alimentación durante el periodo prepuberal influya en el crecimiento y desarrollo de los testículos, determinando el tamaño y la funcionalidad de estos órganos en la etapa adulta.

Teniendo en consideración lo anteriormente expuesto, el objetivo general del presente estudio es profundizar en el conocimiento de la interacción entre la nutrición

proteica, durante el período de crecimiento y en la etapa adulta, y la fertilidad de los sementales ovinos de raza Assaf.

---

## **2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

---

## 2.1. Crecimiento y desarrollo testicular

El crecimiento de los testículos, durante la etapa juvenil, sigue una evolución sigmoide, pudiendo distinguirse tres etapas bien diferenciadas: una fase inicial de crecimiento lento, una segunda fase de crecimiento rápido, en la cual se produce el mayor aumento de peso de los testículos, y una tercera fase de crecimiento lento, que se prolonga hasta que se alcanza el peso máximo de los testículos ( Courrot, 1962; Bénévent, 1971; Schanbacher *et al.*, 1974; Alberio y Colas, 1976; Baril *et al.*, 1993).

En general, la primera etapa se extiende desde el nacimiento hasta, aproximadamente, el comienzo de la pubertad (Courrot, 1962; Baril *et al.*, 1993).

La edad a la que los corderos alcanzan la pubertad, sin embargo, varía con la raza, el fotoperiodo y la alimentación que reciben los animales y, por tanto, también es variable la duración de la etapa de crecimiento lento y el comienzo y duración de la etapa de crecimiento rápido de los testículos.

En el cordero recién nacido, los testículos están constituidos, casi exclusivamente, por túbulos seminíferos inactivos, que contienen células de sostén y gonocitos, y un pequeño número de células de Leydig. Su peso oscila entre 2 y 30 gramos (Schanbacher *et al.*, 1974; Baril *et al.*, 1993).

El peso de los testículos en los machos ovinos adultos también es muy variable, ya que son numerosos los factores que pueden influir en el mismo (Setchell *et al.*, 1965; Oldham *et al.*, 1978; Barwick *et al.*, 1985; Colas *et al.*, 1986; Twhaites y Hannan, 1989; Solomon y Twhaites, 1997). No obstante, en la mayoría de los moruecos, el peso de estos órganos se encuentra dentro del rango

comprendido entre 200 y 300 gramos (Schanbacher *et al.*, 1974; Hafez, 1996; Gordon, 1997).

Como es lógico, las variaciones que se producen en el peso de los testículos durante su crecimiento están íntimamente relacionadas con cambios histológicos.

Una parte importante del aumento de peso de los testículos es debida al crecimiento de los túbulos seminíferos, cuyo peso, en la pubertad, representa alrededor de un ochenta por ciento del peso de los testículos (Courot, 1962).

El crecimiento de los túbulos seminíferos se produce como consecuencia de la proliferación de las células que los constituyen. Así, en los moruecos, además de gonocitos y células de sostén, también se aprecian espermatogonias y espermatocitos de distinto orden (Sharpe, 1984).

Evidentemente, además del crecimiento de los túbulos seminíferos, se produce el desarrollo de otros tejidos (conjuntivo intersticial, vascular, etc), aunque su contribución al incremento de peso es cuantitativamente menor (Courot, 1962; Schanbacher *et al.*, 1974; Gordon, 1997).

### **2.1.1. Métodos de estimación**

En general, las diferencias en el desarrollo de los túbulos seminíferos, responsables de la producción gamética de los testículos, permiten explicar la mayor parte de la variación observada en el tamaño de los testículos y en la producción de espermatozoides (Courot, 1962; Oldham *et al.*, 1978; Cameron *et al.*, 1984; Pomares *et al.*, 1991; Gordon, 1997).

Desde un punto de vista práctico es obvio, por tanto, el interés de conocer el

desarrollo de los túbulos seminíferos o el peso de los testículos de los animales que van a ser utilizados como sementales. Sin embargo, la determinación de estos parámetros de una forma directa no es factible, ya que requiere la castración o el sacrificio del animal.

Para solventar este problema se han propuesto parámetros alternativos, correlacionados con el peso de los testículos, que permiten estimar el crecimiento testicular de forma no cruenta. Los parámetros más utilizados son: la circunferencia escrotal, el diámetro testicular, la longitud o diámetro mayor de los testículos, el volumen testicular, el volumen escrotal y la consistencia testicular.

**La circunferencia escrotal** es la medida del perímetro del escroto en su zona más ancha, es decir, en el punto de máxima circunferencia del par de testículos (Ketut Sutarna y Edey, 1985).

La circunferencia escrotal está positivamente correlacionada (valores de  $r$  entre 0,70 y 0,95) con el peso de los testículos. En general, es la medida que permite la mejor estimación del peso de estos órganos y, por ello, la más utilizada (Lino, 1972; Notter *et al.*, 1981; Thompson *et al.*, 1992; Solomon y Twaites, 1997).

Además, en los toros y en los moruecos, también se ha encontrado una correlación significativa (valores de  $r$  entre 0,60 y 0,75) entre la circunferencia escrotal y el volumen de eyaculado y la producción de espermatozoides (Hahn *et al.*, 1969a; Foote *et al.*, 1970; Lino, 1972; Knight, 1977; Solomon y Thwaites, 1997).

**El diámetro testicular** se determina midiendo externamente el diámetro anteroposterior de cada testículo en el punto más ancho, siendo el diámetro testicular la media del diámetro de ambos testículos.

El diámetro testicular también muestra una correlación positiva con el peso de los testículos, aunque el coeficiente de correlación, en general, es inferior al observado entre la circunferencia escrotal y el peso de estos órganos (Notter *et al.*, 1981; Barwick *et al.*, 1985).

**La longitud o diámetro mayor** de los testículos se define como la distancia existente entre los extremos superior e inferior de los testículos (Knight, 1977).

Localizar ambos extremos con precisión es difícil y, probablemente, por ello es por lo que la correlación entre la longitud y el peso de los testículos es, en general, baja.

**El volumen testicular** se estima mediante dos métodos. Un primer método consiste en estimar el volumen a partir de las medidas de longitud y diámetro de los testículos, multiplicando la longitud por el cuadrado del diámetro (Knight, 1977).

El segundo método se basa en la estimación mediante palpación, utilizando como referencia un orquidiómetro. Cada una de las piezas del orquidiómetro representa un testículo de un volumen determinado. Para estimar el volumen se compara el testículo con las piezas del orquidiómetro y se elige la pieza cuyo volumen se asemeje más al testículo (Lindsay *et al.*, 1976; Ketut Sutarna y Edey, 1985).

**El volumen escrotal** considera a los dos testículos en conjunto. Se realiza introduciendo, con el animal de pie, el escroto en un recipiente lleno de agua; el volumen escrotal se calcula a partir del agua desplazada (Knight, 1977).

Se puede considerar que tanto el volumen testicular, estimado por cualquiera de los métodos posibles, como el volumen escrotal son buenos estimadores (valores

de  $r$  entre 0,85 y 0,95) del peso de los testículos (Lindsay *et al.*, 1976; Knight, 1977; Raadsma y Edey, 1985).

**La consistencia testicular** se basa en la determinación de la solidez o firmeza de los testículos. Es una medida que no está correlacionada con el peso de los testículos, pero sí con la calidad del semen (Foote *et al.*, 1970). Por esta razón también puede ser de interés su determinación.

Existen dos métodos para estimar la consistencia testicular. El primer método consiste en realizar la palpación manual de cada uno de los testículos, asignando un número de una escala que va desde uno, que corresponde a una consistencia muy blanda, hasta cinco, el extremo opuesto (Ketut Sutarna y Edey, 1985).

El segundo de los métodos mide la consistencia de los testículos mediante un tonómetro (Foote *et al.*, 1970). Este instrumento consta, básicamente, de un émbolo, un resorte, situados en extremos opuestos, y una escala de medida. El método se basa en el principio de fuerza-desviación descrito por Hahn *et al.* (1969b) y, de forma muy simple, consiste en aplicar una fuerza sobre el testículo y medir la desviación sufrida por ésta; la consistencia es mayor cuanto mayor es la desviación en relación con la cantidad de fuerza aplicada.

## **2.1.2. Factores de variación**

### **2.1.2.1. Raza**

Como se aprecia en la tabla I, la etapa de crecimiento rápido de los testículos, en general, se inicia antes en las razas más precoces, es decir, aquéllas que alcanzan antes la pubertad (Dýrmundsson y Lees, 1972; Notter *et al.*, 1985).

**Tabla I:** Grado de precocidad y edad de inicio de la etapa de crecimiento rápido de los testículos en distintos genotipos ovinos.

Raza	Precocidad	Edad de inicio (días)	Fuente
Clun Forest	+	84	Colyer (1971)
Ile de France	++	80	Courot (1962)
Targhee	+++	60	Schanbacher <i>et al.</i> (1974)
Finnish Landrace x Dorset	+++	55	Notter <i>et al.</i> (1985)

Grado de precocidad: +: Poco precoz; ++: Precoz; +++: Muy precoz.

En los machos adultos se ha comprobado que existen diferencias entre razas en el tamaño y peso de los testículos (Barwick *et al.*, 1985; Notter *et al.*, 1985). En la tabla II se muestran los datos, recogidos en la bibliografía, de la circunferencia escrotal de siete razas ovinas que ponen de manifiesto estas diferencias.

**Tabla II:** Circunferencia escrotal (CE) en machos adultos de diferentes razas.

Raza	CE (cm)	Fuente
Romney	27,9	Knight (1977)
Finnish Landrace	28,4	Louda <i>et al.</i> (1981)
Poll Dorset	29,5	Raadsma y Edey (1985)
Romanov	30,2	Louda <i>et al.</i> (1981)
Merina	32,6	Murray <i>et al.</i> (1990)
Rambouillet	33,7	Tulley y Burfening (1983)
Poll Merina	34,4	Hötzel <i>et al.</i> (1995)

Las diferencias en el tamaño de los testículos probablemente están asociadas con las tasas de ovulación y de fertilidad de las distintas razas. Se ha puesto de manifiesto, si bien no de manera concluyente, una relación entre el tamaño de los testículos y la tasas de ovulación y de fertilidad de las hembras en distintas razas ovinas (Land, 1973; Burton *et al.*, 1982; Knight, 1984; Haley *et al.*, 1987; Purvis *et al.*, 1988; Barwick *et al.*, 1989).

Dentro de una misma raza, no obstante, existe una amplia variabilidad

individual. Así, por ejemplo, Knight (1977) observó coeficientes de variación del volumen escrotal, en moruecos de raza Merina y de raza Romney, del orden del 36% y del 29%, respectivamente. De igual modo, Hötzel *et al.* (1995), en la raza Merina, encontraron coeficientes de variación de la circunferencia escrotal en torno a un 20%.

#### **2.1.2.2. Alimentación**

A la hora de estudiar el papel que desempeña la alimentación en el tamaño de los testículos, se debe diferenciar el efecto de este factor durante el periodo de crecimiento y en la etapa adulta de los animales.

La alimentación durante el periodo de crecimiento de los animales influye en la aparición de la pubertad y, por tanto, en la duración de las distintas etapas de crecimiento de los testículos, determinando la edad a la que se alcanza el tamaño adulto de estos órganos.

Es un hecho contrastado que cuando se reduce la ganancia diaria de peso, como consecuencia de una restricción nutritiva, se retrasa la pubertad (Dýrmundsson, 1973; Robinson, 1990). El fenómeno contrario ocurre, dentro de ciertos límites, cuando los animales reciben planes altos de alimentación (Almquist, 1982; Dýrmundsson, 1987; Brown, 1993; Abi saab *et al.*, 1997).

La restricción nutritiva, tanto energética como proteica, causa una disminución en la secreción de gonadotropinas (Lh y Fsh). Este efecto perjudica la función androgénica de los testículos y, por tanto, el crecimiento de los mismos (Dýrmundsson, 1973; Alkass y Bryant, 1982; Foster y Olster, 1985; Adam y Findlay, 1997).

El efecto que ejerce la alimentación en los periodos prepuberal y puberal sobre el tamaño final de los testículos, no obstante, es confuso, encontrándose en la bibliografía resultados contradictorios.

Brow (1993), en un ensayo realizado con corderos y diseñado para estudiar el efecto de la ingestión de proteína desde el destete hasta la pubertad, observó que, en el momento de la pubertad, los corderos que recibieron un mayor aporte de este nutriente tenían unos testículos de mayor tamaño. Esta diferencia, sin embargo, desapareció a los 14 meses de edad.

Por el contrario, Abi Saab *et al.* (1997), en la especie caprina, comprobaron que el aporte de proteína desde el día 28 de vida y hasta los 4 meses de edad influye positivamente en el volumen testicular y que este efecto persiste, al menos, hasta los 7 meses de edad.

Sin embargo, Brusa (1998) no encontró diferencias en el peso del aparato reproductor de corderos de raza Merina que recibieron diferentes aportes de proteína desde el destete, con aproximadamente 15 kg de peso, hasta que alcanzaron los 30 kg de peso. Similares resultados fueron obtenidos por Manso (1994) en estudios de composición corporal realizados en corderos de raza Churra. Estos resultados, no obstante, deben evaluarse con precaución, ya que en el peso del aparato reproductor estos autores incluían otros órganos, además de los testículos.

Restricciones severas o muy prolongadas en los aportes de energía, de proteína o de ambos pueden provocar daños importantes y permanentes en los testículos (Brown, 1994).

En situaciones de subnutrición severa, la hipófisis disminuye considerablemente de tamaño, lo que podría comprometer la secreción de las

hormonas gonadotrópicas (Lh y Fsh) que intervienen de manera importante en el desarrollo testicular (McManus *et al.*, 1972).

En este sentido, Courot y Kilgour (1984) comprobaron que el crecimiento y multiplicación de las células de Sertoli en la infancia se realiza bajo el control de las gonadotropinas.

Independientemente del efecto de la alimentación durante el período prepuberal y puberal, numerosos trabajos ponen de manifiesto que la alimentación también puede producir variaciones significativas en el tamaño de los testículos de machos adultos.

En general, cuando se produce una restricción nutritiva se origina una reducción en el tamaño de los testículos (Setchell *et al.*, 1965; Leathem, 1975; Masters y Fels, 1984; Martin *et al.*, 1994a). Como es lógico, cuanto más acusada es la restricción mayor es, también, la reducción en el tamaño de los testículos (Thwaites y Hannan, 1989; Martin *et al.*, 1994a).

En lo que respecta a la nutrición proteica, además de la cantidad, también se debe tener en consideración el aporte de algunos aminoácidos concretos.

Así, en estudios realizados en ratas, se ha comprobado que la lisina, el triptófano, la fenilalanina, la arginina y la histidina ejercen una acción directa sobre los testículos y su deficiencia causa alteraciones citológicas, alterando de forma importante la espermatogénesis (Maun *et al.*, 1945, 1946a,b; Shettles, 1960; Brown, 1994).

El mecanismo de acción por el que algunos aminoácidos concretos ejercen su efecto sobre las función reproductora no se conoce bien, pero podrían actuar a nivel

de las neuronas del hipotálamo, induciendo cambios en la secreción de las hormonas gonadotrópicas (Brown, 1994).

Urbanski *et al.* (1996) observaron que las neuronas secretoras del factor liberador de gonadotropinas (GnRh), cultivadas *in vitro*, poseen receptores para el glutamato y son capaces de responder a agonistas de este aminoácido, aumentando la secreción del GnRh. De igual modo, Recabarren *et al.* (1996) comprobaron que la infusión intravenosa de arginina estimula la secreción de la hormona luteinizante.

Por otro lado, incrementos en los aportes de energía y de proteína, por encima de las necesidades de mantenimiento, causan un aumento del tamaño de los testículos.

Tjondronegoro *et al.* (1990) observaron, en moruecos de raza merina, que la circunferencia escrotal aumentaba entre un 15% y un 20% al incrementar la ingestión de energía desde 1 hasta 2 veces las necesidades de mantenimiento.

Por su parte, Thwaites (1994), también en un ensayo realizado con moruecos de raza merina, encontró incrementos del volumen testicular en torno a un 12% al aumentar el contenido de proteína bruta de la dieta desde 206 a 312 g/kg MS.

Resultados similares fueron obtenidos por Sutherland y Martin (1980) en animales adultos que consumían una dieta basal, que cubría sus necesidades de mantenimiento, al suplementarlos con 750 gramos de altramuces dulces (*Lupinus spp*).

Por otra parte, todavía no se ha dilucidado cual de los dos nutrientes principales, energía o proteína, influye más en el tamaño de los testículos.

Algunos autores consideran que el tamaño de los testículos es más dependiente del balance proteico que del energético (Oldham *et al.*, 1978; Lindsay *et al.*, 1984). Otros autores, por el contrario, opinan que no existen datos suficientes que apoyen tal conclusión (Rowe y Murray, 1984; Murray *et al.*, 1990).

Respecto al mecanismo de acción de la alimentación, el efecto de ésta sobre el tamaño de los testículos está mediado, en primera instancia, por el eje hipotálamo-hipofisario, a través de la secreción de las hormonas gonadotrópicas (Gordon, 1997).

La secreción de estas hormonas está regulada, en parte, por un mecanismo de retroalimentación negativo, dependiente de la concentración plasmática de testosterona, cuya eficacia varía con el aporte nutritivo que recibe el animal (Tjondronegoro *et al.*, 1996).

Así, al variar el aporte nutritivo, dentro de ciertos límites, varía la sensibilidad de las neuronas del hipotálamo a este mecanismo de retroalimentación, modificándose la secreción del GnRh y, en consecuencia, la concentración plasmática de las hormonas luteinizante (Lh) y foliculoestimulante (Fsh).

Existen varios estudios según los cuales la Lh sería la hormona gonadotrópica responsable del cambio de tamaño de los testículos. Estos trabajos demuestran que la frecuencia de pulsos en la secreción de la hormona luteinizante puede variar en respuesta a cambios en la alimentación. Así, en situaciones de restricción nutritiva la frecuencia de secreción de Lh disminuye (Setchell *et al.*, 1965; Alkass y Bryant, 1982). El fenómeno contrario se produce cuando los animales reciben un aporte nutritivo superior a sus necesidades de mantenimiento (Sutherland y Martin, 1980; Pomares *et al.*, 1991; Boukhliq y Martin, 1997).

Otros trabajos, sin embargo, sugieren que la Fsh es la hormona más directamente relacionada con el crecimiento de los testículos. Por lo tanto, los cambios en la alimentación actuarían aumentando o disminuyendo la secreción de aquella (Martin *et al.*, 1987; Tjondronegoro *et al.*, 1990; Brown, 1993; Hötzel *et al.*, 1997).

Independientemente de cual de las dos hormonas gonadotrópicas sea la más importante, el aumento de la concentración plasmática de éstas origina un aumento de la permeabilidad de los capilares y, como consecuencia, un incremento de la cantidad de fluido intersticial en los testículos. También producen una elevación en la secreción de testosterona, debido a que las células de Leydig aumentan su actividad secretora (Sharpe, 1984; Martin *et al.*, 1987).

Una disminución en la secreción de las hormonas Lh y Fsh produce efectos opuestos a los descritos (Setchell *et al.*, 1965; Leathem, 1975; Alkass y Bryant, 1982).

No obstante, se ha comprobado que el aumento de la concentración plasmática de gonadotropinas, en respuesta a un incremento en el plano de alimentación, es transitorio; las concentraciones de esas hormonas retornan a sus valores normales tras pasar un periodo de tiempo de alrededor de veinte días, aunque la suplementación continúe en el tiempo. Este comportamiento sugiere que, en los cambios que se producen en el testículo como consecuencia de las variaciones en la alimentación, podrían estar implicados otros mecanismos independientes de la secreción de Lh y de Fsh (Martin *et al.*, 1994b).

En esta misma línea, Hötzel *et al.* (1995) observaron, en machos adultos, cuya ración no cubría las necesidades de mantenimiento, que la administración de GnRh, que simula el efecto de la suplementación proteica y energética sobre la secreción

de Lh y Fsh, no permite obtener el crecimiento de los testículos que se logra con la alimentación.

Mediante la inmunización contra el factor GnRh se logra reducir los niveles de Lh y Fsh y, asimismo, el tamaño de los testículos. Este efecto, sin embargo, se atenúa si se combina con un aumento en el plano de alimentación (Hötzel *et al.*, 1997).

Estas observaciones confirman que la alimentación puede ejercer un efecto directo en los testículos, independiente de la secreción de Lh y Fsh. Al aumentar el aporte nutritivo también aumenta la disponibilidad de nutrientes para el metabolismo de estos órganos, lo que favorece la división celular en los túbulos seminíferos y el aumento de la actividad metabólica (Hötzel *et al.*, 1995; Hötzel *et al.*, 1998).

Este mecanismo, que no está relacionado con la secreción de gonadotropinas, se ha denominado recientemente como “vía GnRh-independiente” (Martin y Walkden-Brown, 1995).

Algunos autores proponen que el efecto de la nutrición, tanto en lo que se refiere a la proteína como a la energía, sobre el tamaño de los testículos está mediado por la acción conjunta de los dos mecanismos, hormonal y vía “GnRh-independiente”, que tendrían un efecto aditivo (Martin *et al.*, 1994b; Hötzel *et al.*, 1997; Hötzel *et al.*, 1998).

Sin embargo, otros autores sostienen que el mecanismo de acción es diferente dependiendo del nutriente considerado, proteína o energía. En este sentido, Boukhliq *et al.* (1997) comprobaron, en moruecos de raza merina, que la suplementación con ácidos grasos origina un crecimiento de los testículos y un

incremento paralelo de la secreción de Lh y Fsh; por el contrario, la infusión abomasal de caseína no aumenta la concentración plasmática de esas hormonas, pero sí el tamaño de los testículos.

A partir de estas observaciones, Boukhiq *et al.* (1997) sugieren que el aporte de energía actúa modificando la secreción de las hormonas gonadotrópicas (vía GnRh-dependiente), mientras que el aporte de proteína ejerce su efecto a través de la “vía GnRh-independiente”.

Es necesario señalar que otros autores, por el contrario, sí han observado variaciones en la secreción de Lh en respuesta a la administración intravenosa de aminoácidos (Recabarren *et al.*, 1996).

### **2.1.2.3. Fotoperiodo**

En nuestras latitudes la reproducción ovina sigue un patrón estacional, alternando periodos de inactividad sexual (anoestro estacional) con periodos de actividad sexual. Según esto, la especie ovina se considera reproductora de día corto. Ello significa que la actividad sexual aumenta o disminuye al disminuir o aumentar, respectivamente, las horas de luz.

Esta particularidad no sólo afecta a las hembras, sino que algunas características que determinan la función reproductora (tamaño testicular, comportamiento sexual, calidad del semen, etc.) de los machos también se ven afectadas por el fotoperiodo (Broers, 1995).

En todo este complejo sistema de estacionalidad de la actividad sexual tiene un papel preponderante la melatonina, que es segregada por la glándula pineal. Ésta registra la duración de los días transformando los impulsos ópticos de la luz en

descargas hormonales (melatonina). La melatonina se sintetiza y segrega durante la noche. Así, cuando los días comienzan a decrecer, la secreción de esa hormona aumenta progresivamente y ejerce un efecto estimulante sobre la secreción del GnRh (López Sebastián, 1989; Broers, 1995).

En los animales prepúberes, el fotoperiodo influye significativamente en la aparición de la pubertad. De este modo, aquellos corderos nacidos durante el verano o a principios del otoño alcanzarán la pubertad con una menor edad que los nacidos en invierno o en primavera, porque en sus primeras etapas de vida estarán expuestos a un menor número de horas de luz (Colas *et al.*, 1987; Vázquez y Garde, 1994).

En consecuencia, el fotoperiodo también influirá en la duración de las etapas del crecimiento de los testículos. Así, en los corderos nacidos en otoño, la etapa de crecimiento rápido de los testículos comenzará antes que en los corderos nacidos en primavera (Land y Sales, 1977; Notter *et al.*, 1985).

En los machos adultos, el tamaño testicular también está sometido a grandes variaciones a lo largo del año (Colas *et al.*, 1986).

Así, tal y como puede apreciarse en la tabla III, el diámetro de los testículos aumenta de forma gradual en verano hasta alcanzar un valor máximo a principios del otoño; a partir de entonces disminuye de manera progresiva, alcanzándose los menores valores en marzo y abril (Tulley y Burfening, 1983; Dufour *et al.*, 1984; Lindsay *et al.*, 1984; Pelletier y Almeida, 1987).

Estas variaciones están asociadas con el fotoperiodo que, como ocurre con la alimentación, ejerce su efecto modulando la actividad del eje hipotálamo-hipofisario y, por tanto, provocando cambios en la secreción de las gonadotropinas y de la testosterona.

**Tabla III:** Variación estacional del diámetro de los testículos (mm) en machos adultos de diferentes razas.

Mes	<u>RAZA</u>		
	Ile-de-France <sup>(1)</sup>	Suffolk <sup>(2)</sup>	Vendéen <sup>(3)</sup>
Enero	50	56	70
Abril	42	52	64
Junio	62	54	64
Julio	60	55	69
Agosto	60	56	72

(1) Fuente: Lindsay *et al.* (1984).

(2) Fuente: Dufour *et al.* (1984).

(3) Fuente: Colas *et al.* (1986).

En la tabla IV se recogen valores de la concentración plasmática de Fsh y de testosterona en moruecos en distintos meses del año.

Las mayores concentraciones de Lh, de Fsh y de testosterona se observan al final del verano y principios del otoño y las menores al final del invierno y principios de primavera (Sanford *et al.*, 1977; Lindsay *et al.*, 1984; Pelletier y Almeida, 1987; Lincoln *et al.*, 1990), coincidiendo con los periodos de crecimiento y decrecimiento de los testículos (Lincoln, 1976).

**Tabla IV:** Variación estacional de la concentración plasmática de Fsh y de testosterona en moruecos.

Mes	Fsh (ng/ml) <sup>(1)</sup>	Testosterona (ng/ml) <sup>(2)</sup>
Enero	10	2,5
Abril	8	1,5
Junio	40	2,5
Julio	30	2,7
Agosto	30	3,3
Septiembre	30	5,0

(1) Fuente: Lincoln *et al.* (1990).

(2) Fuente: Dufour *et al.* (1984).

Es obligado señalar que cuando los moruecos permanecen en condiciones de

fotoperiodo constante, logradas mediante iluminación artificial, también se producen variaciones cíclicas del tamaño de los testículos, alternándose fases de crecimiento y decrecimiento (Howles *et al.*, 1980; Howles *et al.*, 1982). Este fenómeno sugiere que las variaciones cíclicas en el tamaño de los testículos no están controladas únicamente por el fotoperiodo, sino que también existe un mecanismo de control endógeno, que actuaría de forma independiente (Howles *et al.*, 1980).

#### **2.1.2.4. Otros**

Además de los mencionados, existen otros factores que pueden influir en el tamaño de los testículos, entre los cuales cabe destacar el régimen sexual al que están sometidos los sementales.

Así, en los periodos de elevada actividad sexual el volumen de estos órganos puede llegar a disminuir hasta un 34% y la circunferencia escrotal hasta un 20% (Raadsma y Edey, 1985; Solomon y Twhaites, 1997).

De igual modo, Twhaites y Hannan (1989) observaron una reducción del volumen de los testículos, de alrededor de un 15%, en sementales a los que se extrajo semen, mediante vagina artificial, con una frecuencia de 10 eyaculados/día durante un periodo de 15 días.

## 2.2. Capacidad de servicio

De forma genérica, se puede definir la capacidad de servicio como “el número de montas con eyaculación realizadas por un morueco durante un periodo de tiempo determinado”(Purvis y Hillar, 1997).

Conocer la capacidad de servicio de los moruecos es de enorme interés práctico, puesto que en la época de celos el régimen sexual de los sementales puede llegar a ser muy intenso y una capacidad de servicio baja puede influir negativamente en la fertilidad del rebaño (Broers, 1995).

En este sentido, Perkins *et al.* (1992b), en rebaños de raza Rambouillet, observaron una relación positiva entre la capacidad de servicio de los sementales y la tasa de fertilidad de las ovejas. Resultados similares fueron encontrados por Edward *et al.* (1992) en rebaños de raza Finnish Landrace x Targhee.

Por el contrario, Mickelson *et al.* (1982) no encontraron, en moruecos de raza Suffolk, una relación positiva entre la capacidad de servicio de los sementales y la tasa de fertilidad de las hembras. No obstante, estos mismos autores sugieren que la ausencia de relación podría ser debida a que el número de ovejas en celo, que se emplearon para cada uno de los sementales, fue muy bajo (n=10).

Por otra parte, también se ha comprobado que los machos de alta capacidad de servicio son más efectivos para inducir, mediante “el efecto macho”, la ovulación de ovejas que se encuentran en anoestro, que los de menor capacidad de servicio (Perkins y Fitzgerald, 1994).

Así pues, aunque en la fertilidad de los rebaños intervienen distintos factores, parece claro que la capacidad de servicio juega un papel importante. Por ello, es de

gran importancia, especialmente cuando se pretende la aplicación de técnicas como la sincronización de celos, determinar la capacidad de servicio de los machos que van a ser utilizados como sementales y conocer los factores que pueden influir en la misma.

### **2.2.1. Métodos de valoración**

Para evaluar la conducta sexual de los moruecos se realizan pruebas denominadas de “capacidad de servicio” o de “libido” (Wilkins y Kilgour, 1977; Chenoweth, 1997; Purvis y Hillar, 1997).

En estas pruebas se determinan varios parámetros que definen la conducta sexual de los machos (Chenoweth, 1981; Vázquez y Garde, 1994). Los más importantes son:

-tiempo de reacción, que se define como el periodo de tiempo que transcurre desde que el macho entra en contacto con las hembras en celo hasta el momento en que realiza la primera monta con eyaculación.

-libido, que es la disposición del animal para realizar la monta.

-la capacidad de servicio, que es el número de montas con eyaculación que realiza el semental durante la prueba.

La capacidad de servicio es el parámetro más relevante de todos los que se registran en la prueba porque es la medida más repetible del comportamiento sexual de un morueco (Wilkins y Kilgour, 1977; Kilgour, 1984). Además, la capacidad de servicio de un morueco permite predecir su conducta sexual dentro del rebaño; en general, el comportamiento de los sementales en la prueba y en el rebaño es muy

similar (Galloway, 1973; Kilgour y Whale, 1980; Kilgour, 1984; Blockey, 1989; Perkins *et al.*, 1992b).

Las pruebas de capacidad de servicio consisten, básicamente, en la exposición de un macho a un número variable de ovejas en celo, normalmente provocado mediante un tratamiento con progestágenos, en un recinto con una superficie de entre 36 y 40 m<sup>2</sup> (Kilgour y Wilkins, 1980; Kilgour, 1984; Edward *et al.*, 1992; Perkins *et al.*, 1992b).

En condiciones prácticas, para evaluar la capacidad de servicio de un semental se efectúan dos pruebas consecutivas, separadas entre sí por un periodo corto de tiempo, generalmente de una semana.

No existe, sin embargo, una prueba estandarizada. En la literatura científica especializada se recogen diferentes pruebas que varían, fundamentalmente, en la duración y en el número de ovejas empleadas.

Así por ejemplo, Kilgour (1984) realiza pruebas de tres horas de duración, empleando cuatro ovejas en celo por semental; Barwick *et al.* (1985) fijan la duración de la prueba en una hora, utilizando el mismo número de ovejas; Perkins *et al.* (1992b) realizan pruebas de menor duración (30 minutos), pero utilizan un mayor número de ovejas ( $n \geq 6$ ).

No obstante, y dentro de ciertos límites, los resultados que se obtienen entre los distintos tipos de pruebas son muy similares. Así por ejemplo, Levis *et al.* (1997) sometieron a 40 machos, de la especie porcina, a tres pruebas consecutivas de capacidad de servicio, que se diferenciaban en el número de hembras empleadas para cada semental y en el tiempo de duración de la prueba, y observaron que el comportamiento sexual de los animales era independiente del tipo de prueba

empleada para valorarlo.

Una vez que los moruecos han sido sometidos a pruebas de este tipo, se suelen clasificar como de alta, media o baja capacidad de servicio (Perkins *et al.*, 1992b; Edward *et al.*, 1996). Esta clasificación permite conocer el potencial reproductor, en términos de comportamiento sexual, de los machos que van a ser destinados a sementales, lo que permite seleccionar aquellos de mayor potencial y eliminar los que no son interesantes o que son sexualmente inactivos (Barwick *et al.*, 1985).

### **2.2.2. Factores de variación**

En la capacidad de servicio de los machos ovinos influyen múltiples factores de distinta naturaleza, que se estudian a continuación.

#### **2.2.2.1. Raza**

Diversos estudios ponen de manifiesto diferencias entre razas en la capacidad de servicio (Land, 1970; Chenoweth, 1981; Purvis y Hillar, 1997). No obstante, estas diferencias, en muchas ocasiones, sólo son evidentes en el periodo de tiempo que se extiende desde que el animal alcanza la pubertad hasta que cumple los dos años de edad (Barwick *et al.*, 1985; Barwick *et al.*, 1989; Purvis y Hillar, 1997).

Dentro de una misma raza, tal y como aparece reflejado en la tabla V, existe una gran variabilidad individual en algunas de las características que forman parte del comportamiento sexual de los moruecos.

Algunos autores consideran que esta elevada variación individual podría estar asociada con diferencias en la concentración plasmática de testosterona (Purvis *et*

*al.*, 1974; Chenoweth, 1981; Perkins *et al.*, 1992a). No obstante, Perkins y Fitzgerald (1994) no encontraron diferencias en la concentración plasmática de testosterona entre machos con diferente capacidad de servicio.

**Tabla V:** Coeficientes de variación de diferentes parámetros del comportamiento sexual de los moruecos.

Parámetro	Coeficiente de variación	Raza	Fuente
Montas con eyaculación	83%	Merina	Kilgour y Wilkins (1980)
Montas con eyaculación	48%	Finn x Targhee	Edward <i>et al.</i> (1992)
Montas con eyaculación	64%	Rambouillet	Perkins <i>et al.</i> (1992b)
Montas sin eyaculación	71%	Targhee	Price <i>et al.</i> (1991)
Tiempo de reacción	122%	Targhee	Price <i>et al.</i> (1991)

#### 2.2.2.2. Edad

La edad también influye en el comportamiento sexual de los machos. Los moruecos comienzan a ser sexualmente activos cuando alcanzan la pubertad, pero no expresan su máxima actividad sexual hasta que completan su desarrollo (Dýrmundsson y Lees, 1972; Baril *et al.*, 1993).

En general, aunque existe una elevada variación individual, los moruecos completan su desarrollo entre los dos y los cuatro años de edad (Noakes, 1988; Baril *et al.*, 1993).

En este sentido, Barwick *et al.* (1985) realizaron un experimento con 286 moruecos, de diferentes razas, y observaron que entre el año y los dos años y medio de edad el porcentaje de animales sexualmente activos era alrededor de un 67%, mientras que a los tres años y medio de edad todos los moruecos eran sexualmente activos.

Por otra parte, los animales excesivamente viejos presentan una disminución de su actividad sexual, consecuencia de una menor apetencia sexual, del debilitamiento de su aparato locomotor y, en general, de todas sus funciones vitales (Fowler, 1984).

### **2.2.2.3. Alimentación**

La reproducción, en general, y la capacidad de servicio, en particular, son muy dependientes de la alimentación, tal y como demuestran numerosos estudios.

Al aumentar el aporte de energía y de proteína por encima de las necesidades de mantenimiento mejora la actividad sexual: disminuye el tiempo de reacción a la primera eyaculación y aumenta el número de montas (Millar y Fairall, 1976; Gherardi *et al.*, 1980; Chenoweth, 1981; Alkass y Bryant, 1984).

El exceso de energía durante la etapa prepuberal, sin embargo, puede influir negativamente en la espermatogénesis y la libido de los animales cuando éstos completan su desarrollo sexual (Cates, 1991).

La subnutrición también causa alteraciones en el comportamiento sexual de los machos (Brown, 1994). Éstas son más o menos graves dependiendo de la naturaleza e intensidad de la restricción.

En los periodos de restricción energética se ha observado, en el ganado ovino y también en otras especies, una reducción en las concentraciones plasmáticas de testosterona, de Lh y de Fsh (Setchell *et al.*, 1965; Leathem, 1975; Alkass y Bryant, 1982). Estos cambios hormonales constituirían la base inicial de las alteraciones que se producen en el comportamiento sexual de los animales (Setchell *et al.*, 1965; Millar y Fairall, 1976; Sharpe, 1984).

Otros autores, sin embargo, opinan que la reducción o fracaso en la capacidad de servicio es más consecuencia de una disminución de la fuerza física que de los cambios en la concentración plasmática de las hormonas sexuales (Parker y Thwaites, 1972; Brown, 1994).

En relación con el aporte proteico, parece ser que la restricción no influye de forma importante en el comportamiento sexual (Tilton *et al.*, 1964; Okólski *et al.*, 1971; Leathem, 1975), excepto cuando la restricción es muy severa o prolongada (Brown, 1994).

Louis *et al.* (1994), en experiencias realizadas con la especie porcina, observaron que un aporte de proteína ligeramente inferior a las necesidades de mantenimiento causa cambios en el comportamiento sexual de los animales a medio plazo (7 semanas), pero no a corto plazo (3 semanas).

Además de la naturaleza, la intensidad de la restricción también influye. Así, se ha observado en moruecos que aportes energéticos ligeramente inferiores a las necesidades de mantenimiento (0,75 mantenimiento) causan una alteración leve de la función reproductora; al reducir más el aporte energético, hasta un 50% de las necesidades de mantenimiento, el comportamiento sexual se ve gravemente afectado (Parker y Thwaites, 1972).

El momento en que se produce la restricción también condiciona el efecto de ésta en la reproducción. En general, el efecto es más acusado y tiene mayor repercusión a largo plazo en aquellos animales que aún no han concluido su desarrollo sexual, es decir en los animales jóvenes (Leathem, 1975).

De hecho, se ha puesto de manifiesto que restricciones energéticas y proteicas severas durante el crecimiento causan daños permanentes en los testículos, tales

como la atrofia de los túbulos seminíferos o la reducción en el número de células de Leydig (Leathem, 1975; Brown, 1994).

Los sementales ovinos, para que puedan expresar de forma correcta su comportamiento sexual, deben recibir una alimentación equilibrada, no sólo en cuanto a su contenido de energía y de proteína, sino también lo que se refiere a micronutrientes, como vitaminas y minerales.

En este sentido, se sabe, por ejemplo, que la deficiencia de algunas vitaminas, especialmente de las vitaminas A, E y del complejo B, así como de minerales, fundamentalmente de Zinc, provocan retraso en el desarrollo testicular, atrofia de los túbulos seminíferos y daños en las células de Leydig (Leathem, 1975; Martin *et al.*, 1994a).

#### **2.2.2.4. Fotoperiodo**

Tulley y Burfening (1983) estudiaron el efecto del fotoperiodo en el comportamiento sexual de moruecos de raza Rambouillet y observaron que la actividad sexual era menor a finales del invierno y en primavera, épocas en las que el fotoperiodo es creciente, que en los meses de verano y otoño, cuando el fotoperiodo es decreciente. Estas observaciones coinciden con las encontradas por Land (1970) en un ensayo en el que comparó la actividad sexual de dos razas ovinas, Finnish Landrace y Scottish Blackface, a lo largo del año.

Por su parte, Howles *et al.* (1980) estudiaron, en corderos en crecimiento y en condiciones de ambiente controlado, la influencia del fotoperiodo sobre el desarrollo del comportamiento sexual y encontraron una relación inversa entre la relación horas de luz/horas de oscuridad durante la cría y la actividad sexual de los corderos, al menos en el periodo de tiempo que abarcó el estudio (desde los 4 hasta

los 20 meses de edad).

El fotoperiodo parece tener una menor importancia en las razas tropicales, para las cuales la temperatura es el factor climático más determinante, en lo que al comportamiento sexual se refiere (Chemineau, 1986; Pelletier y Almeida, 1987; Henderson, 1991).

El efecto del fotoperiodo está mediado por la secreción de las hormonas que gobiernan el comportamiento sexual. En este sentido, la concentración de testosterona en el testículo y también en el plasma sanguíneo es mayor en las épocas de mayor actividad sexual, es decir, en aquellas de fotoperiodo decreciente (Purvis *et al.*, 1974; Lincoln *et al.*, 1990). Una evolución similar, aunque no tan marcada, ocurre con las hormonas Fsh y Lh (Lincoln, 1976; Sanford *et al.*, 1977; Lincoln, 1990).

Otra hormona implicada en los ciclos sexuales de los machos es la prolactina. Su secreción está estrechamente relacionada con la cantidad de horas de luz que recibe el animal, de manera que su concentración plasmática disminuye al aumentar el número de horas de luz (Howles *et al.*, 1982).

#### **2.2.2.5. Otros**

**Las relaciones entre los machos adultos**, que forman parte del mismo rebaño, pueden modificar la capacidad de servicio de éstos.

Entre los machos que pertenecen a un mismo rebaño existe siempre una jerarquía, estableciéndose relaciones de dominancia de las que resultan animales dominantes y subordinados (Greig, 1991).

La competición entre machos de un mismo rebaño es mayor cuando aumenta el número de éstos y también cuando el espacio es más reducido porque se facilitan los contactos entre ellos (Kilgour, 1984).

Aunque no existe una relación directa entre la dominancia y la capacidad de servicio, ésta última sí se puede ver modificada en los machos subordinados, ya que su actividad sexual puede disminuir por la presencia de un macho dominante (Fowler, 1984).

**Las relaciones sociales que tengan los sementales durante su periodo de crecimiento** también pueden influir en su actividad sexual durante el periodo adulto.

Así por ejemplo, Katz *et al.* (1988) comprobaron que los corderos criados en lotes heterosexuales mostraron, al alcanzar la pubertad, una mejor conducta sexual que los criados en lotes homosexuales.

Casteilla *et al.* (1987) también observaron que aquellos animales que durante su etapa prepuberal estuvieron en contacto con hembras presentaban un mejor comportamiento sexual, a los diez meses de edad, que aquellos otros criados en ausencia de hembras.

Por otra parte, cuando los corderos son criados en ausencia de hembras aumenta el porcentaje de individuos homosexuales y sexualmente inactivos (Galloway, 1973; Katz *et al.*, 1988; Greig, 1991; Price *et al.*, 1991).

En otras especies, como la caprina, también se ha observado que la cría de futuros reproductores en presencia de hembras es beneficiosa y presenta ventajas incluso para aquellos animales que se utilizan en inseminación artificial (Orgeur *et*

*al.*, 1988).

Es preciso señalar, no obstante, que existen estudios que demuestran que el efecto, antes señalado, de las interacciones sociales durante el periodo prepuberal es transitorio y puede desaparecer con el tiempo (Casteilla *et al.*, 1987).

**La proporción de machos y de hembras en el rebaño** también puede influir en el comportamiento sexual de los machos. En este sentido, un número excesivo de hembras aumenta la competencia de éstas por los sementales, lo que provoca, paradójicamente, una reducción en la cantidad de cubriciones (Fowler, 1984; Broers, 1995).

En el caso contrario, como se comentó anteriormente, aumenta la competición entre machos y puede resultar perjudicada la actividad sexual de los machos subordinados (Fowler, 1984; Kilgour, 1984).

Por otra parte, no todas las ovejas que integran un rebaño tienen la misma atracción para los machos, de manera que éstos pueden variar su conducta sexual dependiendo de qué ovejas se encuentren en celo en un momento determinado (Tilbrook y Cameron, 1984).

Entre los factores que determinan el atractivo de las ovejas se encuentran el peso vivo y la presencia y la longitud de lana; en general, las ovejas con buen estado corporal y con lana, aparentemente, resultan más atractivas (Tilbrook y Cameron, 1984).

**Las condiciones climáticas**, tales como la pluviometría o la temperatura, también pueden influir en la actividad sexual de los sementales. Así, por ejemplo, la lluvia fuerte, acompañada de bajas temperaturas, disminuye la actividad sexual de

los moruecos (Cameron y Fairnie, 1984).

Asimismo, las altas temperaturas disminuyen la actividad física de los moruecos, incidiendo, también, negativamente en su actividad de monta (Fowler, 1984). Las temperaturas elevadas, además, hacen que los animales busquen la sombra, favoreciendo la dispersión del rebaño y, por ende, dificultando el contacto entre hembras y machos (Fowler, 1984).

### **2.3. Calidad del semen**

Dentro de los factores que afectan a la fertilidad, uno de los más importantes es la calidad del semen, entendida ésta como su poder fecundante, es decir la capacidad para fertilizar el óvulo y para mantener el desarrollo embrionario.

La calidad del semen se puede determinar con métodos *in vivo*, en los que se controla a las hembras que cubre cada semental, calculando posteriormente las tasas de fertilidad y de prolificidad.

Estos métodos, no obstante, son lentos, hay que esperar el tiempo que dura la gestación, e imprecisos, ya que en la fertilidad y en la prolificidad también influyen factores dependientes de la hembra (Colas, 1983; Cameron y Farnie, 1984).

Como alternativa a los métodos *in vivo*, utilizados para evaluar la fertilidad de los sementales, se han desarrollado procedimientos *in vitro* para determinar las características fisicoquímicas y biológicas del semen, indicadoras de su calidad (Foote, 1969; Colas, 1983).

#### **2.3.1. Métodos de extracción de semen**

Se han ideado varios métodos para la extracción del semen de los moruecos, que han ido evolucionando a lo largo del tiempo.

Independientemente del método usado, el procedimiento debe cumplir tres requisitos básicos: 1) que permita recoger de forma higiénica la mayor cantidad posible de material seminal; 2) que los espermatozoides sufran el menor daño posible y 3) que sea práctico y que no cause daños al animal donante (Durán del Campo, 1980).

Uno de los primeros métodos que se utilizó fue la recogida directa de semen de la vagina de la oveja. En la actualidad este método no se utiliza porque se obtiene poca cantidad de eyaculado y, además, el semen se contamina con células epiteliales y leucocitos procedentes de la vagina de la hembra (Durán del Campo, 1980).

En la actualidad, el procedimiento más utilizado, y con el que se obtienen mejores resultados, es la recolección de semen mediante vagina artificial. Este método permite simular, de manera aceptable, la cópula natural (Foote, 1984).

Una vagina artificial consiste, básicamente, en un tubo rígido, de caucho u otros materiales, a través de cuyo interior se introduce otro tubo de látex, de paredes finas y suaves, de menor diámetro pero más largo que el tubo rígido. Entre las paredes de ambos tubos queda un espacio que se rellena con agua caliente y aire. En uno de los extremos se coloca un embudo de goma, o de otro material, provisto de un tubo de vidrio para la recogida del semen.

La vagina artificial debe proporcionar unas condiciones de temperatura, presión y lubricación similares a las condiciones naturales, de manera que favorezcan la eyaculación del semental (Foote, 1969; Foote, 1984). No obstante, es necesario someter a los machos a un proceso de entrenamiento para que no se produzca un rechazo a la vagina artificial. Este entrenamiento es más fácil de realizar a edades tempranas de los animales, es decir, nada más alcanzar la pubertad (Vijil, 1993; Anel *et al.*, 1995).

Otro método que también puede usarse para la extracción de semen es la electroeyaculación, que consiste en excitar el centro de la eyaculación, situado en la médula espinal, a la altura de la cuarta vértebra lumbar, mediante un estímulo eléctrico. Para ello, se introduce en el recto del animal un electrodo bipolar que está

conectado a una fuente de energía que genera una descarga eléctrica.

Existen varios tipos de electroeyaculadores que se diferencian en el circuito eléctrico, forma del electrodo, voltaje que utilizan, etc (Cameron, 1977).

La respuesta de los moruecos a este método es muy variable y, además, el semen obtenido es de peor calidad que el que se obtiene con el método de la vagina artificial (Mattner y Voglmayr, 1962; Durán del Campo, 1980; Foote, 1984; Martin y Purvis, 1984). Probablemente por esta razón, las características de los electroeyaculados, estudiadas *in vitro*, predicen peor la fertilidad que las de los eyaculados obtenidos con vagina artificial (Hulet *et al.*, 1964; Morrell *et al.*, 1996).

Por tanto, se considera que la obtención de semen mediante electroeyaculación es solamente útil en aquellas situaciones, patologías de los genitales del animal, infraestructura inadecuada, etc., en las que el uso de la vagina artificial es imposible (Hulet *et al.*, 1964; Martin y Purvis, 1984; Foote, 1984).

### **2.3.2. Métodos de valoración**

Hasta la fecha, se han propuesto diferentes características para evaluar la calidad del semen. Aunque ninguna permite, de forma aislada, realizar una estimación precisa de la calidad del semen, la utilización conjunta de varios parámetros sí permite realizar una evaluación aceptable (Hulet *et al.*, 1965; Mickelson *et al.*, 1981b; Langfor y Marcus, 1982; Cameron y Farnie, 1984; Baril *et al.*, 1993).

A continuación se estudian con mayor profundidad algunos de los parámetros cuantitativos y cualitativos más comúnmente empleados en la valoración del semen.

### **2.3.2.1. Volumen del eyaculado**

El volumen es la primera medida que se realiza en la valoración del semen y se efectúa mediante lectura directa en el tubo de recogida que se acopla a la vagina artificial.

El volumen de los eyaculados en los moruecos es muy variable, oscilando entre 0,5 y 1,5 ml (Foote, 1969; Duran del Campo, 1980; Baril *et al.*, 1993).

### **2.3.2.2. Concentración de espermatozoides**

La concentración de espermatozoides se define como la cantidad de espermatozoides que hay en un centímetro cúbico de semen (Foote, 1984).

La concentración de espermatozoides en el eyaculado es una medida de enorme interés práctico porque influye en la tasa de fertilidad de las ovejas. Así por ejemplo, Martin y Watson (1976), en un ensayo de inseminación artificial, encontraron un incremento significativo en la tasa de fertilidad al aumentar la concentración de espermatozoides, en la dosis de semen, de 25 a 100 millones. De igual modo, Fulkerson *et al.* (1982) comprobaron que para asegurar una buena tasa de fertilidad, cuando se recurre a la monta natural, es necesario que las ovejas reciban, como mínimo, sesenta millones de espermatozoides.

Cuando se realiza la inseminación artificial, se recomienda que las dosis seminales tengan una concentración de espermatozoides comprendida entre 200 y 400 millones (Landford y Marcus, 1982). Esta concentración es notablemente superior a la que se requiere en la monta natural, ya que el estrés que produce el acto de la inseminación, unido a la ausencia de comportamiento sexual que

acompaña a la monta, son factores negativos que disminuyen las posibilidades de fecundación. De hecho, el empleo de machos vasectomizados después de realizar inseminación artificial mejora, en general, la tasa de fertilidad (Rak, 1963).

Una primera idea sobre la concentración de espermatozoides en el eyaculado puede ser obtenida mediante la comprobación visual de su opacidad y viscosidad (Duran del Campo, 1980). Sin embargo, este procedimiento es muy inexacto, por lo que para determinar la concentración de forma precisa se hace necesario la utilización de métodos específicos.

Los métodos más utilizados son:

#### **A. Contaje mediante un hematocitómetro.**

Consiste en contar el número de células espermáticas presentes en un volumen determinado de una solución de semen de dilución conocida. Para preparar la solución se suele diluir 0,01 ml de semen en 4 ml de suero fisiológico formolado. El contaje de los espermatozoides en el hematocitómetro se hace con un microscopio equipado con contraste de fases (Baril *et al.*, 1993).

Este método es muy exacto pero lento y, por lo tanto, se suele utilizar cuando el número de muestras para evaluar es pequeño (Howard y Pace, 1988).

#### **B. Medida de la densidad óptica mediante espectrofotometría.**

Esta técnica consiste en estimar la concentración de espermatozoides a partir de la densidad óptica de la muestra.

Lógicamente, para poder emplear esta técnica previamente es necesario

obtener una ecuación de regresión que relacione la concentración de espermatozoides y la densidad óptica. Generalmente, para estimar esa ecuación de regresión, curva patrón, se recomienda utilizar entre 20 y 50 muestras de diferente concentración espermática (Baril *et al.*,1993).

Este método es rápido y preciso, por lo que se recomienda cuando es necesario evaluar un número elevado de muestras.

### **2.3.2.3. Motilidad masal e individual**

La motilidad masal es el vigor de las ondas formadas por el movimiento de los espermatozoides (Howard y Pace, 1988).

La motilidad en masa del semen es la suma de tres factores: intensidad de movimiento de los espermatozoides, cantidad total de espermatozoides y porcentaje de espermatozoides vivos. La variación de alguno de estos tres factores modifica las características de las ondas que se forman (Duran del Campo, 1980).

La motilidad en masa se valora, de manera subjetiva, utilizando una escala con seis puntuaciones: Desde 0, ningún movimiento, hasta 5 puntos, movimiento muy rápido con turbulencias.

La valoración de la motilidad masal debe realizarse de forma inmediata tras la obtención del eyaculado, ya que el movimiento en masa de los espermatozoides disminuye en cuestión de segundos (Baril *et al.*, 1993).

La motilidad individual consiste en apreciar y calificar las características del movimiento de los espermatozoides de forma individual. Con el fin de reducir la concentración de espermatozoides y facilitar el estudio es necesario hacer una

dilución del semen fresco. Para ello se debe emplear suero fisiológico o bien los diluyentes que habitualmente se emplean en inseminación artificial y prestar especial atención a la temperatura, ya que en caso contrario puede resultar afectada la motilidad de los espermatozoides (Foote, 1984; Baril *et al.*, 1993).

Para evaluar el movimiento individual de los espermatozoides se tiene en cuenta la velocidad de desplazamiento y la rectitud de los movimientos. Al mismo tiempo, se estima el porcentaje de los espermatozoides que se mueven. Considerando todos estos parámetros, se asigna un valor de motilidad individual dentro de una escala que se extiende desde el 0, ningún espermatozoide es móvil, hasta un valor de 5, todos los espermatozoides se mueven con movimientos rectilíneos (Baril *et al.*, 1993).

Duran del Campo (1980) señala que la motilidad masal es el parámetro más importante en la evaluación del semen de la especie ovina, porque está íntimamente relacionado con la concentración de espermatozoides que hay en el eyaculado, con la movilidad de éstos y con el porcentaje de espermatozoides vivos. Así, una baja concentración de espermatozoides en el eyaculado, un elevado porcentaje de espermatozoides muertos y una escasa movilidad de los mismos, actuando en conjunto o de forma aislada, hará disminuir el espesor de la ondas.

Otros autores, por el contrario no comparten esta opinión. Así por ejemplo, Colas (1981), en un ensayo realizado con moruecos de la raza Ile-de-France, no encontró una relación significativa entre el poder fecundante de los eyaculados y su motilidad masal, cuando este parámetro alcanzaba valores iguales o superiores a tres. Por ello, según este autor, la motilidad masal no debe ser considerada como la característica más importante en la evaluación de la calidad del semen de los moruecos.

En lo que se refiere a la motilidad individual, cabe señalar que se ha encontrado una correlación positiva entre el porcentaje de espermatozoides vivos y móviles y la fecundidad (Hulet *et al.*, 1965; Saacke y White, 1972; Colas *et al.*, 1984; Zhang *et al.*, 1998).

#### **2.3.2.4. Anomalías morfológicas**

En los eyaculados aparecen espermatozoides cuya morfología no se corresponde con la que debe tener un espermatozoide para ser considerado como normal y poder realizar correctamente la fecundación.

Hay distintas clasificaciones de las anormalidades de los espermatozoides. La más utilizada es aquella que divide las morfoanomalías según la región donde se localizan: cabeza, pieza intermedia y cola (Howard y Pace, 1988). Otras dividen las anormalidades en mayores (presencia de gotas citoplasmáticas, cabezas sin cola, etc.) y en menores, tales como cabezas piriformes, cráteres de los acrosomas, etc., (Goffaux, 1991).

Las anormalidades espermáticas más importantes, en cuanto que su presencia en los eyaculados origina importantes disminuciones de la fertilidad, son las que afectan a la región de la cabeza; en segundo lugar, se encontrarían las que se localizan en la pieza intermedia, en especial, la presencia de gotas citoplasmáticas y, en último lugar, las anormalidades de la cola (Hulet *et al.*, 1965; Colas, 1980; Colas, 1981; Colas, 1983; Baril *et al.*, 1993).

El acrosoma juega un papel muy importante en la fecundación ya que posee las enzimas necesarias para romper la zona pelúcida del óvulo, acción imprescindible para la penetración del espermatozoide (Saacke y White, 1972). Por tanto, la alteración del acrosoma repercute negativamente en la fertilidad (Foote,

1969; Saacke y White, 1972).

En general, para que el semen sea considerado de buena calidad debe presentar menos de un 20% de espermatozoides anómalos y menos de un 30% de espermatozoides muertos (Rathore, 1968; Colas, 1981; Foote, 1984; Baril *et al.*, 1993).

Para el estudio de las anormalidades y de los espermatozoides muertos es necesario hacer una tinción del semen y posteriormente un frotis para observar al microscopio. El estudio microscópico debe realizarse, como mínimo, sobre 150 células (Baril *et al.*, 1993).

#### **2.3.2.5. Otros parámetros**

Además de los parámetros mencionados, existen otro tipo de pruebas que permiten evaluar la calidad del semen. No obstante, aunque su empleo está creciendo rápidamente, en la actualidad todavía no se utilizan de forma rutinaria.

Una de las pruebas de mayor difusión es la prueba de termorresistencia, que consiste en someter al semen a una temperatura de 37-38 °C, durante 2 ó 3 horas, y estudiar cómo varía el porcentaje de espermatozoides vivos y su motilidad a lo largo del tiempo. La reducción que se produce en la supervivencia y en la motilidad de los espermatozoides, a medida que transcurre la prueba, proporciona información sobre el tiempo que estas células pueden permanecer viables en el aparato genital de la hembra (Baril *et al.*, 1993).

La fecundación *in vitro* es otra técnica también válida para predecir la calidad del semen. Para la valoración del semen de moruecos se suelen emplear ovocitos de ovino, aunque también se ha recurrido al empleo de ovocitos de vacuno con muy

buenos resultados (Smith y Murray, 1996).

Cada vez con más frecuencia se están utilizando pruebas metabólicas, tales como el consumo de oxígeno, la producción de ácido láctico o el tiempo de reducción del azul de metileno (Foote, 1969; Foote, 1984; Borque y Sagües, 1992; Borque y Sagües, 1993).

Estos parámetros metabólicos están positivamente correlacionados con la concentración de espermatozoides del eyaculado y con su motilidad (Foote, 1969; Borque y Sagües, 1992). Cabe destacar, además, que aportan información sobre el funcionamiento de los distintos órganos que integran el aparato reproductor masculino.

### **2.3.3. Factores de variación**

#### **2.3.3.1. Raza**

Numerosos estudios han puesto en evidencia diferencias entre razas en las características del semen.

En este sentido, Celorrio *et al.* (1994) compararon moruecos de las razas Assaf y Churra y observaron que el volumen (0,83 vs 0,72 cc) y la concentración de espermatozoides del eyaculado ( $4375 \times 10^3$  vs  $3677 \times 10^3$  espermatozoides/cc) eran mayores en los animales de raza Assaf. La motilidad masal, por el contrario, fue mayor (4,60 vs 4,45) en los animales de raza Churra.

Colas y Zinszner-Pfimplin (1975) encontraron que la concentración de espermatozoides ( $4200 \times 10^3$  vs  $3200 \times 10^3$  espermatozoides/cc) y el porcentaje de espermatozoides muertos (20% vs 15%) del eyaculado eran mayores en los

moruecos de raza Préalpes que en los de raza Ile-de-France. Estos mismos autores observaron que el volumen del eyaculado (1,5 vs 0,6 ml) era mayor en los animales de raza Ile-de-France. Land (1970) también comprobó que el volumen del eyaculado era superior en los animales de raza Finnish Landrace que en los de raza Scottish Blackface (1,5 vs 0,6).

Las diferencias raciales pueden ser, en parte, consecuencia de diferencias en el tamaño de los testículos, que determina la capacidad de producción de semen (Lino, 1972; Cameron *et al.*, 1984).

### **2.3.3.2. Edad**

La edad del animal también influye de manera importante en las características del semen (Colas, 1983; Colas *et al.*, 1984).

Alrededor de la pubertad, el semen presenta más proporción de espermatozoides con anomalías morfológicas que en etapas posteriores. Esto indica una incipiente actividad espermatogénica y una incompleta maduración epididimaria (Setchell, 1984; Greig, 1991). Por lo tanto, los animales jóvenes tienen un semen de peor calidad que los adultos (Colas, 1983; Greig, 1991), siendo aconsejable esperar varias semanas, incluso algunos meses, después de la pubertad para utilizar los machos como reproductores (Colas *et al.*, 1984).

Independientemente de la raza y de la edad, existe una gran variabilidad individual en las características del semen, especialmente en el volumen y en la concentración (Raadsma y Edey, 1985; Baril *et al.*, 1993; González *et al.*, 1994; Álvarez *et al.*, 1999).

Así por ejemplo, González *et al.* (1994) encontraron, en moruecos de raza

Manchega de 10 meses de edad, coeficientes de variación en torno a un 30% para el volumen del eyaculado y un 25% para la concentración de espermatozoides. Álvarez *et al.* (1999) observaron, en moruecos de raza Assaf, un coeficiente de variación de alrededor del 30% para el volumen y del 20% para la concentración. Por su parte, Raadsma y Edey (1985) observaron, en moruecos de raza Merina, un coeficiente de variación del 18% en el volumen de eyaculado.

Una parte importante de estas variaciones también podría ser atribuida a diferencias individuales en el tamaño de los testículos. De hecho, se ha encontrado una correlación positiva entre el tamaño de esos órganos, la cantidad de túbulos seminíferos (Oldham *et al.*, 1978; Pomares *et al.*, 1991) y la producción de espermatozoides (Lino, 1972; Cameron *et al.*, 1984; Chemineau, 1986; Solomon y Thwaites, 1997).

### **2.3.3.3. Alimentación**

Las características tanto cuantitativas como cualitativas de la alimentación influyen en las características del semen (Parker y Thwaites, 1972; Oldham *et al.*, 1978; Abi Saab *et al.*, 1997; Hötzel *et al.*, 1998).

La restricción energética afecta negativamente al volumen de los eyaculados y a la concentración de espermatozoides (Tilton *et al.*, 1964; Parker y Thwaites, 1972; Oldham *et al.*, 1978; Alkass y Bryant, 1982; Cameron *et al.*, 1988; Brown, 1994). Cuando la restricción es severa y prolongada se produce, además, una disminución de la motilidad de los espermatozoides (Parker y Thwaites, 1972).

No obstante, el efecto de la restricción energética sobre la calidad del semen depende de su intensidad. Así, por ejemplo, Tilton *et al.* (1964) observaron en moruecos, de raza Rambouillet, una reducción en el volumen de eyaculado de

alrededor de un 50% al disminuir el aporte de energía desde mantenimiento hasta 0,25 las necesidades de mantenimiento. Parker y Thwaites (1972) comprobaron que aportes energéticos ligeramente inferiores a las necesidades de mantenimiento (en torno a 0,75 mantenimiento) provocan una disminución menor del volumen de eyaculado, de alrededor del 30%.

La restricción proteica también causa una disminución del volumen y de la concentración de espermatozoides del eyaculado (Tilton *et al.*, 1964; Ókolski *et al.*, 1971; Brown, 1994). Además puede causar alteraciones en la morfología de los espermatozoides y reducir, de forma más acusada que la subnutrición energética, la motilidad de estas células (Ókolski *et al.*, 1971; Leathem, 1975).

Tal y como sucede con la energía, el efecto de la restricción proteica depende de la intensidad de la misma. En este sentido, Okólski *et al.* (1971) observaron una reducción del 50% del volumen de eyaculado al disminuir el aporte de proteína desde 1,0 hasta 0,6 veces las necesidades de mantenimiento. Tilton *et al.* (1964), sin embargo, encontraron disminuciones de hasta un 60%, en machos adultos, al reducir en mayor cuantía el aporte de proteína.

Las restricciones nutritivas actúan disminuyendo la concentración plasmática de la hormona luteinizante y, en consecuencia, de testosterona (Millar y Fairall, 1976; Alkass y Bryant, 1982). Esta alteración del perfil hormonal, a su vez, causa una disminución de la espermatogénesis y del tamaño de las glándulas accesorias del aparato genital, lo que explicaría la disminución del volumen y de la concentración del eyaculado (Setchell *et al.*, 1965; Sharpe, 1984; Cameron *et al.*, 1988).

Además de este efecto indirecto, la subnutrición ejerce un efecto directo sobre los testículos, en los que produce una reducción de la actividad secretora de las

células de Leydig y una disminución del número de células de Sertoli (Leathem, 1975; Hötzel *et al.*, 1998). Con restricciones severas se puede producir, incluso, degeneración del epitelio de los túbulos seminíferos y esclerosis testicular (Okólski *et al.*, 1971).

Cuando el aporte de energía o proteína supera las necesidades de mantenimiento de los animales se produce el efecto opuesto al que se produce en situaciones de subnutrición, es decir, aumenta el volumen y la concentración de espermatozoides de los eyaculados (Braden *et al.*, 1974; Oldham *et al.*, 1978; Ketut Sutama y Edey, 1985; Cameron *et al.*, 1988; Brown, 1994).

En general, y dentro de ciertos límites, el efecto que causa en las características del semen depende de la cuantía de la sobrealimentación. Así por ejemplo, Ketut Sutama y Edey (1985) comprobaron, en machos de siete meses de edad, que la cantidad total de espermatozoides presentes en el eyaculado se duplicaba al incrementarse el plano de alimentación desde mantenimiento hasta dos veces mantenimiento; con planos de alimentación inferiores también aumentaba la cantidad de espermatozoides, aunque este aumento era menor.

El mecanismo de acción asociado con la sobrealimentación es el opuesto al de la subnutrición; al aumentar el nivel de ingestión se produce un incremento de la concentración plasmática de Lh y de testosterona (Pomares *et al.*, 1991), la proliferación del epitelio de los túbulos seminíferos y un aumento de su diámetro (Oldham *et al.*, 1978; Hötzel *et al.*, 1998).

#### **2.3.3.4. Fotoperiodo**

La calidad del semen de los moruecos está sometida a variaciones estacionales asociadas con el fotoperiodo (Colas, 1979; Colas, 1980; Colas, 1981; Colas, 1983;

Colas *et al.*, 1984; Colas *et al.*, 1985; Henderson, 1991).

El volumen y la concentración espermática de los eyaculados disminuye en aquellos meses en los que se incrementa el número de horas de luz y aumenta en las épocas de fotoperiodo decreciente (Phillips *et al.*, 1943; Sanford *et al.*, 1977; Dacheux *et al.*, 1981; Greig, 1991; Borque y Sagües, 1993, Anel *et al.*, 1995).

El efecto del fotoperiodo sobre la motilidad de los espermatozoides no es tan claro como en el caso de la concentración y del volumen (Colas, 1979; Colas, 1980).

Algunos autores han observado que la motilidad masal evoluciona a lo largo del año de forma prácticamente aleatoria, sin relación aparente con el fotoperiodo (Colas, 1980; Colas, 1981; Colas *et al.*, 1984). Otros autores, sin embargo, han encontrado diferencias entre meses, correspondiendo los mayores valores de motilidad a los meses de fotoperiodo decreciente (Phillips *et al.*, 1943; Fowler, 1965; Anel *et al.*, 1995).

El efecto más acusado y más importante, por la repercusión que tiene sobre la fertilidad, es el que ejerce el fotoperiodo sobre la aparición de anomalías en la morfología de los espermatozoides.

Numerosos trabajos han demostrado que el aumento de horas de luz favorece la aparición de alteraciones morfológicas (Fowler, 1965; Colas, 1980; Colas, 1981; Mickelson *et al.*, 1981a; Colas *et al.*, 1986). Asimismo, como se ha demostrado en ensayos con iluminación artificial, la reducción de las horas diarias de luz reduce el porcentaje de anomalías morfológicas (Schanbacher, 1979).

La influencia negativa que ejerce el fotoperiodo sobre la espermatogénesis

probablemente es consecuencia de las variaciones estacionales que se producen en la concentración sanguínea de las hormonas sexuales.

En este sentido, numerosos estudios han demostrado, tal y como se ha señalado anteriormente, que la concentración en sangre de las hormonas Lh, Fsh y testosterona es menor en los meses de fotoperiodo creciente que en los meses de fotoperiodo decreciente (Sanford *et al.*, 1977; Pelletier y Almeida, 1987; Lincoln *et al.*, 1990; Pérez Llano y Mateos Rex, 1994; Gordon, 1997). Coincide, por tanto, la mayor concentración plasmática de estas hormonas con el periodo del año en el que la calidad del semen es mejor y viceversa (Sanford *et al.*, 1977; Colas, 1980; Colas, 1981; Gordon, 1997).

#### **2.3.3.5. Otros**

Además de los ya mencionados, existen otros factores que también pueden influir en la calidad del semen y que, aunque en general son poco relevantes, en determinadas ocasiones pueden adquirir cierta importancia.

La temperatura ambiental puede influir en la calidad del semen, principalmente en situaciones extremas en las que las temperaturas son muy elevadas o muy bajas.

En los moruecos, la temperatura óptima de los testículos para el correcto desarrollo de la espermatogénesis se sitúa entre 32 y 34 grados centígrados (Braden y Mattner, 1970).

Cuando, durante un periodo de tiempo largo, las temperaturas ambientales son extremas, los mecanismos de regulación son insuficientes para mantener la temperatura escrotal dentro del rango de temperatura óptima (Maloney y Mitchell,

1996). Este hecho puede afectar negativamente al proceso de elaboración de espermatozoides y, por tanto, a la calidad del semen. Así, entre otros cambios, se reduce la concentración de espermatozoides y aumenta la tasa de anomalías morfológicas y el porcentaje de espermatozoides muertos (Phillips *et al.*, 1943; Rathore, 1968; Braden y Mattner, 1970; Colas, 1983; Fiser y Fairfull, 1986). La exposición de los testículos a elevadas temperaturas (39-40 °C) durante un periodo de tiempo prolongado puede, además, causar degeneración de los testículos (Braden y Mattner, 1970; Galloway, 1973).

Además de los comentados, y teniendo en cuenta el desarrollo cada vez mayor de la inseminación artificial ovina, otro de los factores que cabe destacar es la tecnología empleada para el procesado y la conservación del semen.

En este sentido, se sabe que son muchos los factores, incluidos en lo que se denomina tecnología del semen: tipo de diluyente empleado, temperatura de congelación, proceso de congelación y descongelación, etc., que pueden afectar a la calidad del mismo (Colas, 1983; Colas *et al.*, 1984).

---

### **3.- OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL**

---

### 3.1. Objetivos

Los objetivos concretos que se persiguieron en este trabajo fueron los siguientes:

1º.- Estudiar, en corderos de raza Assaf, el efecto del contenido de proteína del pienso administrado en el periodo de crecimiento sobre:

- a) el consumo de alimento,
- b) la ganancia de peso,
- c) el crecimiento de los testículos,
- d) la concentración plasmática de las hormonas Lh, Fsh y testosterona y
- e) la calidad del semen, al finalizar el periodo de crecimiento.

2º.- Estudiar, en moruecos de raza Assaf, el efecto de la ingestión de proteína sobre:

- a) el tamaño de los testículos,
- b) la concentración plasmática de las hormonas Lh, Fsh y testosterona,
- c) la calidad del semen y
- d) la capacidad de servicio.

## **3.2. Planteamiento experimental**

### **3.2.1. Prueba 1**

Para conseguir el primer objetivo se realizó una prueba experimental (Prueba 1) de acuerdo con un diseño factorial 2x2 definido por:

a) dos tipos de pienso con similar contenido de energía metabolizable y diferente contenido de proteína, tanto bruta como metabolizable:

-Bajo (B): 12,82 MJ EM/kg MS, 136 g PB/kg MS y 83 g PM/kg MS.

-Alto (A): 12,64 MJ EM/kg MS, 205 g PB/kg MS y 143 g PM/kg MS.

b) dos periodos de crecimiento:

-Periodo 1, que comprende desde la semana 7 hasta la semana 16 de edad, ambas incluidas.

-Periodo 2, que abarca desde la semana 17 hasta la semana 27 de edad, ambas incluidas.

De esta forma los grupos y los tratamientos experimentales fueron los siguientes:

-grupo BB, que consumió el pienso B en los dos periodos de estudio,

-grupo BA, que recibió el pienso B en el primer periodo y el pienso A en el segundo periodo,

-grupo AA, que consumió el pienso A en los dos periodos y

-grupo AB, que recibió el pienso A en el primer periodo y el pienso B en el segundo periodo.

Tras finalizar el segundo periodo experimental, todos los animales pasaron a recibir, durante cuatro semanas (desde la semana 28 hasta la semana 31 de edad, ambas incluidas), la misma ración. Transcurrido este periodo, se realizó la colección de eyaculados para analizar el efecto de la alimentación recibida durante el primer y segundo periodo sobre la calidad del semen y el tamaño de los testículos.

Los piensos se formularon para lograr las siguientes condiciones: 1<sup>a</sup>) que presentaran un contenido similar de PDR; 2<sup>a</sup>) que el aporte de PDR no fuera limitante para el crecimiento microbiano y 3<sup>a</sup>) que aportaran diferente contenido de PNDR y, por tanto, de proteína metabolizable.

Con el pienso de menor contenido de proteína metabolizable se perseguía que la ingestión de este nutriente fuese limitante para el crecimiento, de manera que los corderos que recibieran este pienso presentaran un menor ritmo de crecimiento que los animales que consumieran el otro pienso experimental.

De acuerdo con estudios realizados por nuestro grupo de trabajo, en otras razas, y considerando las recomendaciones del sistema de alimentación británico (ARC, 1980), se consideró que esta situación nutritiva, cubriendo en cualquier caso las necesidades nitrogenadas de la población microbiana, podría conseguirse con un pienso con un contenido de proteína bruta comprendido entre un 12 y un 13% y una degradabilidad efectiva en torno a un 85%.

En general, para que los corderos alimentados *ad libitum* puedan expresar su máximo potencial de crecimiento, en las etapas iniciales, se recomienda que el contenido de proteína bruta de los piensos se sitúe entre un 16 y un 18%. Puesto que

la extrapolación de unas razas a otras conlleva cierto riesgo y en ensayos realizados por nuestro equipo de investigación no se ha observado un efecto negativo con contenidos de proteína algo superiores (Manso, 1994; Brusa, 1998), se consideró que el nivel alto de proteína bruta debería situarse en torno a un 20% y con una degradabilidad efectiva de alrededor de un 60%.

En relación con los periodos de estudio, cabe destacar que el crecimiento de los testículos no es lineal, sino que sigue un modelo de crecimiento sigmoide en el que se distinguen tres etapas: una etapa inicial de crecimiento lento; una segunda etapa de crecimiento rápido y una tercera de crecimiento lento (Schanbacher *et al.*, 1974; Baril *et al.*, 1993).

Es posible, por tanto, que el efecto de la alimentación dependa de la fase de crecimiento en la que se encuentren los testículos. Por esta razón, se consideraron dos periodos de edad en el diseño experimental, cuyos límites se establecieron utilizando información obtenida en otras razas y que sitúa la finalización de la primera etapa de crecimiento lento entre las 14 y 16 semanas de edad y la etapa de crecimiento rápido alrededor de las 27 semanas.

### **3.2.2. Prueba 2**

Para lograr el segundo objetivo, se realizó un ensayo con machos adultos de raza Assaf, que denominaremos prueba 2.

Los animales se distribuyeron en tres grupos experimentales, cada uno de los cuales recibió una alimentación diferente con la finalidad de conseguir un aporte similar de energía, pero diferente de proteína.

En sementales adultos, las necesidades de energía y de proteína asociadas con la función reproductora no están bien definidas, pero, desde un punto de vista teórico, se puede asumir que éstas no pueden ser muy elevadas.

Teniendo en consideración este hecho, se fijó el aporte de energía en 0,5 MJ de EM/kg PV<sup>0,75</sup>, lo que representa, aproximadamente, 1,3 veces las necesidades de mantenimiento (ARC, 1980). Para estudiar el efecto de la ingestión de proteína, evitando desequilibrios muy extremos en relación con la ingestión de energía, se consideraron tres niveles, dentro del rango comprendido entre 1 y 1,8 veces las necesidades proteicas de mantenimiento: 3,2; 3,9 y 5,2 g de proteína metabolizable/kg PV<sup>0,75</sup>.

Se carece de información sobre las necesidades nutritivas de la raza Assaf. Por ello, para elaborar las raciones experimentales y lograr los niveles de ingestión de energía y de proteína previstos en el diseño experimental, los aportes de energía y proteína se estimaron siguiendo las recomendaciones del sistema de alimentación británico (ARC, 1980).

Por otra parte, puesto que el historial nutritivo de los animales también podría influir en la respuesta a cambios en el consumo de proteína, se seleccionaron animales con una condición corporal similar, comprendida entre 2,50 y 3,25 puntos, que recibieron durante 8 semanas anteriores al inicio del experimento la misma ración, formulada para cubrir sus necesidades de mantenimiento.

Abundando en el tema, se ha apuntado que el efecto de la ingestión de proteína también podría variar con la duración del ensayo. En este sentido, algunos autores consideran que el tiempo mínimo, para observar cambios en la función reproductora como consecuencia de cambios en el aporte de proteína, es de 4 semanas (Martin *et*

*al.*, 1994b). Por este motivo, el ensayo se prolongó durante 8 semanas y se realizaron diferentes mediciones a lo largo del mismo.

---

## **4.- MATERIAL Y MÉTODOS**

---

## 4.1 Prueba 1

### 4.1.1. Animales

Se utilizaron un total de 24 corderos de la raza Assaf que se distribuyeron en 4 grupos, de 6 animales cada uno, de acuerdo con el diseño experimental (grupos BB, BA, AA y AB).

Los grupos se equilibraron en función del peso vivo y la edad de los corderos. No obstante, en el transcurso del experimento fueron eliminados 6 animales porque presentaron ritmos de crecimiento sensiblemente inferiores al de su grupo experimental.

En la tabla VI figuran los valores medios de peso y edad para cada uno de los grupos experimentales al inicio del ensayo.

**Tabla VI:** Peso vivo y edad media de los corderos pertenecientes a cada grupo experimental al inicio del ensayo.

	<b>Grupo BB</b>	<b>Grupo BA</b>	<b>Grupo AA</b>	<b>Grupo AB</b>
<b>PV (kg)</b>	11,47 ± 0,649	11,39 ± 0,803	11,59 ± 0,605	11,34 ± 0,920
<b>Edad (días)</b>	43,60 ± 1,631	47,50 ± 3,279	45,80 ± 1,934	44,25 ± 2,954
<b>n (nº corderos)</b>	5	4	4	5

Los animales utilizados procedieron de 6 explotaciones ubicadas en la provincia de León, que habitualmente colaboran con la Estación Agrícola Experimental (EAE-CSIC).

Desde el nacimiento hasta el destete, los corderos permanecieron de forma continua con sus madres, las cuales se ordeñaron dos veces al día para retirar la

leche sobrante. Los corderos se destetaron entre las cuatro y las cinco semanas de edad, momento en el que se trasladaron a las instalaciones de la EAE-CSIC.

La semana previa al destete, y en las explotaciones de origen, los corderos se vacunaron con Miloxan<sup>®</sup> para prevenir enterotoxemias. Posteriormente, y antes del comienzo del ensayo experimental, se les administró, vía intramuscular, un complejo vitamínico-mineral (Vigantol-E compuesto<sup>®</sup>) y, vía oral, un tratamiento antihelmíntico (Valbazen<sup>®</sup>).

Durante toda la prueba experimental, los corderos permanecieron alojados en jaulas individuales de 2 m<sup>2</sup> de superficie y dispusieron de agua a voluntad y de un bloque corrector de vitaminas y minerales.

Durante las dos semanas, anteriores al inicio del experimento, los animales recibieron heno de prado y paja de cebada a libre disposición y 250 g/animal y día de un pienso, cuya composición figura en la tabla VII.

**Tabla VII:** Composición del pienso que recibieron los animales durante las dos semanas anteriores al experimento (g/100 g de pienso).

<b>Cebada entera</b>	91
<b>Sustitutivo lácteo</b>	5
<b>Corrector vitamínico-mineral</b>	3
<b>Bicarbonato sódico</b>	1

#### 4.1.2. Alimentos

En la alimentación de los corderos, durante el periodo experimental, se utilizaron dos forrajes, heno de prado y paja de cebada, y dos piensos isoenergéticos, pero con diferente contenido de proteína bruta.

El pienso con menor contenido de proteína bruta (B) estuvo constituido por cebada en grano (95%), urea (1%), bicarbonato sódico (1%) y corrector vitamínico-mineral (3%). La composición del pienso con mayor contenido de proteína bruta (A) fue la siguiente: 75% de cebada entera, 20% de torta de soja (mealpass<sup>®</sup>, Cereol Ibérica, SA), 1% de urea, 1% de bicarbonato sódico y 3% de corrector vitamínico-mineral.

Los contenidos de materia seca (MS), materia orgánica (MO), fibra neutro detergente (FND), proteína bruta (PB), proteína degradable (PDR) y no degradable en el rumen (PNDR) y energía metabolizable (M/D) de los forrajes y piensos utilizados, figuran en la tabla VIII.

Los contenidos de PDR y PNDR se estimaron considerando una degradabilidad efectiva de la proteína bruta del 40,78%, 77,72%, 84,13% y 56,32%, para la paja de cebada, heno de prado y piensos B y A, respectivamente.

**Tabla VIII:** Contenido de materia seca (MS), materia orgánica (MO), fibra neutro detergente (FND), proteína bruta (PB), proteína degradable (PDR) y no degradable (PNDR) en el rumen y de energía metabolizable (M/D) de la paja de cebada, del heno de prado y de los piensos con bajo (B) y alto (A) contenido en proteína bruta, utilizados en la primera prueba experimental.

	<b>Paia cebada</b>	<b>Heno prado</b>	<b>Pienso B</b>	<b>Pienso A</b>
<b>MS (g/kg)</b>	908	854	888	884
<b>MO (g/kg MS)</b>	947	917	946	927
<b>FND (g/kg MS)</b>	784	565	241	247
<b>PB (g/kg MS)</b>	27	102	136	205
<b>PDR (g/kg MS)</b>	11	79	114	115
<b>PNDR (g/kg MS)</b>	16	23	22	90
<b>M/D (MJ EM/kg MS)</b>	4,92	8,85	12,82	12,64

El contenido en energía metabolizable de los alimentos se estimó a partir del “valor D” (g materia orgánica digestible-MOD-/kg MS), considerando un aporte de

0,015 MJ EM/kg MOD para los forrajes y de 0,016 MJ EM/kg MOD para los piensos (ver apartado 4.1.5).

#### **4.1.3. Desarrollo experimental**

La prueba experimental comenzó a mediados del mes de mayo de 1997 y tuvo una duración total de 26 semanas, divididas en tres periodos:

- Periodo 1: Desde la semana 1 (semana 7 de edad) hasta la semana 10, ambas incluidas.
- Periodo 2: Desde la semana 11 hasta la semana 21, ambas incluidas.
- Periodo 3: Desde la semana 22 hasta la semana 26, ambas incluidas.

En los periodos 1 y 2, los corderos recibieron diariamente, a voluntad, paja de cebada y el pienso correspondiente (B o A) de acuerdo con el diseño experimental.

En el periodo 3, todos los animales recibieron la misma alimentación, con la finalidad de estudiar si los posibles efectos causados por la alimentación recibida previamente se mantienen en el tiempo. La alimentación consistió en 50 g de heno/kg  $PV^{0,75}$  y día y de 40 g de pienso B/kg  $PV^{0,75}$  y día.

La ración diaria, en todos los periodos, se pesó en una balanza de  $\pm 1g$  de precisión y se administró en una única comida, aproximadamente a las 9:00 horas. En los periodos 1 y 2, la oferta diaria de forraje y de pienso se calculó para permitir restos de 200 g/kg de alimento ofertado.

Los restos no consumidos de forraje y de pienso se recogieron cada mañana y se pesaron; los correspondientes a la misma semana se mezclaron y de la mezcla resultante se tomó una muestra para su posterior análisis químico.

A lo largo del ensayo experimental se realizaron, además, las siguientes mediciones:

- Peso corporal: los corderos se pesaron semanalmente, utilizando una balanza con  $\pm 100$  g de precisión. La pesada siempre se realizó por la mañana, antes de administrar la comida.

- Circunferencia escrotal (CE) y volumen testicular (VT): estos parámetros se midieron cada dos semanas en cada uno de los animales.

La CE se midió con cinta métrica, sobre la parte más ancha del escroto, es decir, el punto de máxima circunferencia del par de testículos.

El VT se estimó por palpación, utilizando como referencia un orquidiómetro diseñado en la “Station de Physiologie de la Reproduction des Mammifères Domestiques” (INRA de Tours, Francia). Cada testículo se comparó con las piezas de un orquidiómetro, siendo el VT la media de ambas medidas (Lindsay *et al.*, 1976).

- Concentración plasmática de hormonas: para la determinación de la concentración plasmática de las hormonas luteinizante (Lh), foliculoestimulante (Fsh) y testosterona se tomaron muestras de sangre, de cada animal, los días 1, 31, 62, 93, 124, 155 y 186 del ensayo.

La extracción de sangre comenzó siempre a las 8:30 horas de la mañana y se efectuó mediante venopunción en la yugular. La muestra de sangre se recogió en tubos heparinizados de 10 ml de capacidad. Inmediatamente después, se centrifugó a 3.000 r.p.m. durante 15 minutos. Una vez centrifugada, se tomó una muestra de 2 ml de plasma, que se conservó a -20 °C hasta su posterior análisis.

- Calidad de los eyaculados: en la semana 26 del ensayo, correspondiente al tercer periodo, se realizaron 3 colecciones de semen de cada morueco, separadas entre sí por un intervalo de un día, para estudiar su calidad.

La recogida de semen se efectuó mediante vagina artificial termorregulada a 40 °C y utilizando ovejas en celo para estimular la monta y eyaculación de los moruecos.

Para cada día de colección, se utilizaron cuatro ovejas diferentes, en celo, de raza merina. El celo de las ovejas se provocó mediante un tratamiento hormonal de 6 días de duración. A cada oveja se le aplicó, vía vaginal, una esponja con progestágenos (Chronogest<sup>®</sup>), que se retiró transcurridos 5 días desde su colocación. El sexto día se administraron, vía intramuscular, 2 cc de estrógenos (Estrógenos Neosan<sup>®</sup>).

Para la recogida de semen, la oveja utilizada se sujetó, por el cuello, en un caballete. A continuación se sacó de la jaula al morueco correspondiente, permitiendo que se aproximase a la oveja para recibir estímulos olfativos y táctiles, pero impidiendo la monta. Concluida esta fase, de aproximadamente 1 minuto de duración, se dejó total libertad de movimientos al morueco, colocando la vagina artificial para la colección del semen en el momento de efectuar el salto.

El semen se recogió en un tubo de cristal graduado, situado en el extremo libre del embudo de látex, que forma parte de la vagina artificial. Para proteger el semen de la luz solar y evitar el choque térmico, el tubo de recogida se calentó, inmediatamente antes de su uso, a una temperatura de, aproximadamente, 37 °C, y se protegió mediante una funda de lana, que también cubría parte de la vagina.

Después de la eyaculación, se trasladó al morueco de nuevo a su jaula y se procedió al análisis del eyaculado.

En todo momento se dispuso de un número suficiente de vaginas artificiales, de manera que una misma vagina nunca fue utilizada, en el mismo día, para obtener el semen de animales distintos.

Para acostumbrar a los animales al manejo, desde la finalización del segundo periodo se extrajo semen una vez por semana, con el mismo procedimiento, anteriormente descrito.

#### **4.1.4. Incubación *in sacco***

Para estimar la degradabilidad en el rumen de los alimentos utilizados, se utilizaron 4 ovejas adultas, de raza merina, equipadas con una cánula ruminal rígida de material plástico y de 35 mm de diámetro interior.

Los animales recibieron, como dieta basal, 600 g/animal y día de cebada en grano y 200 g/animal y día de paja de cebada. La ración diaria se distribuyó en dos tomas iguales administradas, aproximadamente, a las 9:00 y 21:00 horas. Las ovejas dispusieron de un bloque de sales, vitaminas y minerales y de agua a voluntad.

Las muestras de los alimentos empleados en la prueba experimental (cebada, torta de soja, paja de cebada, heno de prado y los piensos A y B) fueron molidas en un molino de martillos, equipado con una malla con un tamaño de paso de 2 mm.

Para la incubación de los alimentos en el rumen se utilizaron bolsas rectangulares monofilamento de poliéster, de 120 x 85 mm de tamaño y 45 µm de diámetro de poro (MAISSA<sup>®</sup>), y se empleó la siguiente serie de incubación: 3, 6, 12, 24, 48 y 72 horas.

De cada uno de los alimentos se prepararon 24 bolsas, una por oveja y tiempo, que contenían, cada una, aproximadamente 5 g de muestra. Las bolsas fueron atadas por su extremo libre, utilizando una cuerda de nailon, dejando libre unos 40 cm para favorecer su movilidad en el compartimento ruminal.

Las cuatro bolsas, correspondientes a cada alimento y tiempo de incubación, se introdujeron en cada una de las ovejas inmediatamente antes de ofrecerles la comida de la mañana.

Transcurrido el tiempo de incubación, las bolsas se retiraron del rumen. A continuación, se lavaron en una lavadora automática utilizando un programa de lavado en frío de 20 minutos de duración. Después del lavado se procedió al secado de las bolsas en estufa de aire forzado a 60 °C durante 48 horas.

Finalmente, las bolsas se pesaron para poder calcular la materia seca que permanecía en la bolsa, y, por diferencia, la materia seca degradada en los diferentes tiempos de incubación.

Los residuos procedentes de las 4 bolsas correspondientes al mismo tiempo de incubación y alimento se mezclaron para realizar sobre ellos los análisis de laboratorio pertinentes.

Para la estimación de la degradabilidad en el tiempo 0 se utilizaron dos bolsas de cada uno de los sustratos, preparados tal y como se describió anteriormente, que se lavaron, secaron y pesaron de forma similar a las que se incubaron en el rumen.

#### **4.1.5. Estimación de la digestibilidad**

La digestibilidad de la materia orgánica de los alimentos utilizados en el ensayo experimental se determinó mediante la técnica descrita por Tilley y Terry (1963).

Este método consiste, en esencia, en una primera incubación de 0,5 gramos de muestra a 39 °C durante 48 horas, en 50 ml de una mezcla de líquido ruminal (80%) y solución tampón (80%). El residuo insoluble resultante se somete a una segunda incubación en 50 ml de una solución de pepsina (2:1000) en ácido clorhídrico (1%), en las mismas condiciones de tiempo y temperatura.

La materia orgánica del residuo, obtenido tras filtrar y lavar abundantemente la muestra con agua destilada, se considera que corresponde a la fracción indigestible.

Para la obtención del líquido ruminal se utilizaron las mismas ovejas empleadas para las incubaciones *in sacco*.

Todas las pruebas *in vitro* se realizaron por duplicado sobre muestras molidas en un molino de martillos con una malla de 1 mm de paso.

#### 4.1.6. Análisis del semen

En cada uno de los eyaculados se analizaron los siguientes parámetros: volumen, motilidad masal, motilidad individual, concentración, porcentaje de espermatozoides con anomalías morfológicas y porcentaje de espermatozoides vivos.

El volumen se midió realizando la lectura directa en el tubo de recogida del semen, sin tener en cuenta la parte espumosa del eyaculado. Los tubos de recogida fueron de vidrio, con graduaciones de 0,1 ml y con una capacidad total de 5 ml.

Para la determinación de los demás parámetros se utilizó un microscopio de contraste de fases (Nikon® alphapot-2 Y S2), equipado con una plátina térmica, que en todo momento se mantuvo a una temperatura de  $37\pm 1$  °C.

La motilidad masal se determinó observando, a 40 aumentos, una gota del eyaculado situada sobre un porta.

La motilidad individual se analizó mediante la observación, a 100 aumentos, de una gota de semen diluido depositada entre el porta y el cubre.

La dilución se realizó mezclando 100 µl de semen con 1 ml de un diluyente, cuya composición se recoge en la tabla IX.

Los valores de motilidad masal e individual se asignaron de acuerdo con las escalas propuestas por Baril *et al.* (1993). La motilidad masal se valora utilizando una escala con 6 puntuaciones: desde 0, ningún movimiento, hasta 5 puntos, movimiento muy rápido con turbulencias. En lo que se refiere a la motilidad

individual, la escala también tiene 6 puntos, que se extiende desde 0, ningún espermatozoide es móvil, hasta 5, valor que se adjudica cuando todos los espermatozoides se mueven con movimientos rectilíneos.

**Tabla IX.** Composición del diluyente utilizado en la preparación del semen.

<b>Agua destilada hervida</b>	100 ml
<b>Leche de vaca desnatada en polvo</b>	11,1 g
<b>Sulfanilamida sódica</b>	0,33 g
<b>Estreptomicina</b>	0,11 g
<b>Penicilina</b>	100.000 U.I.

La concentración de espermatozoides en los eyaculados se determinó siguiendo el método descrito por Baril *et al.* (1993). Este método consiste, básicamente, en contar los espermatozoides presentes en un volumen determinado de una solución de semen de dilución conocida.

La solución se preparó añadiendo 10  $\mu$ l de semen a 4 ml de suero fisiológico formolado, elaborado con agua destilada, cloruro de sodio (0,9%) y formaldehído (0,1%).

Para la lectura se utilizó un hematocitómetro tipo Neubauer, que tiene 0,1 mm de profundidad y consta de dos cámaras de contaje divididas en 16 cuadrados de 0,04 mm<sup>2</sup> de superficie, cada uno de los cuales está dividido, a su vez, en 16 cuadrados de 0,0025 mm<sup>2</sup> de superficie cada uno.

De acuerdo con la dilución realizada, las características del hematocitómetro y teniendo en cuenta que se contaron, en cada una de las dos cámaras, los espermatozoides presentes en 10 cuadrados grandes; la concentración (CC) de los eyaculados (n°espermatozoides/ml de semen) se calculó de la siguiente forma:

$CC = ((n^\circ \text{ de espermatozoides en la cámara A} + n^\circ \text{ de espermatozoides en la cámara B})/2) * 10^2 * 10^3 * 10^2$ .

Los porcentajes de espermatozoides vivos (PEV) y con anomalías morfológicas (PEA) se estimaron siguiendo el procedimiento descrito por Baril *et al.* (1993). Para ello, se realizó un frotis a partir de una gota de semen diluido, que previamente había sido teñido con un colorante cuya composición aparece en la tabla X. En cada frotis se estudiaron, a 400 aumentos, 150 espermatozoides.

La dilución del semen se realizó mezclando 100  $\mu$ l de semen con 1 ml del diluyente que figura en la tabla IX. La tinción se realizó sobre un porta situado en un placa térmica a  $37 \pm 1$  °C, mezclando una gota de dicha solución con 3 gotas del colorante durante un tiempo, aproximado, de 10 segundos.

**Tabla X.** Colorante utilizado en el estudio de las anomalías morfológicas de los espermatozoides.

<b>Eosina soluble en agua</b>	1 g
<b>Nigrosina soluble en agua</b>	2 g
<b>Tricitrato de sodio, 5,5.H<sub>2</sub>O</b>	3,6 g
<b>Agua destilada</b>	100 ml

En cada uno de los espermatozoides observados se estudió la existencia de anomalías de cabeza y de cola, presencia de gota citoplasmática y se determinó si era un espermatozoide vivo (no coloreado) o muerto (coloreado).

#### **4.1.7. Determinaciones analíticas**

##### **4.1.7.1. Alimentos y restos no consumidos**

Para la determinación de la materia seca, las muestras de alimentos y de restos no consumidos fueron secadas en estufa de aire forzado a 55 °C hasta peso

constante. Posteriormente, se molieron en un molino de martillos, equipado con una malla con un tamaño de paso de 2 mm.

En las muestras correspondientes a los alimentos ofertados se determinó su contenido de cenizas y de proteína bruta.

Las cenizas se determinaron por calcinación de las muestras en horno mufla a 500-505 °C. El contenido de materia orgánica (MO) se calculó por diferencia.

El contenido en nitrógeno se determinó según la técnica semimicro-Kjeldahl, siguiendo la modificación del ácido bórico propuesta por Scales y Harrison (1920). El contenido de proteína bruta se obtuvo multiplicando el contenido de nitrógeno de la muestra por el factor 6,25.

El contenido de fibra neutro detergente de los forrajes se determinó siguiendo el método propuesto por Goering y Van soest (1970), mediante la extracción del contenido celular con solución neutro detergente. En el caso de los piensos, se empleó la modificación propuesta por Robertson y Van soest (1981), que incluye el empleo de una solución de amilasa para favorecer la hidrólisis del almidón.

En las muestras de los restos no consumidos se determinó su contenido de proteína bruta, siguiendo la misma metodología que en el caso de los alimentos ofertados.

#### **4.1.7.2 Residuos de las incubaciones *in sacco***

Se determinó su contenido de materia seca y de proteína bruta utilizando los procedimientos anteriormente citados.

#### 4.1.7.3. Hormonas

La concentración plasmática de las hormonas luteinizante (Lh), folículoestimulante (Fsh) y testosterona se determinó mediante radioinmunoanálisis (RIA).

Todas las determinaciones se realizaron en el laboratorio de dosificaciones hormonales de la “Station de Physiologie de la Reproduction des Mammifères Domestiques” (INRA de Tours, Francia). Para determinar las concentraciones de Lh, Fsh y testosterona se emplearon las técnicas descritas por Pelletier *et al.* (1982), McNeilly *et al.* (1976) y Hochereau de Reviers *et al.* (1990), respectivamente.

#### 4.1.8. Cálculos y ajustes matemáticos

##### 4.1.8.1. Cinética de degradación y degradabilidad efectiva

Para describir la cinética de degradación de la proteína bruta se ajustaron los datos de desaparición al siguiente modelo exponencial, descrito por Ørskov y McDonald (1979):

$$Y = a + b(1 - e^{-c \cdot t})$$

donde:

**Y** es la tasa de desaparición de la proteína bruta en el tiempo **t**,

**a** es la fracción inmediatamente degradable,

**b** es la fracción potencialmente degradable

y **c** es la tasa fraccional de degradación de la fracción **b**.

El ajuste se llevó a cabo mediante un proceso iterativo, utilizando el procedimiento NLIN del programa estadístico SAS (SAS, 1989).

La degradabilidad efectiva se estimó según la ecuación propuesta por Ørskov y McDonald (1979), que figura a continuación:

$$DE = a + \{(b \cdot c) / (c + k)\}$$

donde:

**a, b y c** son los parámetros cinéticos de degradación, definidos anteriormente,

y **k** es el ritmo de paso del alimento a través del rumen.

Para estimar la degradabilidad efectiva, se consideraron los siguientes ritmos de paso: 0,033 para la paja de cebada, 0,050 para el heno de prado y 0,083 para los piensos.

#### 4.1.8.2. Crecimiento testicular

Los datos de circunferencia escrotal y de volumen testicular se ajustaron al siguiente modelo:

$$C_{it} = (A_i + B_i) / \{A_i + ((B_i + A_i) \cdot e^{-\mu \cdot t})\}$$

donde:

**C<sub>it</sub>** es la circunferencia escrotal (o volumen testicular) a t días de edad,

**A<sub>i</sub>** es la circunferencia escrotal (o volumen testicular) para t=0, es decir, en el nacimiento,

$B_i$  es la circunferencia escrotal (o volumen testicular) final,

$\mu$  es el coeficiente de proporcionalidad o tasa de madurez,

y  $t$  es la edad en días.

El ajuste se realizó mediante el procedimiento NLIN del paquete estadístico SAS (SAS, 1989).

#### **4.1.9. Análisis estadístico**

Todos los análisis de varianza se realizaron utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 1989).

Cuando los efectos principales fueron significativos, la comparación de medias se realizó mediante el test de las diferencias mínimas significativas (LSD). La comparación de medias, cuando las interacciones fueron significativas, se realizó mediante una  $t$  de *Student*.

##### **4.1.9.1. Ingestión**

Para el análisis de estos resultados se distinguió entre el primer y segundo periodo experimental. Los datos se sometieron a un análisis de varianza de acuerdo con un diseño “split-plot”, considerando la dieta (tipo de pienso) como plot principal y las semanas de experimento como observaciones repetidas en el tiempo (subplot).

El modelo utilizado en el primer periodo fue el siguiente:

$$Y_i = \mu + P1_i + \epsilon_1 + Se_j + P1Se_{ij} + \epsilon_2$$

siendo:

$Y_i$  la variable dependiente,

$\mu$  la media,

$P1_i$  el efecto debido al tipo de pienso administrado,

$\epsilon_1$  el error 1, constituido por el efecto debido al animal, que está jerarquizado al tipo de pienso,

$Se_j$  el efecto debido a la semana de experimento,

$P1Se_{ij}$  el efecto debido a la interacción entre  $P1_i$  y  $Se_j$

y  $\epsilon_2$  el error 2, constituido por la interacción entre el efecto debido a  $P1_i$ ,  $Se_j$  y el efecto debido al animal, jerarquizado al tipo de pienso.

El efecto debido al tipo de pienso se contrastó con el error 1. El efecto debido a la semana y el efecto debido a la interacción entre este factor y el tipo de pienso se contrastaron con el error 2.

El modelo utilizado en el segundo periodo fue el siguiente:

$$Y_i = \mu + P1_i + P2_j + P1P2_{ij} + \epsilon_1 + Se_k + P1Se_{ik} + P2Se_{jk} + P1P2Se_{ijk} + \epsilon_2$$

siendo:

$Y_i$  la variable dependiente,

$\mu$  la media,

$P1_i$  el efecto debido al tipo de pienso administrado en el primer periodo,

$P2_j$  el efecto debido al tipo de pienso administrado en el segundo periodo,

$P1P2_{ij}$  el efecto debido a la interacción entre  $P1_i$  y  $P2_j$ ,

$\epsilon_1$  el error 1, constituido por el efecto debido al animal, que está jerarquizado a la interacción entre  $P1_i$  y  $P2_j$ ,

$Se_k$  el efecto debido a la semana de experimento,

$P1Se_{ik}$  el efecto debido a la interacción entre  $P1_i$  y  $Se_k$ ,

$P2Se_{jk}$  el efecto debido a la interacción entre  $P2_j$  y  $Se_k$ ,

$P1P2Se_{ijk}$  el efecto debido a la interacción entre  $P1_i$ ,  $P2_j$  y  $Se_k$

y  $\epsilon_2$  el error 2, constituido por el efecto debido a la interacción entre  $P1_i$ ,  $P2_j$ ,  $Se_k$  y el animal, jerarquizado a la interacción entre  $P1_i$  y  $P2_j$ .

El efecto debido al tipo de pienso administrado en el primer y segundo periodo y la interacción entre ambos factores de variación se contrastaron con el error 1. El efecto debido a la semana y el efecto debido a la interacción entre este factor y las demás fuentes de variación se contrastaron con el error 2.

#### **4.1.9.2. Peso vivo y ganancia de peso**

La ganancia diaria de peso, en cada periodo, se estimó mediante regresión entre el peso y la edad de los animales.

Para analizar el efecto de los tratamientos experimentales estudiados, los datos de ganancia diaria de peso, así como los datos de los pesos vivos finales en cada periodo, se sometieron a un análisis de varianza utilizando dos modelos distintos según se tratara del primer o del segundo periodo.

El modelo utilizado en el primer periodo fue el siguiente:

$$Y_i = \mu + P1_i + \varepsilon$$

siendo:

$Y_i$  la variable dependiente,

$\mu$  la media,

$P1_i$  el efecto debido al tipo de pienso administrado

y  $\varepsilon$  el error, constituido por el efecto debido al animal, que está jerarquizado al tipo de pienso.

El modelo utilizado en el segundo periodo fue el siguiente:

$$Y_i = \mu + P1_i + P2_j + P1P2_{ij} + \varepsilon$$

siendo:

$Y_i$  la variable dependiente,

$\mu$  la media,

$P1_i$  el efecto debido al tipo de pienso administrado en el primer periodo,

$P2_j$  el efecto debido al tipo de pienso administrado en el segundo periodo,

$P1P2_{ij}$  el efecto debido a la interacción entre  $P1_i$  y  $P2_j$

y  $\varepsilon$  el error, constituido por el efecto debido al animal, que está jerarquizado a la interacción entre  $P1_i$  y  $P2_j$ .

#### **4.1.9.3. Concentración plasmática de hormonas**

Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza, utilizando los mismos modelos empleados para el análisis de la ingestión.

#### 4.1.9.4. Crecimiento testicular

Los datos de CE y VT se sometieron a análisis de varianza y de correlación. Éste último se efectuó de acuerdo con el procedimiento CORR del paquete estadístico SAS (SAS, 1989).

El análisis de varianza de los datos observados de la circunferencia escrotal y del volumen testicular se realizó de acuerdo con un diseño “split-plot”, considerando la semana de medición como observaciones repetidas en el tiempo (subplot); en cada periodo, se utilizó el mismo modelo que en el caso de la ingestión.

Para el análisis de varianza de los parámetros obtenidos a partir del modelo de ajuste empleado para los datos de CE y VT, se utilizó el mismo modelo empleado para el análisis de los datos de peso en el segundo periodo.

#### 4.1.9.5. Características del semen

El análisis de varianza de los datos obtenidos se realizó siguiendo un modelo “split-plot”, considerando los tratamientos experimentales como plot principal y el día de extracción de los eyaculados como observaciones repetidas en el tiempo (subplot).

El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_i = \mu + P1_i + P2_j + P1P2_{ij} + \epsilon_1 + DI_k + P1DI_{ik} + P2DI_{jk} + P1P2DI_{ijk} + \epsilon_2$$

siendo:

$Y_i$  la variable dependiente,

$\mu$  la media,

$P1_i$  el efecto debido al tipo de pienso administrado en el primer periodo,

$P2_j$  el efecto debido al tipo de pienso administrado en el segundo periodo,

$P1P2_{ij}$  el efecto debido a la interacción entre  $P1_i$  y  $P2_j$ ,

$\epsilon_1$  el error 1, constituido por el efecto debido al animal, que está jerarquizado a la interacción entre  $P1_i$  y  $P2_j$ ,

$DI_k$  el efecto debido al día de colección de semen,

$P1DI_{ik}$  el efecto debido a la interacción entre  $P1_i$  y  $DI_k$ ,

$P2DI_{jk}$  el efecto debido a la interacción entre  $P2_j$  y  $DI_k$ ,

$P1P2DI_{ijk}$  el efecto debido a la interacción entre  $P1_i$ ,  $P2_j$  y  $DI_k$

y  $\epsilon_2$  el error 2, constituido por el efecto debido a la interacción entre  $P1_i$ ,  $P2_j$ ,  $DI_k$  y el animal, que está jerarquizado a la interacción entre  $P1_i$  y  $P2_j$ .

El efecto debido al tipo de pienso administrado en el primer y segundo periodo y la interacción entre ambos factores de variación se contrastaron con el error 1. El efecto debido al día de extracción del semen y el efecto debido a la interacción entre este factor de variación y las demás fuentes de variación se contrastaron con el error 2.

## 4.2 Prueba 2

### 4.2.1. Animales

Se utilizaron un total de 18 moruecos de raza Assaf, con edades comprendidas entre 3 y 4 años, que se distribuyeron en 3 grupos, de 6 animales cada uno, de acuerdo con el diseño experimental.

Los grupos se equilibraron en función del peso vivo, la circunferencia escrotal y el volumen testicular. Sin embargo, a lo largo del experimento, 2 animales fueron eliminados porque presentaron problemas de ingestión.

En la tabla XI figuran los valores medios de peso, circunferencia escrotal y volumen testicular de los grupos experimentales al inicio del ensayo.

**Tabla XI :** Valores medios del peso vivo (PV), circunferencia escrotal (CE) y volumen testicular (VT) al inicio del ensayo para cada grupo experimental.

	<b>Grupo Bajo</b>	<b>Grupo Medio</b>	<b>Grupo Alto</b>
<b>PV (kg)</b>	92,0 ± 4,24	93,3 ± 2,92	91,4 ± 2,90
<b>CE (cm)</b>	36,3 ± 0,92	36,8 ± 0,37	36,6 ± 0,51
<b>VT (cc)</b>	331,2 ± 19,83	345,1 ± 9,36	340,1 ± 12,77
<b>n (nº moruecos)</b>	6	5	5

Los animales utilizados procedían de una explotación perteneciente a la Diputación Provincial de León, donde habían sido utilizados como reproductores. En el mes de julio de 1998, los moruecos fueron trasladados a las instalaciones de la EAE-CSIC. Se les administró una vacuna para prevenir las enterotoxemias (Miloxan<sup>®</sup>) y un tratamiento antihelmíntico (Valbazen<sup>®</sup>).

Durante toda la prueba experimental, los animales permanecieron alojados en jaulas individuales de 2 m<sup>2</sup> de superficie y dispusieron de agua a voluntad y de un bloque corrector de vitaminas y minerales.

#### 4.2.2. Alimentos

Se emplearon paja de cebada y tres piensos, con diferente contenido de proteína bruta (bajo, medio y alto), cuya composición química figura en la tabla XII.

Los piensos con bajo y alto contenido de proteína bruta: B y A, respectivamente, fueron los mismos que se utilizaron en la prueba 1. La composición del pienso con contenido medio de proteína bruta (M) fue la siguiente: 85% de cebada entera, 10% de torta de soja (mealpass<sup>®</sup>, Cereol Ibérica, SA), 1% de urea, 1% de bicarbonato sódico y 3% de corrector vitamínico-mineral.

**Tabla XII:** Contenido de materia seca (MS), materia orgánica (MO), fibra neutro detergente (FND), proteína bruta (PB), proteína degradable (PDR) y no degradable (PNDR) en el rumen y de energía metabolizable (M/D) de la paja de cebada y de los piensos con bajo (B), medio (M) y alto (A) contenido de proteína bruta, utilizados en la segunda prueba experimental.

	Paia cebada	Pienso B	Pienso M	Pienso A
<b>MS (g/kg)</b>	908	888	886	884
<b>MO (g/kg MS)</b>	947	946	931	927
<b>FND (g/kg MS)</b>	784	241	262	247
<b>PB (g/kg MS)</b>	27	136	164	205
<b>PDR (g/kg MS)</b>	11	114	118	115
<b>PNDR (g/kg MS)</b>	16	22	46	90
<b>M/D (MJ EM/kg MS)</b>	4,92	12,82	12,61	12,64

Para estimar los contenidos de PDR, PNDR y EM se siguió el mismo procedimiento descrito en la prueba 1. En el caso del pienso M, se consideró una degradabilidad efectiva de la proteína bruta del 72,31%.

### 4.2.3. Desarrollo experimental

El experimento comenzó la primera semana de julio de 1998 y tuvo una duración total de 18 semanas, distribuidas en 8 de periodo preliminar y 10 de periodo experimental.

En el periodo preliminar todos los animales recibieron la misma dieta, que consistió en 20 g de paja de cebada/kg PV<sup>0,75</sup> y día y 35 g del pienso B/kg PV<sup>0,75</sup> y día.

Durante el periodo experimental, cada animal recibió 20 g/Kg PV<sup>0,75</sup> y día de paja de cebada y 35 g/Kg PV<sup>0,75</sup> del pienso correspondiente, B, M o A, según el diseño experimental. La ingestión se ajustó cada dos semanas, considerando las variaciones de peso vivo.

Tanto en el periodo preliminar como en el periodo experimental, la ración diaria se pesó en una balanza de  $\pm 1$ g de precisión y se administró en dos tomas iguales, distribuidas a las 9:00 y a las 19:00 horas.

Diariamente se controló la ingestión. Los restos, si los había, se retiraban y pesaban, tomando una muestra para determinar su contenido de materia seca.

A lo largo del ensayo experimental se efectuaron las siguientes mediciones:

- Peso corporal: los moruecos se pesaron cada dos semanas. Para ello, se utilizó una balanza con  $\pm 100$  g de precisión. La pesada se realizó por la mañana, antes de la administración de la comida.

- Circunferencia escrotal (CE) y volumen testicular (VT): en las semanas 1, 5 y 9 se midió la circunferencia escrotal y el volumen testicular de cada animal, empleando la metodología descrita en la primera prueba experimental.

- Concentración plasmática de hormonas: semanalmente se tomaron muestras de sangre de cada animal para la determinación de la concentración plasmática de las hormonas luteinizante, foliculoestimulante y testosterona.

La extracción de sangre y su procesado se realizó siguiendo el procedimiento descrito en la prueba 1.

- Calidad del semen: las características del semen, de cada animal, se estudiaron en los eyaculados que se obtuvieron los martes y viernes de las semanas 5<sup>a</sup> y 9<sup>a</sup> del periodo experimental.

La obtención de los eyaculados se efectuó igual que en la prueba 1.

Para acostumar a los animales al manejo y colección de semen, tanto en el periodo preliminar como en el experimental, excepto en las semanas en las que se realizó la valoración del semen y las pruebas de capacidad de servicio, se llevaron a cabo, con intervalos de una semana, recogidas de semen en cada uno de los animales.

- Capacidad de servicio: las pruebas de capacidad de servicio se realizaron en las semanas 6<sup>a</sup> y 10<sup>a</sup> del periodo experimental. En cada una de ellas, se realizaron dos pruebas con un intervalo de dos días.

En cada prueba, los sementales fueron expuestos, de forma individual, durante 20 minutos a cinco ovejas en celo. Las pruebas se realizaron en tres recintos de 36 m<sup>2</sup>, separados de manera que no se produjeran contactos visuales ni auditivos entre moruecos, que afectaran a su conducta sexual. En las pruebas se registraron los siguientes parámetros: a) la capacidad de servicio, es decir, el número de montas con eyaculación que realiza cada morueco durante la prueba; b) el tiempo de reacción, es decir, el periodo de tiempo que transcurre desde que el macho entra en contacto con las hembras en celo hasta que realiza la primera monta con eyaculación y c) el número de montas sin eyaculación.

El celo de las ovejas se provocó utilizando el mismo procedimiento descrito en la prueba 1.

#### **4.2.4. Análisis del semen**

Para la valoración de los eyaculados se estudiaron las características descritas en la prueba 1 y se empleó la misma metodología.

#### **4.2.5. Determinaciones analíticas**

##### **4.2.5.1. Alimentos**

En los alimentos ofrecidos a los animales se determinó su contenido de materia seca, cenizas, proteína bruta y fibra neutro detergente, siguiendo la metodología descrita en la prueba 1.

#### **4.2.5.2. Hormonas**

Las concentraciones plasmáticas de las hormonas Lh, Fsh y testosterona se determinaron en el mismo laboratorio y utilizando la misma metodología descrita en la prueba 1.

#### **4.2.6. Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos se sometieron a análisis de varianza y de correlación. Para ello, se utilizaron los procedimientos GLM y CORR del paquete estadístico SAS (SAS, 1989).

Cuando los efectos principales fueron significativos, la comparación de medias se realizó mediante el test de las diferencias mínimas significativas (LSD). La comparación de medias, cuando las interacciones fueron significativas, se realizó mediante una t de *Student*.

Los modelos utilizados para el análisis de varianza de los diferentes parámetros se describen a continuación.

##### **4.2.6.1. Ganancia de peso vivo**

Los incrementos de peso, calculados por diferencia a partir de los datos de peso vivo, se sometieron a un análisis de varianza de acuerdo con el siguiente modelo:

$$Y_i = \mu + D_i + \epsilon$$

siendo:

$Y_i$  la variable dependiente,

$\mu$  la media,

$D_i$  el efecto debido al tipo de dieta (nivel de ingestión de proteína)

y  $\epsilon$  el error, constituido por el efecto debido al animal, jerarquizado al tipo de dieta.

#### 4.2.6.2. Concentración plasmática de hormonas

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza de acuerdo con un diseño “split-plot”, considerando el nivel de ingestión de proteína como plot principal y la semana como observaciones repetidas en el tiempo (subplot).

El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_i = \mu + D_i + \epsilon_1 + Se_j + DSe_{ij} + \epsilon_2$$

siendo:

$Y_i$  la variable dependiente,

$\mu$  la media,

$D_i$  el efecto debido al tipo de dieta,

$\epsilon_1$  el error 1, constituido por el efecto debido al animal, que está jerarquizado al tipo de dieta,

$Se_j$  el efecto debido a la semana de medición,

$DSe_{ij}$  el efecto debido a la interacción entre  $D_i$  y  $Se_j$

y  $\epsilon_2$  el error 2, constituido por la interacción entre el efecto debido a  $D_i$ ,  $Se_j$  y el efecto debido al animal, jerarquizado al tipo de dieta.

El efecto debido al tipo de dieta se contrastó con el error 1. El efecto debido a la semana de medición y el efecto debido a la interacción entre este factor y el tipo de dieta se contrastaron con el error 2.

#### 4.2.6.3. Circunferencia escrotal y volumen testicular

Para el análisis estadístico de los datos de la circunferencia escrotal y del volumen testicular se utilizó el mismo modelo empleado para el análisis de la concentración plasmática de las hormonas.

#### 4.2.6.4. Características del semen y capacidad de servicio

Los datos obtenidos en la evaluación del semen y en las pruebas de capacidad de servicio fueron sometidos a un análisis de varianza de acuerdo con un diseño “split-plot”, considerando la semana de experimento como subplot y el día de extracción de los eyaculados o día de realización de las pruebas de capacidad de servicio como un subsubplot.

El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_i = \mu + D_i + \epsilon_1 + Se_j + DSe_{ij} + \epsilon_2 + DI_k + DDI_{ik} + SeDI_{jk} + DSeDI_{ijk} + \epsilon_3$$

siendo:

$Y_i$  la variable dependiente,

$\mu$  la media,

$D_i$  el efecto debido al tipo de dieta,

$\epsilon_1$  el error 1, constituido por el efecto debido al animal, jerarquizado al tipo de dieta,

$Se_j$  el efecto debido a la semana de experimento,

$DSe_{ij}$  el efecto debido a la interacción entre  $D_i$  y  $Se_j$ ,

$\epsilon_2$  el error 2, constituido por el efecto debido a la interacción entre  $Se_j$  y el efecto debido al animal, jerarquizado al tipo de dieta,

$DI_k$  el efecto debido al día de colección de semen (o día de la prueba de capacidad de servicio),

$DDI_{ik}$  el efecto debido a la interacción entre  $D_i$  y  $DI_k$ ,

$SeDI_{jk}$  el efecto debido a la interacción entre  $Se_j$  y  $DI_k$ ,

$DSeDI_{ijk}$  el efecto debido a la interacción entre  $D_i$ ,  $Se_j$  y  $DI_k$

y  $\epsilon_3$  el error 3, constituido por el efecto debido a la interacción entre  $D_i$ ,  $Se_j$ ,  $DI_k$  y el efecto debido al animal, jerarquizado al tipo de dieta.

El efecto debido a la dieta se contrastó con el error 1. El efecto debido a la semana y la interacción entre este factor y el tipo de dieta se contrastaron con el error 2. El efecto debido al día de colección de los eyaculados, o día de realización de la prueba de capacidad de servicio, y la interacción entre este factor de variación y las demás fuentes de variación se contrastaron con el error 3.

---

## **5.- RESULTADOS**

---

## 5.1. Prueba 1

### 5.1.1. Ingestión

#### 5.1.1.1. Primer periodo

En la Tabla XIII figuran los valores medios de consumo de pienso y de paja de cebada, expresados en gramos de materia seca por animal y día (gMS/animal y día), para cada grupo experimental. En la misma tabla se recogen los resultados de los análisis de varianza.

**Tabla XIII:** Valores medios de consumo (g MS/animal y día) de pienso y de paja de cebada en el primer periodo correspondientes a cada grupo experimental.

Tipo de pienso Grupo Experimental	<u>B</u> BB, BA	<u>A</u> AA, AB
Pienso	805	973
Paja	31	33

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

	P1	Se	P1*Se	CME <sub>1</sub>	CME <sub>2</sub>
Pienso	*	***	NS	174,25	174,55
Paja	NS	NS	NS	3,60	1,07

Fuentes de variación: P1 (tipo de pienso); Se (semana de experimento).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot ( $\times 10^3$ ); CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot ( $\times 10^3$ ).

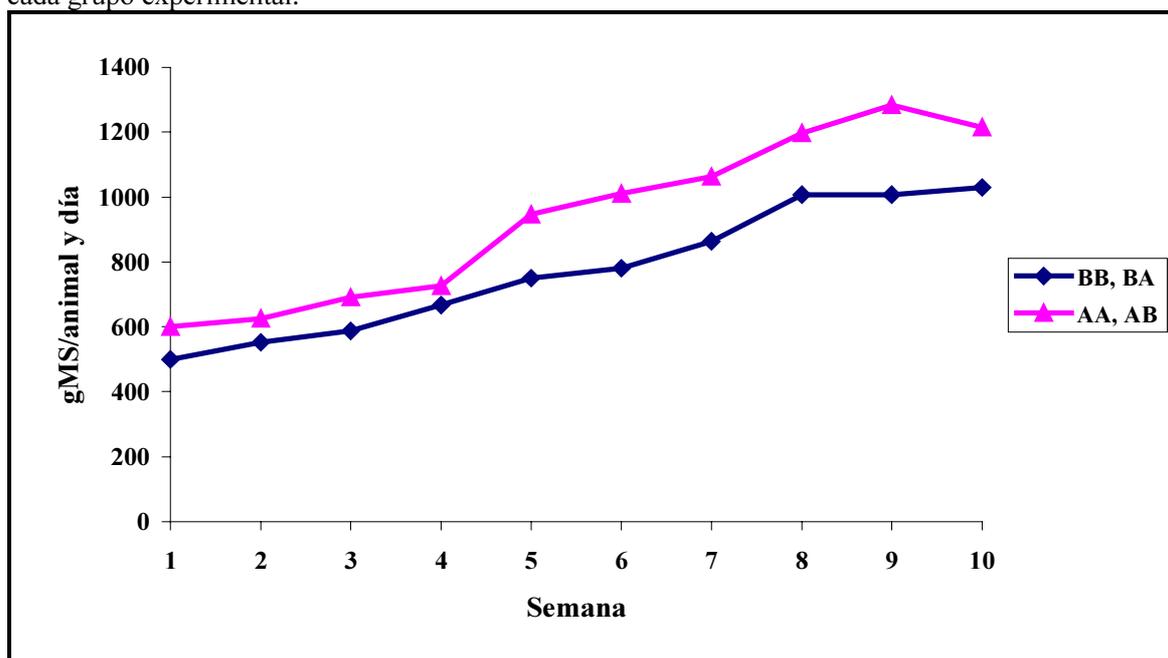
NS:  $P > 0,10$ ; \*:  $P < 0,05$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$ .

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ), atribuibles al tipo de pienso recibido por los animales, en el consumo de pienso. El consumo del grupo que recibió el pienso A fue alrededor de un 20% superior al del grupo que recibió el pienso B.

En lo que respecta al consumo de paja, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $P>0,10$ ) debidas al tipo de pienso, siendo el valor medio de  $32 \pm 1,5$  g de MS por animal y día.

La semana de experimento influyó significativamente ( $P<0,001$ ) en la ingestión de pienso, pero no en el consumo de paja ( $P>0,10$ ). Tal y como aparece reflejado en la figura I, el consumo de pienso aumentó progresivamente desde el inicio del experimento hasta la semana 8. A partir de ese momento, y hasta el final del periodo, la ingestión no aumentó de forma estadísticamente significativa ( $P>0,10$ ).

**Figura I.** Evolución de la ingestión de pienso durante el primer periodo del experimento, para cada grupo experimental.



La interacción entre el tipo de pienso y la semana no fue estadísticamente significativa ( $P>0,10$ ) en ningún caso.

### 5.1.1.2. Segundo periodo

En la Tabla XIV se recogen los resultados del análisis de varianza y los valores medios de consumo de pienso y de paja de cebada, correspondientes al segundo periodo.

**Tabla XIV:** Valores medios de consumo (g MS/animal y día) de pienso y de paja de cebada en el segundo periodo correspondientes a cada grupo experimental.

	GRUPO EXPERIMENTAL			
	BB	BA	AA	AB
<b>Pienso</b>	1276	1331	1426	1218
<b>Paja</b>	36 <sup>A</sup>	47 <sup>B</sup>	37 <sup>A</sup>	52 <sup>B</sup>

### ANÁLISIS DE VARIANZA

	P1	P2	P1*P2	Se	P1*Se	P2*Se	P1*P2*Se	CME <sub>1</sub>	CME <sub>2</sub>
<b>Pienso</b>	NS	NS	NS	***	NS	NS	NS	976,85	615,96
<b>Paja</b>	NS	NS	***	***	***	NS	***	26,97	41,90

Fuentes de variación: P1 (tipo de pienso en el periodo 1); P2 (tipo pienso en el periodo 2); Se (semana de experimento).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot.

NS: P>0,10; \*\*\*: P<0,001.

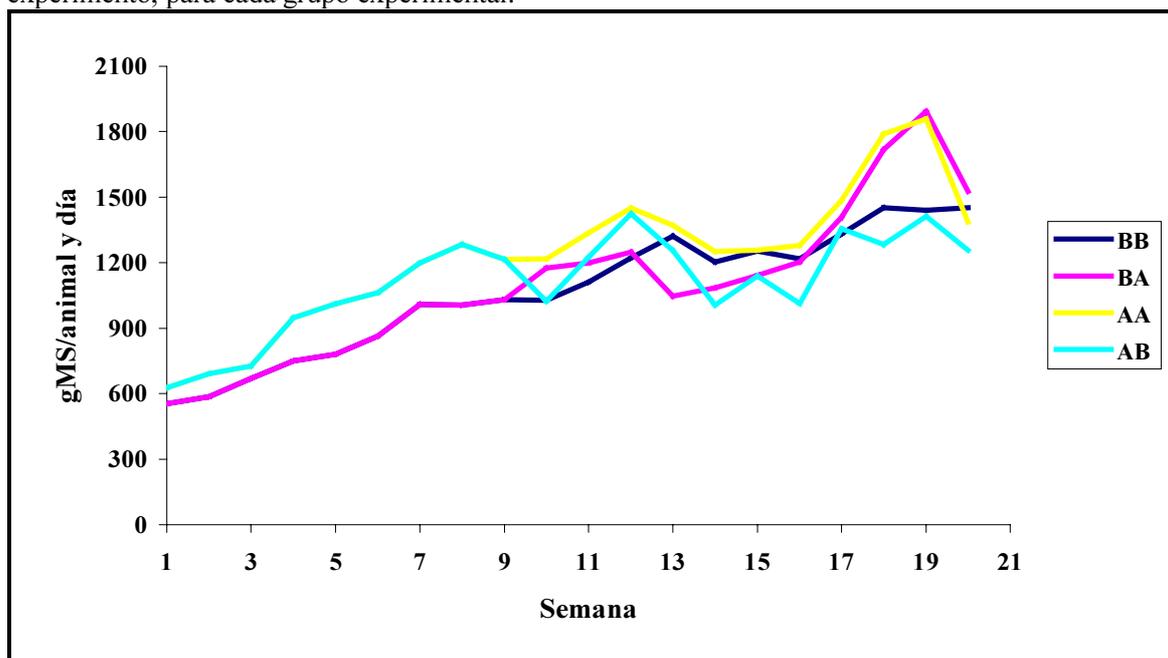
<sup>A,B</sup> Dentro de la misma fila, los valores con diferente superíndice difieren significativamente (P<0,05).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas (P>0,10) en la ingestión de pienso atribuibles al tipo de pienso consumido por los animales en el primer periodo o en el segundo periodo, ni a su interacción. El valor medio fue de 1317 ± 26,2 g de MS por animal y día.

La interacción entre el tipo de pienso administrado en el primer y en el segundo periodo fue estadísticamente significativa (P<0,05) en lo que respecta al consumo de paja.

Los consumos de pienso y de paja de cebada variaron significativamente ( $P < 0,001$ ) con la semana, aunque la evolución fue muy irregular (figura II).

**Figura II.** Evolución de la ingestión de pienso durante el primer y segundo periodo del experimento, para cada grupo experimental.



### 5.1.1.3. Tercer periodo

Los animales consumieron todo el alimento ofertado, de manera que se consiguieron los niveles de ingestión de forraje y de pienso previstos en el diseño experimental ( $50 \text{ g de heno/kg PV}^{0,75}$  y día y  $40 \text{ g de pienso B/kg PV}^{0,75}$  y día).

## 5.1.2. Variaciones de peso vivo

### 5.1.2.1. Primer periodo

En la Tabla XV figuran los datos de ganancia diaria de peso vivo (g/día) para cada uno de los grupos experimentales. En la misma tabla se recogen los valores medios de peso vivo de los animales de cada grupo al finalizar el periodo (semana 10).

**Tabla XV:** Ganancia diaria de peso (IPV) durante el primer periodo y peso vivo (PV) al final del mismo, para cada grupo experimental.

<b>Tipo pienso</b>	<b><u>B</u></b>	<b><u>A</u></b>		
<b>Grupo experimental</b>	<b>BB, BA</b>	<b>AA, AB</b>	<b>RSD</b>	<b>nivel de significación.</b>
<b>IPV (g/día)</b>	250	327	45,1	**
<b>PV (kg)</b>	28,6	32,0	3,55	T

T:  $P < 0,10$ ; \*\*:  $P < 0,01$ . RSD: Desviación estándar residual.

La ganancia diaria de peso vivo varió significativamente ( $P < 0,01$ ) con el tipo de pienso, correspondiendo los mayores valores a los corderos que recibieron el pienso A.

El peso vivo final mostró una tendencia ( $P < 0,10$ ) a ser mayor en el grupo que consumió el pienso A.

### 5.1.2.2. Segundo periodo

En la Tabla XVI se presentan los valores medios de la ganancia diaria de peso vivo de los diferentes grupos experimentales durante el segundo periodo y del peso vivo alcanzado por los animales al final del mismo.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) en la ganancia diaria de peso vivo debidas al tipo de pienso administrado durante el segundo periodo, correspondiendo los menores ritmos de crecimiento a los animales que consumieron el pienso B.

El efecto del tipo de pienso recibido en el primer periodo y la interacción entre las dos fuentes de variación no fue estadísticamente significativa ( $P > 0,10$ ).

**Tabla XVI:** Ganancia diaria de peso vivo (IPV) durante el segundo periodo y peso vivo (PV) al final del mismo, para cada grupo experimental.

	<u>GRUPO EXPERIMENTAL</u>				<u>ANÁLISIS DE VARIANZA</u>			
	<b>BB</b>	<b>BA</b>	<b>AA</b>	<b>AB</b>	<b>RSD</b>	<b>P1</b>	<b>P2</b>	<b>P1*P2</b>
<b>IPV (g/día)</b>	304	369	331	234	63,1	NS	*	NS
<b>PV (kg)</b>	50,8	56,9	56,6	51,4	6,09	NS	NS	NS

Fuentes de variación: P1 (tipo de pienso en el periodo 1); P2 (tipo de pienso en el periodo 2).

NS:  $P > 0,10$ ; \*:  $P < 0,05$ . RSD: Desviación estándar residual.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) en el peso vivo, al final del segundo periodo, atribuibles a ninguno de los factores estudiados.

### 5.1.2.3. Tercer periodo

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) entre grupos experimentales atribuibles al tipo de pienso consumido en el primer o en el segundo periodo, ni a su interacción, en el peso vivo al finalizar el tercer periodo (semana 25).

Los valores medios de peso vivo fueron  $58,5 \pm 3,19$  kg,  $60,4 \pm 4,70$  kg,  $64,6 \pm 3,08$  kg y  $56,4 \pm 3,26$  kg, para los grupos BB, BA, AA y AB, respectivamente.

### 5.1.3. Concentración plasmática de hormonas

#### 5.1.3.1. Hormona luteinizante (Lh)

##### 5.1.3.1.1 Primer periodo

En la tabla XVII figuran los valores medios de la concentración plasmática de Lh (ng/ml) en las semanas 1, 5 y 9 del ensayo, para cada grupo experimental. En la misma tabla se recogen los resultados del análisis de varianza.

**Tabla XVII:** Valores medios de la concentración plasmática de Lh (ng/ml) en el primer periodo, para cada grupo experimental.

Tipo de pienso Grupo experimental	<b>B</b> BB, BA	<b>A</b> AA, AB	Media
<b>Semana</b>			
1	0,95	1,42	1,19 <sub>a</sub>
5	2,22	2,60	2,41 <sub>b</sub>
9	1,11	1,67	1,39 <sub>a</sub>
<b>Media</b>	1,43	1,90	

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

P1	Se	P1*Se	CME <sub>1</sub>	CME <sub>2</sub>
NS	**	NS	2,01	1,16

Fuentes de variación: P1 (tipo de pienso en el periodo 1); Se (semana de extracción de sangre).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: cuadrado medio del error del subplot.

NS:  $P > 0,10$ ; \*\*:  $P < 0,01$ .

<sub>a,b</sub> Dentro de la misma columna, los valores con diferente subíndice difieren significativamente ( $P < 0,05$ ).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P>0,10$ ) en la concentración plasmática de Lh debidas al tipo de pienso consumido por los animales.

La semana influyó significativamente ( $P<0,01$ ) en la concentración plasmática de esta hormona. El mayor valor correspondió a la semana 5, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ( $P>0,10$ ) entre las concentraciones plasmáticas de las semanas 1 y 9.

### 5.1.3.1.2 Segundo periodo

En la tabla XVIII figuran los valores medios de la concentración plasmática de Lh (ng/ml) en las semanas 13, 17 y 21 del ensayo, para cada grupo experimental, así como los resultados del análisis de varianza.

**Tabla XVIII:** Valores medios de la concentración plasmática de Lh (ng/ml) en el segundo periodo, para cada grupo experimental.

Semana	GRUPO EXPERIMENTAL				Media
	BB	BA	AA	AB	
13	1,66	2,85	1,54	0,72	1,68 <sub>b</sub>
17	1,02	2,10	1,46	0,90	1,35 <sub>ab</sub>
21	0,56	0,90	0,80	1,27	0,86 <sub>a</sub>
Media	1,08	1,95	1,27	0,96	

### ANÁLISIS DE VARIANZA

P1	P2	P1*P2	Se	P1*Se	P2*Se	P1*P2*Se	CME <sub>1</sub>	CME <sub>2</sub>
NS	*	NS	*	NS	NS	NS	1,07	0,68

Fuentes de variación: P1 (tipo de pienso en el periodo 1); P2 (tipo de pienso en el periodo 2); Se (semana de extracción de sangre).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: cuadrado medio del error del subplot.

NS:  $P>0,10$ ; \*:  $P<0,05$ .

<sub>a,b</sub> Dentro de la misma columna, los valores con diferente subíndice difieren significativamente ( $P<0,05$ ).

La concentración plasmática de Lh cambió significativamente ( $P < 0,05$ ) con la semana. El mayor valor se observó en la semana 13 y el menor al finalizar el periodo (semana 21).

El tipo de pienso administrado en el segundo periodo influyó significativamente ( $P < 0,05$ ) en la concentración plasmática de Lh. Los animales que recibieron el pienso A presentaron los mayores valores ( $1,57 \pm 0,216$  vs  $1,03 \pm 0,159$ ).

#### **5.1.3.1.3 Tercer periodo**

El tipo de pienso consumido en los periodos previos no influyó de forma estadísticamente significativa ( $P > 0,10$ ) en la concentración plasmática de Lh correspondiente al tercer periodo (semana 25). Los valores medios fueron  $0,58 \pm 0,058$  ng/ml para el grupo BB,  $0,90 \pm 0,204$  ng/ml para el grupo BA,  $1,18 \pm 0,581$  ng/ml para el grupo AA y  $0,57 \pm 0,155$  ng/ml para el grupo AB.

#### **5.1.3.2. Hormona folículoestimulante (Fsh)**

##### **5.1.3.2.1. Primer periodo**

En la tabla XIX se pueden observar los valores medios de la concentración plasmática de Fsh (ng/ml) en las semanas 1, 5 y 9 del ensayo, para cada grupo experimental. En la misma tabla también figuran los resultados del análisis de varianza.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) atribuibles a las fuentes de variación estudiadas o a su interacción en la concentración plasmática de Fsh.

**Tabla XIX:** Valores medios de la concentración plasmática de Fsh (ng/ml) en el primer periodo, para cada grupo experimental.

Tipo de pienso Grupo experimental	<u>B</u> BB, BA	<u>A</u> AA, AB	Media
<b>Semana</b>			
1	0,63	0,77	0,70
5	0,49	0,74	0,68
9	0,70	0,67	0,61
<b>Media</b>	0,59	0,73	

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

P1	Se	P1*Se	CME <sub>1</sub>	CME <sub>2</sub>
NS	NS	NS	0,29	0,10

Fuentes de variación: P1 (tipo de pienso en el periodo 1); Se (semana de extracción de sangre).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot.; CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot.

NS:  $P > 0,10$ .

#### **5.1.3.2.2. Segundo periodo**

En la tabla XX figuran los valores medios de la concentración plasmática de Fsh (ng/ml) en las semanas 13, 17 y 21 del ensayo, para cada grupo experimental. En la misma tabla se recogen los resultados del análisis de varianza realizado.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) atribuibles al tipo de pienso consumido por los animales en el primer o en el segundo periodo, ni a su interacción, en la concentración plasmática de Fsh.

**Tabla XX:** Valores medios de la concentración plasmática de Fsh (ng/ml) en el segundo periodo, para cada grupo experimental.

	GRUPO EXPERIMENTAL				Media
	BB	BA	AA	AB	
<b>Semana</b>					
13	0,34	0,35	0,46	0,35	0,38 <sub>a</sub>
17	0,86	1,07	1,24	0,80	1,01 <sub>b</sub>
21	0,64	0,55	0,95	0,93	0,76 <sub>b</sub>
<b>Media</b>	0,61	0,66	0,88	0,75	

### ANÁLISIS DE VARIANZA

P1	P2	P1*P2	Se	P1*Se	P2*Se	P1*P2*Se	CME <sub>1</sub>	CME <sub>2</sub>
NS	NS	NS	***	NS	NS	NS	0,44	0,18

Fuentes de variación: P1 (tipo de pienso en el periodo 1); P2 (tipo de pienso en el periodo 2); Se (semana de extracción de sangre).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot.

NS: P>0,10; \*\*\*: P<0,001.

<sub>a,b</sub> Dentro de la misma columna, los valores con diferente subíndice difieren significativamente (P<0,05).

La concentración plasmática de esta hormona, por el contrario, varió significativamente (P<0,001) entre semanas. Los menores valores se registraron en la semana 13, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas (P>0,10) entre las otras dos semanas.

#### **5.1.3.2.3. Tercer periodo**

El tipo de pienso consumido en los periodos previos no influyó de forma estadísticamente significativa (P>0,10) en la concentración plasmática de Fsh en el tercer periodo (semana 25). Los valores medios fueron 0,55 ± 0,149 ng/ml; 0,25 ± 0,050 ng/ml; 0,30 ± 0,053 ng/ml y 0,55 ± 0,050 ng/ml, para los grupos BB, BA, AA y AB, respectivamente.

### 5.1.3.3. Testosterona

#### 5.1.3.3.1. Primer periodo

En la tabla XXI figuran los valores medios de la concentración plasmática de testosterona (ng/ml) en las semanas 1, 5 y 9 del ensayo, para cada grupo experimental. En la misma tabla se recogen los resultados del análisis de varianza.

**Tabla XXI:** Valores medios de la concentración plasmática de testosterona (ng/ml) en el primer periodo, para cada grupo experimental.

Tipo de pienso Grupo experimental	<b>B</b> BB, BA	<b>A</b> AA, AB	Media
<b>Semana</b>			
1	1,43	1,34	1,38 <sub>a</sub>
5	0,77	2,26	1,52 <sub>a</sub>
9	2,21	3,12	2,66 <sub>b</sub>
<b>Media</b>	1,48	2,24	

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

P1	Se	P1*Se	CME <sub>1</sub>	CME <sub>2</sub>
NS	***	NS	2,15	1,07

Fuentes de variación: P1 (tipo de pienso en el periodo 1); Se (semana de extracción de sangre).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot.

NS: P>0,10; \*\*\*: P<0,001.

<sub>a,b</sub> Dentro de la misma columna, los valores con diferente subíndice difieren significativamente (P<0,05).

Como pone de manifiesto el análisis de varianza realizado, no existieron diferencias estadísticamente significativas (P>0,10) atribuibles al tipo de pienso consumido por los animales en la concentración plasmática de testosterona.

La concentración plasmática de testosterona varió significativamente ( $P < 0,001$ ) entre semanas. El mayor valor se observó en la semana 9, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) entre los otros dos momentos de muestreo.

### 5.1.3.3.2. Segundo periodo

En la tabla XXII se recogen los valores medios de la concentración plasmática de testosterona (ng/ml) en las semanas 13, 17 y 21 del ensayo, para cada grupo experimental, y los resultados del análisis de varianza.

**Tabla XXII:** Valores medios de la concentración plasmática de testosterona (ng/ml) en el segundo periodo, para cada grupo experimental.

	GRUPO EXPERIMENTAL				Media
	BB	BA	AA	AB	
<b>Semana</b>					
13	5,16	4,30	3,66	2,82	4,03 <sub>a</sub>
17	7,58	7,07	6,30	4,30	6,38 <sub>b</sub>
21	6,48	6,07	7,24	10,70	7,54 <sub>b</sub>
<b>Media</b>	6,41	5,82	5,73	5,94	

### ANÁLISIS DE VARIANZA

P1	P2	P1*P2	Se	P1*Se	P2*Se	P1*P2*Se	CME <sub>1</sub>	CME <sub>2</sub>
NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	15,89	9,87

Fuentes de variación: P1 (tipo de pienso en el periodo 1); P2 (tipo de pienso en el periodo 2); Se (semana de extracción de sangre).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot.

NS:  $P > 0,10$ ; \*\*:  $P < 0,01$ .

<sub>a,b</sub> dentro de la misma columna, los valores con diferente subíndice difieren significativamente ( $P < 0,05$ ).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) atribuibles al tipo de pienso consumido por los animales en el primer o en el segundo periodo, ni a su interacción, en la concentración plasmática de testosterona.

La semana de muestreo, sin embargo, influyó significativamente ( $P < 0,01$ ) en este parámetro. Los menores valores correspondieron a la semana 13 y no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) entre las otras dos semanas.

#### 5.1.3.3.3. Tercer periodo

El tipo de pienso consumido en los periodos previos no influyó de forma estadísticamente significativa ( $P > 0,10$ ) en la concentración plasmática de testosterona en el tercer periodo (semana 25). Los valores medios fueron  $14,00 \pm 2,118$  ng/ml;  $9,72 \pm 3,498$  ng/ml;  $11,16 \pm 1,856$  ng/ml y  $15,57 \pm 1,195$  ng/ml, para los grupos BB, BA, AA y AB, respectivamente.

#### 5.1.3.4. Relaciones entre la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona

En la tabla XXIII figuran los coeficientes de correlación entre la concentración plasmática de Lh, de Fsh y de testosterona, para cada grupo experimental, si bien éstos no fueron estadísticamente significativos ( $P > 0,10$ ) en ningún caso.

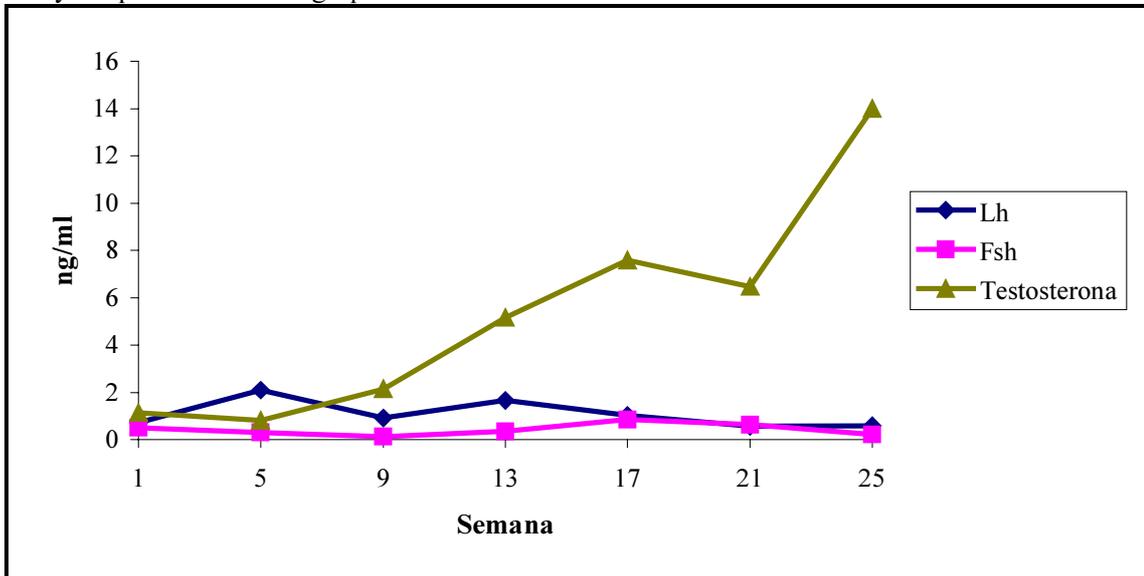
**Tabla XXIII:** Coeficientes de correlación entre la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, para cada grupo experimental.

	<u>Grupo BB (n=7)</u>		<u>Grupo BA (n=7)</u>		<u>Grupo AA (n=7)</u>		<u>Grupo AB (n=7)</u>	
	Lh	Fsh	Lh	Fsh	Lh	Fsh	Lh	Fsh
<b>Fsh</b>	-0,22ns		0,23ns		0,12ns		0,08ns	
<b>Testosterona</b>	-0,47ns	0,09ns	-0,32ns	-0,22ns	-0,56ns	-0,43ns	-0,50ns	0,17ns

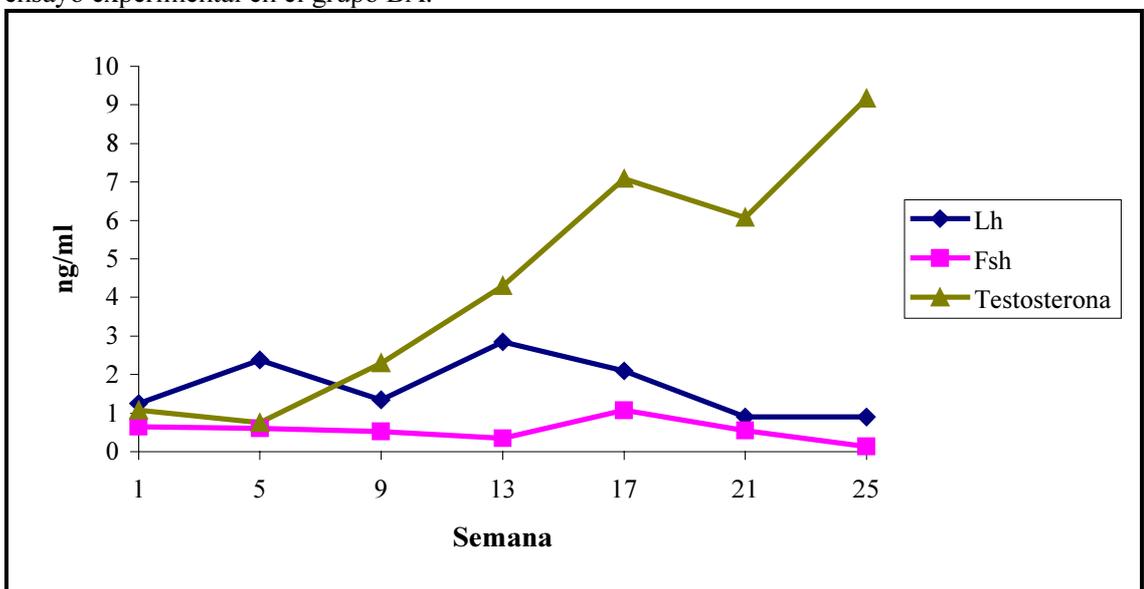
ns:  $P > 0,10$ .

En las figuras III, IV, V y VI se puede observar la evolución de la concentración plasmática de las hormonas Lh, Fsh y testosterona a lo largo de todo el ensayo para los grupos BB, BA, AA y AB, respectivamente.

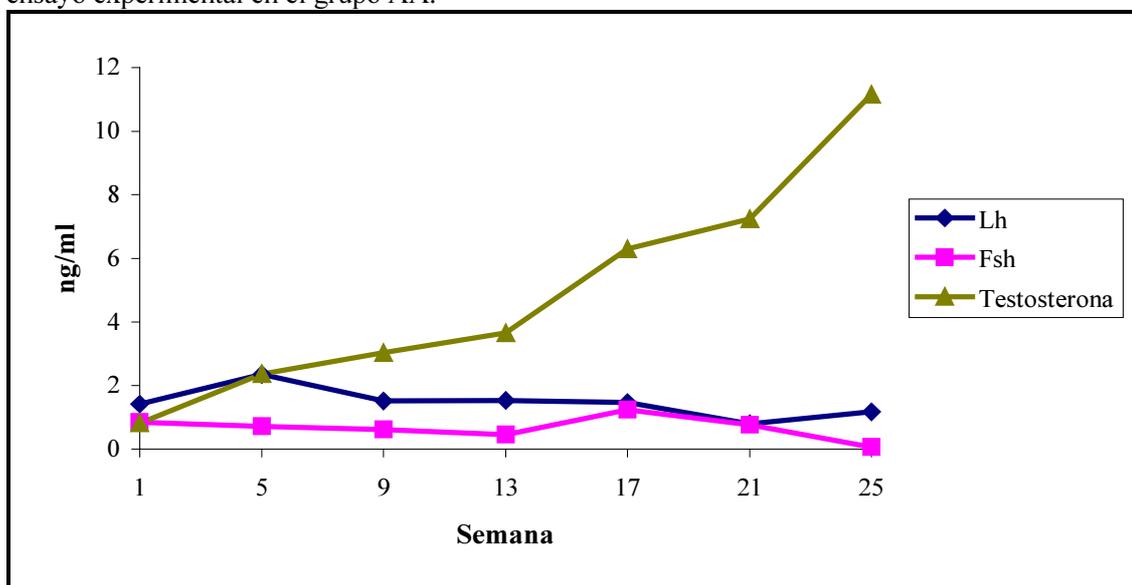
**Figura III.** Evolución de la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, a lo largo del ensayo experimental en el grupo BB.



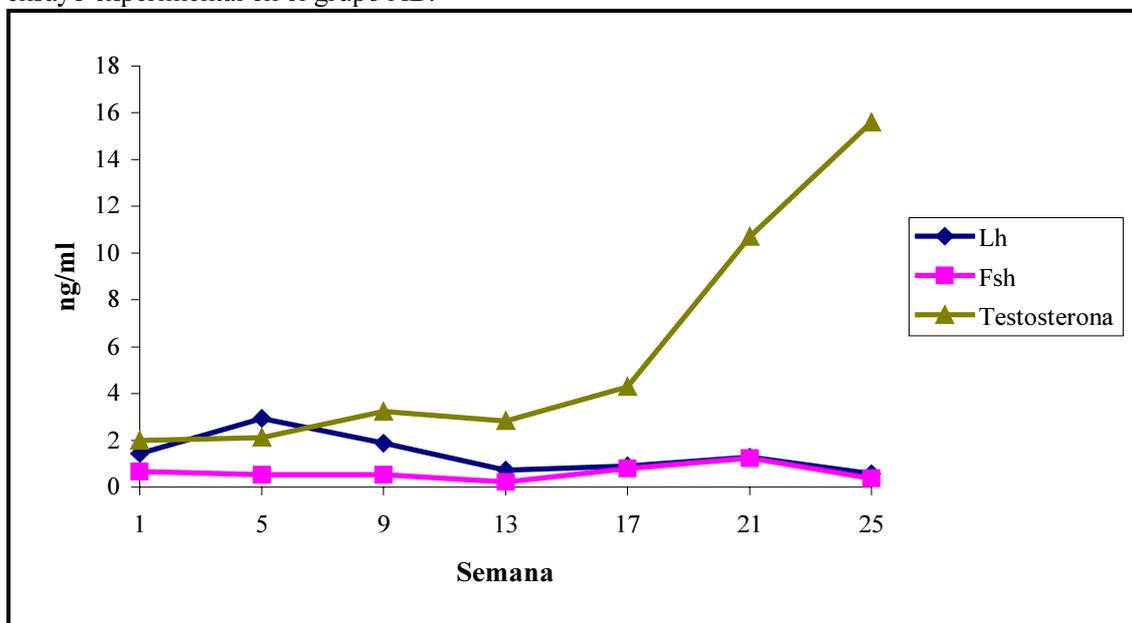
**Figura IV.** Evolución de la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, a lo largo del ensayo experimental en el grupo BA.



**Figura V.** Evolución de la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, a lo largo del ensayo experimental en el grupo AA.



**Figura VI.** Evolución de la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, a lo largo del ensayo experimental en el grupo AB.



## 5.1.4. Crecimiento de los testículos

### 5.1.4.1. Circunferencia escrotal

#### 5.1.4.1.1. Primer periodo: valores observados

En la tabla XXIV se presentan los valores medios de la circunferencia escrotal correspondientes al primer periodo, para cada grupo experimental, así como los resultados del análisis de varianza.

**Tabla XXIV:** Valores medios de la circunferencia escrotal (cm) correspondientes al primer periodo, para cada grupo experimental.

Tipo de pienso Grupo experimental	<u>B</u> BB, BA	<u>A</u> AA, AB	Media
<b>Semana</b>			
1	9,28	10,11	9,69 <sub>a</sub>
3	12,01	12,94	12,48 <sub>b</sub>
5	13,05	15,11	14,08 <sub>c</sub>
7	16,50	19,00	17,75 <sub>d</sub>
9	18,55	21,39	19,97 <sub>e</sub>
11	22,44	24,27	23,36 <sub>f</sub>
<b>Media</b>	15,30 <sup>A</sup>	17,14 <sup>B</sup>	

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

P1	Se	P1*Se	CME <sub>1</sub>	CME <sub>2</sub>
*	***	NS	15,00	1,72

Fuentes de variación: P1 (tipo de pienso en el periodo 1); Se (semana de experimento).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot.

NS: P>0,10; \*: P<0,10; \*\*\*: P<0,001.

<sup>A,B</sup> Dentro de la misma fila, los valores con diferente superíndice difieren significativamente (P<0,05).

<sub>a,b,e,d,e,f</sub> Dentro de la misma columna, los valores con diferente subíndice difieren significativamente (P<0,05).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) en la circunferencia escrotal debidas al tipo de pienso consumido por los animales. Los mayores valores correspondieron al grupo que consumió el pienso A.

Asimismo, la circunferencia escrotal varió significativamente ( $P < 0,001$ ) con la semana de experimento, aumentando de forma continua, en ambos grupos, desde el inicio del periodo hasta la finalización del mismo.

#### **5.1.4.1.2. Segundo periodo: valores observados**

En la tabla XXV se recogen los valores medios de la circunferencia escrotal correspondientes al segundo periodo para cada grupo experimental, así como los resultados del análisis de varianza.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) en la circunferencia escrotal atribuibles al tipo de pienso recibido por los animales en el primer o en el segundo periodo, ni a su interacción.

La semana de experimento, por el contrario, influyó significativamente ( $P < 0,001$ ) en la circunferencia escrotal. El mayor valor correspondió a la semana 21 y el menor a la semana 11.

**Tabla XXV:** Valores medios de la circunferencia escrotal (cm) en el segundo periodo, para cada grupo experimental.

<b>GRUPO EXPERIMENTAL</b>					
	<b>BB</b>	<b>BA</b>	<b>AA</b>	<b>AB</b>	<b>Media</b>
<b>Semana</b>					
<b>11</b>	21,80	23,25	24,70	23,75	23,36 <sub>a</sub>
<b>13</b>	24,60	26,37	27,00	25,50	25,86 <sub>b</sub>
<b>15</b>	25,00	26,50	26,80	27,12	26,31 <sub>b</sub>
<b>17</b>	27,20	29,12	29,90	28,25	28,61 <sub>c</sub>
<b>19</b>	27,50	29,40	30,10	28,37	28,84 <sub>c</sub>
<b>21</b>	27,89	29,82	30,49	29,21	29,33 <sub>c</sub>
<b>Media</b>	25,66	27,41	28,16	27,03	

**ANÁLISIS DE VARIANZA**

<b>P1</b>	<b>P2</b>	<b>P1*P2</b>	<b>Se</b>	<b>P1*Se</b>	<b>P2*Se</b>	<b>P1*P2*Se</b>	<b>CME<sub>1</sub></b>	<b>CME<sub>2</sub></b>
NS	NS	NS	***	NS	NS	NS	33,15	1,26

Fuentes de variación: P1 (tipo de pienso en el periodo 1); P2 (tipo de pienso en el periodo 2); Se (semana de experimento).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: cuadrado medio del error del subplot.

NS: P>0,10; \*\*\*: P<0,001.

<sub>a,b,c</sub> Dentro de la misma columna, los valores con diferente subíndice difieren significativamente (P<0,05).

**5.1.4.1.3. Tercer periodo: valores observados**

El tipo de pienso consumido en los periodos previos no influyó, de forma estadísticamente significativa (P>0,10), en la circunferencia escrotal de los animales al finalizar el tercer periodo (semana 25).

Los valores medios de circunferencia escrotal fueron  $28,60 \pm 0,871$  cm;  $30,12 \pm 1,231$  cm;  $31,20 \pm 0,583$  cm y  $30,12 \pm 0,125$  cm, para los grupos BB, BA, AA y AB, respectivamente.

#### 5.1.4.1.4. Parámetros estimados con el modelo logístico

Los datos se ajustaron de forma aceptable al modelo logístico. En todos los casos, el coeficiente de determinación fue superior al 95%.

En la tabla XXVI se presentan los valores medios de los parámetros estimados mediante el modelo logístico para la circunferencia escrotal: circunferencia escrotal inicial, circunferencia escrotal final y coeficiente de proporcionalidad.

**Tabla XXVI:** Valores medios de la circunferencia escrotal inicial (CEI), circunferencia escrotal final (CEF) y coeficiente de proporcionalidad ( $\mu$ ), para cada grupo experimental.

	<u>GRUPO EXPERIMENTAL</u>				<u>RSD</u>	<u>ANÁLISIS DE VARIANZA</u>		
	<u>BB</u>	<u>BA</u>	<u>AA</u>	<u>AB</u>		<u>P1</u>	<u>P2</u>	<u>P1*P2</u>
<b>CEI (cm)</b>	2,97	2,46	2,68	3,29	0,867	NS	NS	NS
<b>CEF (cm)</b>	29,17	30,89	31,33	30,27	1,685	NS	NS	NS
<b><math>\mu</math> (dia<sup>-1</sup>)</b>	0,025	0,026	0,028	0,027	0,0042	NS	NS	NS

Fuentes de variación: P1 (tipo de pienso en el periodo 1); P2 (tipo de pienso en el periodo 2).

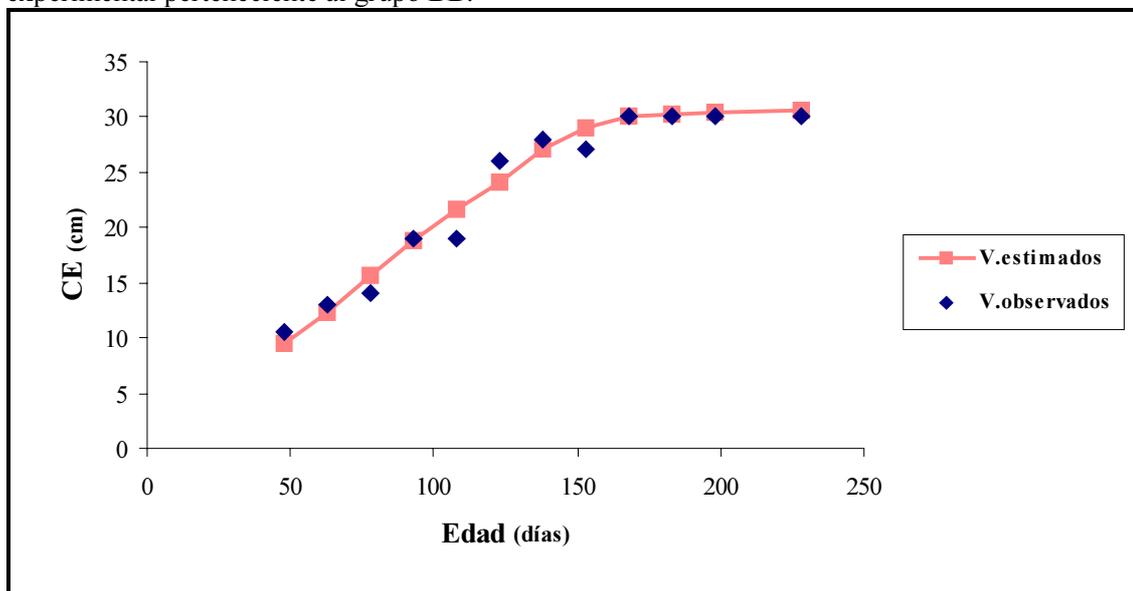
NS:  $P > 0,10$ . RSD: Desviación estándar residual.

Los valores estimados de circunferencia escrotal inicial oscilaron entre 1,73 y 4,59 cm; los de circunferencia escrotal final entre 26,68 y 32,82 cm y los del coeficiente de proporcionalidad entre 0,021 y 0,037 dia<sup>-1</sup>.

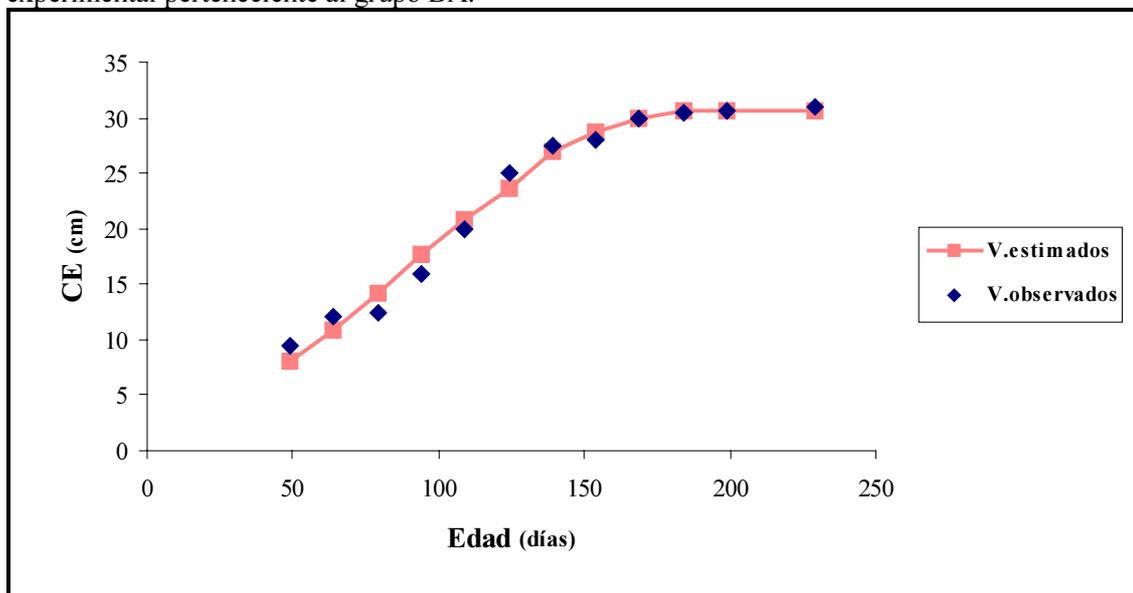
No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) atribuibles al tipo de pienso consumido por los animales en el primer periodo o en el segundo periodo, ni a su interacción, en ninguno de los parámetros estimados.

En la figuras VII, VIII, IX y X se presentan los valores estimados, utilizando el modelo logístico, y los observados para un animal de cada grupo experimental.

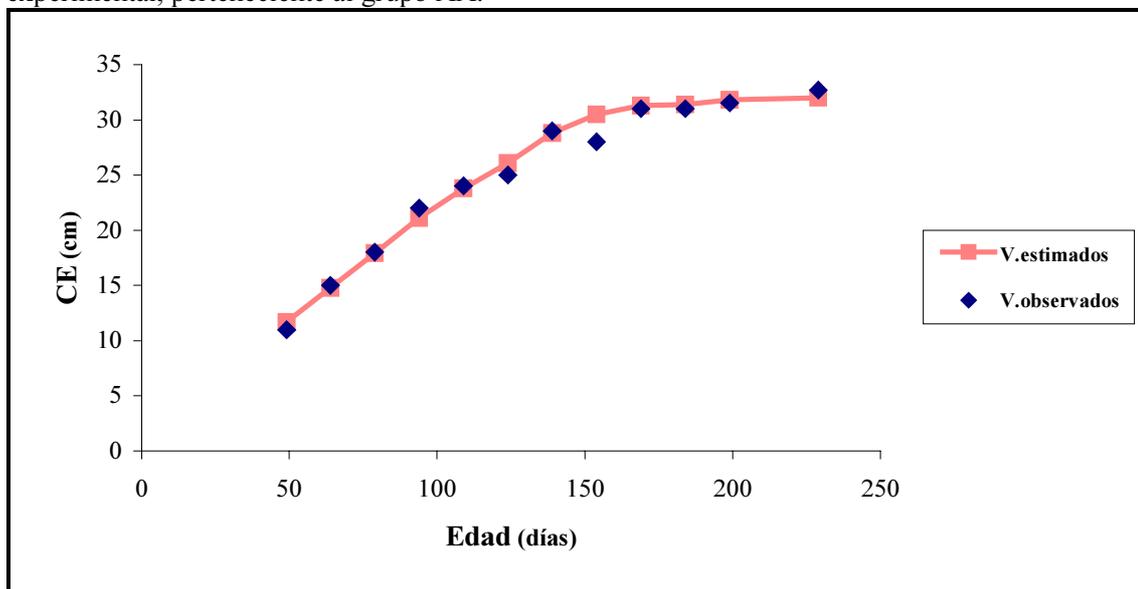
**Figura VII.** Valores observados y estimados de la circunferencia escrotal de un animal experimental perteneciente al grupo BB.



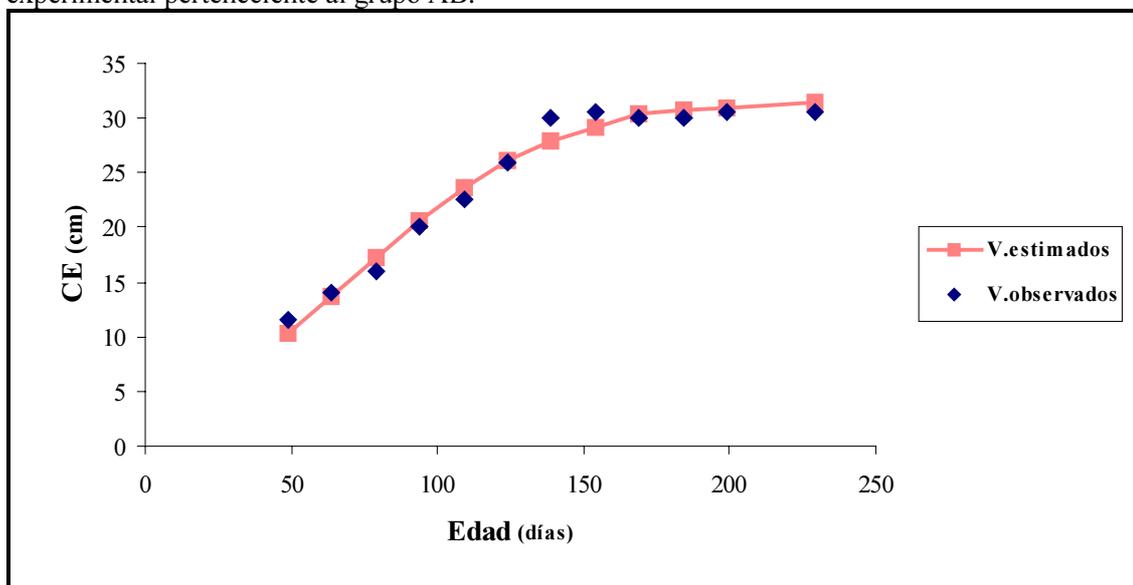
**Figura VIII** Valores observados y estimados de la circunferencia escrotal de un animal experimental perteneciente al grupo BA.



**Figura IX.** Valores observados y estimados de la circunferencia escrotal de un animal experimental, perteneciente al grupo AA.



**Figura X.** Valores observados y estimados de la circunferencia escrotal de un animal experimental perteneciente al grupo AB.



### 5.1.4.2. Volumen testicular

#### 5.1.4.2.1. Primer periodo: valores observados

En la tabla XXVII se presentan los valores medios del volumen testicular, correspondientes al primer periodo, para cada grupo experimental. En la misma tabla figuran los resultados del análisis de varianza realizado.

**Tabla XXVII:** Valores medios del volumen testicular (cc) en el primer periodo, para cada grupo experimental.

Tipo de pienso Grupo experimental	<b>B</b> BB, BA	<b>A</b> AA, AB	Media
<b>Semana</b>			
1	2,66	3,00	2,83 <sub>a</sub>
3	3,75	4,42	4,08 <sub>a</sub>
5	6,14	10,64	8,39 <sub>ab</sub>
7	13,80	22,92	18,36 <sub>b</sub>
9	32,86	51,25	42,06 <sub>c</sub>
11	81,33	108,44	94,89 <sub>d</sub>
<b>Media</b>	23,43 <sup>A</sup>	33,44 <sup>B</sup>	

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

P1	Se	P1*Se	CME <sub>1</sub>	CME <sub>2</sub>
T	***	NS	830,47	303,11

Fuentes de variación: P1 (tipo de pienso en el periodo 1); Se (semana de experimento).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot.

NS: P>0,10; T: P<0,10; \*\*\*: P<0,001.

<sup>A,B</sup> dentro de la misma fila, los valores con diferente superíndice difieren significativamente (P<0,10).

<sub>a,b,e,d</sub> dentro de la misma columna, los valores con diferente subíndice difieren significativamente (P<0,05).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,10$ ) en el volumen testicular debidas al tipo de pienso consumido por los animales. Los mayores valores correspondieron al grupo que recibió el pienso A.

El volumen testicular varió significativamente ( $P < 0,001$ ) con la semana de experimento, aumentando continuamente desde el inicio del periodo hasta la finalización del mismo.

#### 5.1.4.2.2. Segundo periodo: valores observados

En la tabla XXVIII se recogen los valores medios del volumen testicular, correspondientes al segundo periodo, para cada grupo experimental, así como los resultados del análisis de varianza.

**Tabla XXVIII:** Valores medios del volumen testicular (cc) en el segundo periodo, para cada grupo experimental.

	GRUPO EXPERIMENTAL				Media
	BB	BA	AA	AB	
<b>Semana</b>					
11	78,20	85,25	115,05	100,19	94,88 <sub>a</sub>
13	160,10	173,87	207,60	188,94	182,76 <sub>b</sub>
15	200,10	216,94	227,50	220,12	215,90 <sub>c</sub>
17	270,00	240,62	275,00	243,75	259,03 <sub>d</sub>
19	270,36	241,00	275,20	244,25	259,38 <sub>d</sub>
21	276,01	263,33	294,54	257,79	274,29 <sub>e</sub>
<b>Media</b>	209,13	203,50	232,48	209,17	

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

P1	P2	P1*P2	Se	P1*Se	P2*Se	P1*P2*Se	CME <sub>1</sub>	CME <sub>2</sub>
NS	NS	NS	***	NS	NS	NS	11018,46	441,35

Fuentes de variación: P1 (tipo de pienso en el periodo 1); P2 (tipo de pienso en el periodo 2); Se (semana de experimento).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot.

NS:  $P > 0,10$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$ .

<sub>a,b,c,d,e</sub> Dentro de la misma columna, los valores con diferente subíndice difieren significativamente.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P>0,10$ ) en el volumen testicular atribuibles al tipo de pienso recibido por los animales en el primer o en el segundo periodo, ni a su interacción.

La semana de experimento influyó significativamente ( $P<0,001$ ) en el volumen testicular. Éste aumentó desde el inicio del periodo hasta la finalización del mismo.

#### 5.1.4.2.3. Tercer periodo: valores observados

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P>0,10$ ) entre grupos experimentales atribuibles a las fuentes de variación estudiadas o a su interacción, al finalizar el tercer periodo (semana 25).

Los valores medios de volumen testicular fueron  $288,73 \pm 11,451$  cc;  $266,58 \pm 16,985$  cc;  $305,54 \pm 17,509$  cc y  $271,65 \pm 13,621$  cc, para los grupos BB, BA, AA y AB, respectivamente.

#### 5.1.4.2.4. Parámetros estimados con el modelo logístico

Los datos se ajustaron aceptablemente bien al modelo logístico. En todos los casos, el coeficiente de determinación fue superior al 95%.

**Tabla XXIX:** Valores medios del volumen testicular inicial (VTI), volumen testicular final (VTF) y coeficiente de proporcionalidad ( $\mu$ ), para cada grupo experimental.

	<u>GRUPO EXPERIMENTAL</u>				<u>RSD</u>	<u>ANÁLISIS DE VARIANZA</u>		
	<u>BB</u>	<u>BA</u>	<u>AA</u>	<u>AB</u>		<u>P1</u>	<u>P2</u>	<u>P1*P2</u>
<b>VTI (cc)</b>	0,052	0,013	0,110	0,158	0,1237	NS	NS	NS
<b>VTF (cc)</b>	295,10	281,15	311,42	283,29	25,208	NS	NS	NS
<b><math>\mu</math> (día<sup>-1</sup>)</b>	0,060	0,084	0,061	0,066	0,0180	NS	NS	NS

Fuentes de variación: P1 (tipo de pienso en el periodo 1); P2 (tipo de pienso en el periodo 2).

NS:  $P>0,10$ . RSD: Desviación estándar residual.

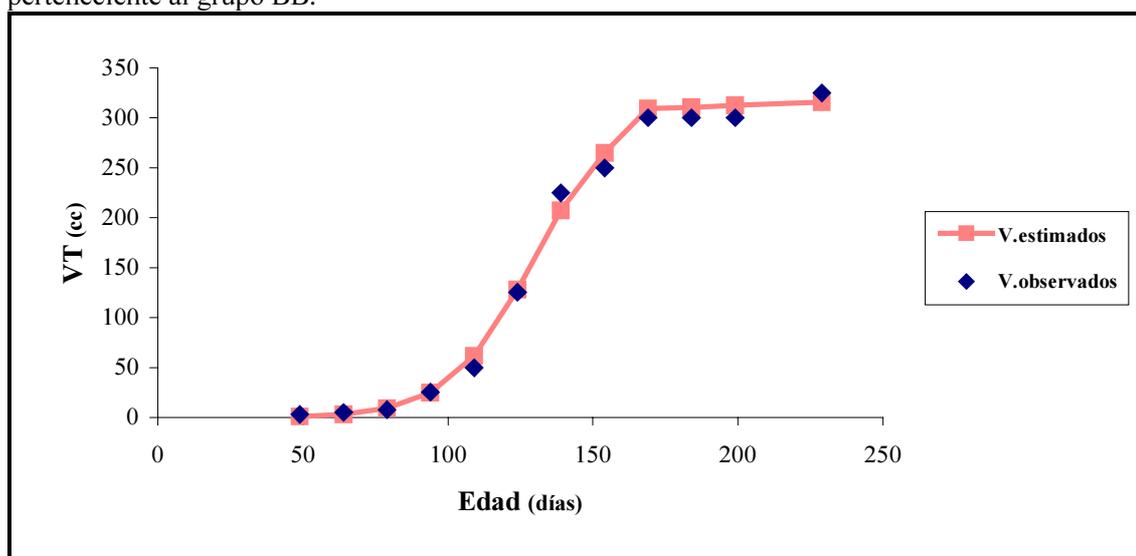
En la tabla XXIX figuran los valores medios de los parámetros estimados mediante el modelo logístico para el volumen: Volumen testicular inicial, volumen testicular final y el coeficiente de proporcionalidad.

El volumen testicular inicial osciló entre 0,00007 y 0,46 cc; el volumen testicular final entre 224,70 y 338,31 cc y el coeficiente de proporcionalidad entre 0,04 y 0,10 día<sup>-1</sup>.

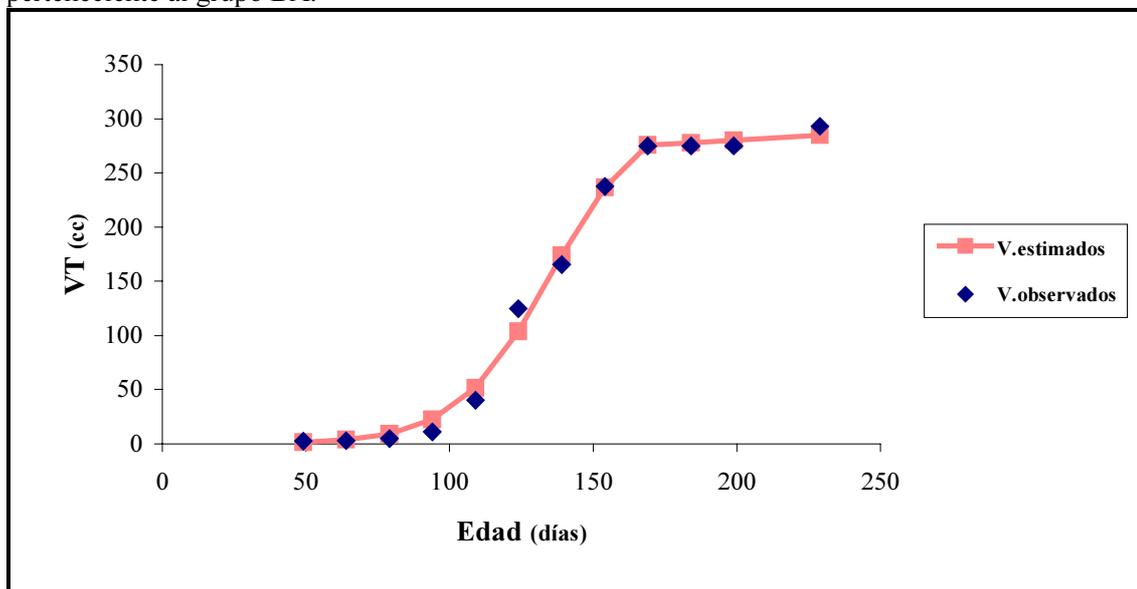
En ninguno de los parámetros estimados con el modelo utilizado se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) atribuibles al tipo de pienso administrado en cada uno de los dos periodos de estudio o a su interacción.

En las figuras XI, XII, XIII y XIV se puede observar los valores estimados, utilizando el modelo logístico, y los observados para un animal de cada grupo experimental.

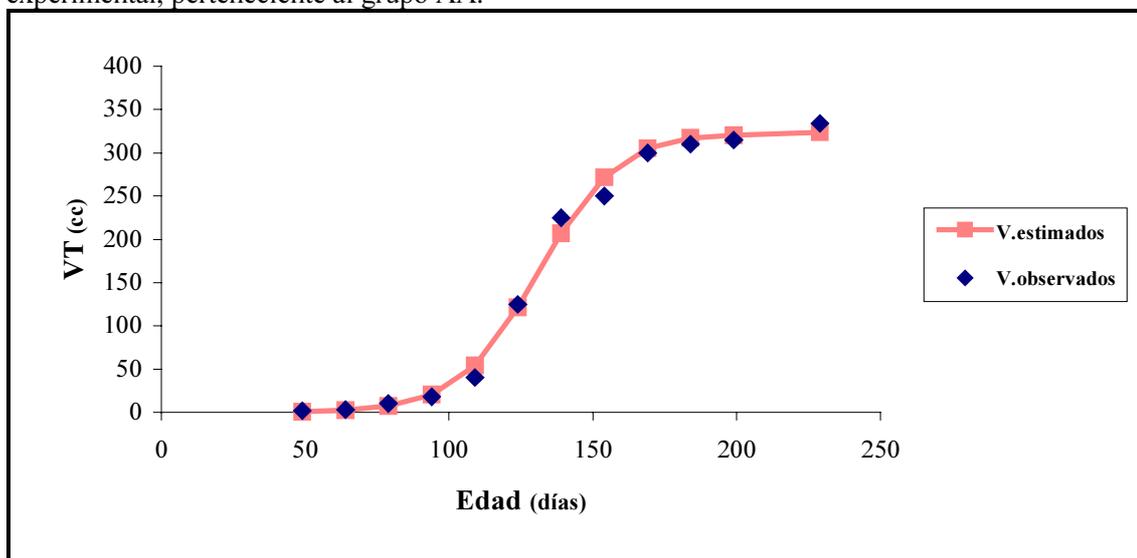
**Figura XI.** Valores observados y estimados del volumen testicular en un animal experimental, perteneciente al grupo BB.



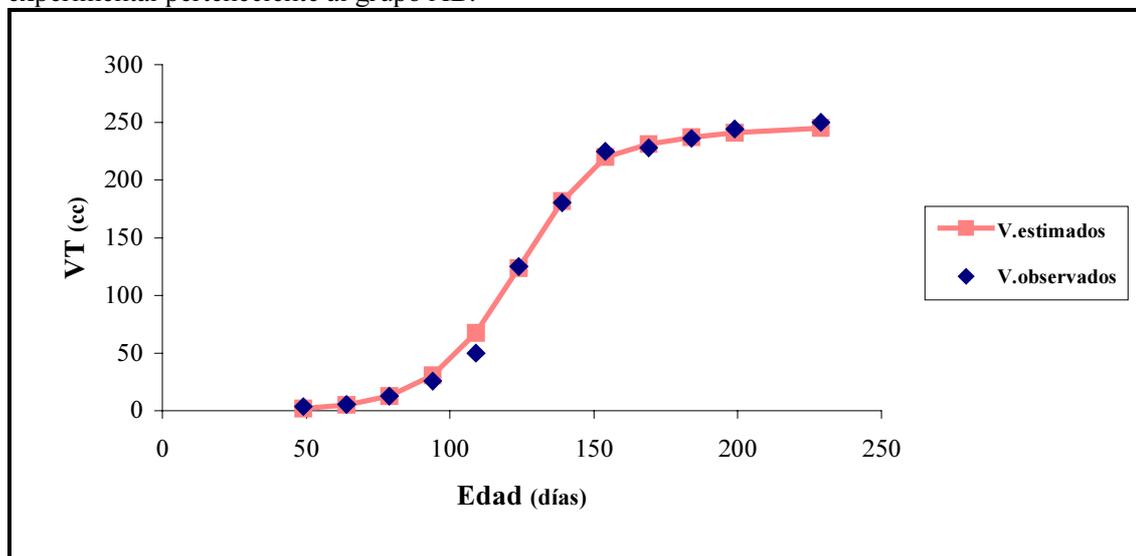
**Figura XII.** Valores observados y estimados del volumen testicular en un animal experimental, perteneciente al grupo BA.



**Figura XIII.** Valores observados y estimados del volumen testicular en un animal experimental, perteneciente al grupo AA.



**Figura XIV.** Valores observados y estimados del volumen testicular para un animal experimental perteneciente al grupo AB.



#### 5.1.4.3. Relaciones entre la circunferencia escrotal, el volumen testicular, el peso vivo y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona en cada periodo experimental

En la tabla XXX figuran los coeficientes de correlación de la circunferencia escrotal (CE) y el volumen testicular (VT) con el peso vivo (PV) y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona en la semana 9 (periodo 1), en la semana 21 (periodo 2) y en la semana 25 (periodo 3).

La circunferencia escrotal presentó una correlación significativa ( $P < 0,05$ ) con el volumen testicular y con el peso vivo en los tres periodos de estudio.

La CE y el VT también presentaron una correlación estadísticamente significativa ( $P < 0,05$ ) con la concentración de testosterona en el primer periodo. Sin embargo, la

correlación entre estos dos parámetros y la concentración plasmática de Lh y de Fsh no fue estadísticamente significativa ( $P < 0,05$ ) en ningún periodo.

**Tabla XXX:** Coeficientes de correlación entre la circunferencia escrotal (CE), el volumen testicular (VT), el peso vivo (PV) y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona en cada periodo experimental.

	<u>Primer periodo (n=18)</u>		<u>Segundo periodo (n=18)</u>		<u>Tercer periodo (n=18)</u>	
	CE	VT	CE	VT	CE	VT
<b>VT</b>	0,84 <sup>***</sup>		0,71 <sup>***</sup>		0,61 <sup>**</sup>	
<b>PV</b>	0,57 <sup>*</sup>	0,69 <sup>**</sup>	0,77 <sup>***</sup>	0,82 <sup>***</sup>	0,65 <sup>**</sup>	0,80 <sup>***</sup>
<b>Lh</b>	0,36 ns	0,13 ns	0,28 ns	0,12 ns	0,16 ns	0,30 ns
<b>Fsh</b>	-0,04 ns	-0,07 ns	0,05 ns	-0,10 ns	-0,24 ns	-0,11 ns
<b>Testosterona</b>	0,44 <sup>*</sup>	0,54 <sup>*</sup>	-0,14 ns	-0,19 ns	0,24 ns	0,36 ns

ns:  $P > 0,10$ ; \*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$ .

### 5.1.5. Calidad del semen

En la tabla XXXI figuran los valores medios de los parámetros determinados en los eyaculados de cada grupo experimental. En la tabla XXXII se recogen los resultados de los análisis de varianza realizados.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) atribuibles al tipo de pienso consumido por los animales en el primer o en el segundo periodo, ni a su interacción, en ninguna de las características del semen estudiadas.

El día de extracción de los eyaculados, por el contrario, influyó significativamente ( $P < 0,05$ ) en la concentración de espermatozoides, la cantidad total de espermatozoides

del eyaculado, el porcentaje de espermatozoides vivos, la motilidad masal y la motilidad individual.

**Tabla XXXI:** Valores medios de las características de los eyaculados: volumen (VE), concentración de espermatozoides en el eyaculado (CC), cantidad total de espermatozoides en el eyaculado (CTE), porcentaje de espermatozoides vivos (PEV) y de espermatozoides con anomalías morfológicas (PEA), motilidad masal (MM) y motilidad individual (MI), para cada grupo experimental.

	<b>GRUPO EXPERIMENTAL</b>			
	<b>BB</b>	<b>BA</b>	<b>AA</b>	<b>AB</b>
<b>VE (ml)</b>	0,63	0,66	0,75	0,56
<b>CC (sp.10<sup>7</sup>/ml)</b>	171,92	227,67	206,60	193,58
<b>CTE (x 10<sup>7</sup>)</b>	122,53	151,52	169,68	110,83
<b>PEV (%)</b>	72,85	70,42	78,40	77,67
<b>PEA (%)</b>	7,13	9,00	6,27	6,25
<b>MM</b>	3,86	3,83	4,15	4,22
<b>MI</b>	3,88	3,92	4,18	3,95

El efecto del día de extracción sobre la concentración y la cantidad total de espermatozoides, no fue independiente del tipo de pienso que recibieron los animales en el primer periodo.

Así, en los moruecos que durante el primer periodo recibieron el pienso con bajo contenido de proteína bruta (B), los menores valores se observaron en el tercer día de extracción, no encontrándose diferencias entre los otros dos días. Por el contrario, en los animales que recibieron el pienso A durante el primer periodo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) entre días de extracción, ni en la concentración de espermatozoides ni en la cantidad total de espermatozoides presentes en el eyaculado.

**Tabla XXXII:** Análisis de varianza de las características de los eyaculados: volumen (VE), concentración de espermatozoides en el eyaculado (CC), cantidad total de espermatozoides en el eyaculado (CTE), porcentaje de espermatozoides vivos (PEV) y de espermatozoides con anomalías morfológicas (PEA), motilidad masal (MM) y motilidad individual (MI).

	VE	CC	CTE	PEV	PEA	MM	MI
<b>Fuentes de variación</b>							
<b>P1</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<b>P2</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<b>P1*P2</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<b>DI</b>	NS	***	***	**	NS	**	*
<b>P1*DI</b>	NS	*	*	NS	NS	NS	NS
<b>P2*DI</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<b>P1*P2*DI</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<b>CME<sub>1</sub></b>	0,07	11307,73	7309,81	381,60	62,83	1,09	0,20
<b>CME<sub>2</sub></b>	0,03	1284,64	1212,11	110,09	25,08	0,19	0,08

Fuentes de variación: P1 (tipo de pienso en el periodo 1); P2 (tipo de pienso en el periodo 2); DI (día de extracción de semen).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot ( $\times 10^7$  para la CC y la CTE); CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot ( $\times 10^7$  para la CC y la CTE).

NS:  $P > 0,10$ ; \*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$ .

En lo que respecta al porcentaje de espermatozoides vivos, la motilidad masal e individual, los menores valores correspondieron al primer día de extracción y no se encontraron diferencias entre los días segundo y tercero.

#### **5.1.5.1. Relaciones entre las características del semen, la circunferencia escrotal, el volumen testicular y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona al final del tercer periodo experimental**

En la tabla XXXIII figuran los coeficientes de correlación entre las características del semen, la circunferencia escrotal (CE), el volumen testicular (VT) y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona al final del tercer periodo.

**Tabla XXXIII:** Coeficientes de correlación entre las características del semen, la circunferencia escrotal (CE), el volumen testicular (VT) y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona (Tes).

	VE	CC	CTE	MM	MI	PEV	PEA
<b>CC</b>	0,02 ns						
<b>CTE</b>	0,65**	0,75***					
<b>MM</b>	-0,14 ns	0,74***	0,45 ns				
<b>MI</b>	0,43 ns	0,09 ns	0,33 ns	-0,05 ns			
<b>PEV</b>	-0,07 ns	0,36 ns	0,16 ns	0,60**	-0,01 ns		
<b>PEA</b>	-0,11 ns	-0,26 ns	-0,23 ns	-0,51*	-0,40 ns	-0,43 ns	
<b>CE</b>	0,01 ns	-0,10 ns	-0,01 ns	0,01 ns	0,22 ns	0,02 ns	-0,12 ns
<b>VT</b>	-0,03 ns	-0,15 ns	-0,08 ns	-0,03 ns	0,10 ns	-0,03 ns	-0,30 ns
<b>Lh</b>	0,03 ns	0,25 ns	0,25 ns	0,04 ns	-0,16 ns	-0,17 ns	0,10 ns
<b>Fsh</b>	-0,10 ns	-0,06 ns	-0,12 ns	-0,21 ns	-0,05 ns	-0,07 ns	0,14 ns
<b>Tes</b>	0,09 ns	-0,25 ns	-0,14 ns	-0,01 ns	0,19 ns	-0,10 ns	-0,28 ns

VE= volumen de eyaculado; CC= concentración de espermatozoides en el eyaculado; CTE= espermatozoides totales en el eyaculado; MM= motilidad masal; MI= motilidad individual; PEV= porcentaje de espermatozoides vivos; PEA= porcentaje de espermatozoides anormales.  
ns: P>0,10; \*: P<0,05; \*\*: P<0,01; \*\*\*: P<0,001.

Como era lógico, la cantidad total de espermatozoides presentes en el eyaculado estuvo correlacionada significativamente con el volumen de eyaculado ( $r= 0,65$ ;  $P<0,01$ ) y con la concentración de espermatozoides del eyaculado ( $r= 0,74$ ;  $P<0,001$ ).

La motilidad masal mostró una correlación significativa con la concentración de espermatozoides en el eyaculado ( $r= 0,74$ ;  $P<0,001$ ) y con los porcentajes de espermatozoides vivos ( $r= 0,60$ ;  $P<0,01$ ) y de espermatozoides con anomalías morfológicas ( $r= -0,51$ ;  $P<0,05$ ).

La correlación entre la circunferencia escrotal, el volumen testicular y las características del semen no fue estadísticamente significativa ( $P>0,10$ ). De la misma manera, tampoco se encontró una correlación estadísticamente significativa ( $P>0,10$ ) entre las características del semen y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona.

## 5.2. Prueba 2

### 5.2.1. Ingestión y variaciones de peso vivo

A lo largo de todo el periodo experimental los animales consumieron diariamente el total de la ración ofertada, por lo que se lograron los niveles de ingestión de energía y de proteína previstos en el diseño experimental.

En la tabla XXXIV figuran los valores medios de ganancia de peso, para cada grupo experimental, durante el ensayo.

**Tabla XXXIV:** Valores medios de la variación de peso (kg) entre el inicio y la quinta y entre la quinta y la novena semanas del ensayo, para cada grupo experimental.

	<b><u>NIVEL DE INGESTIÓN DE PROTEÍNA</u></b>			<b>RSD</b>	<b>nivel de significación.</b>
	<b>BAJO</b>	<b>MEDIO</b>	<b>ALTO</b>		
<b>Periodo</b>					
<b>Semana 1-5</b>	0,60 <sup>A</sup>	2,05 <sup>B</sup>	2,08 <sup>B</sup>	0,889	*
<b>Semana 5-9</b>	0,42 <sup>A</sup>	2,47 <sup>B</sup>	3,05 <sup>B</sup>	1,571	*

\*:  $P < 0,05$ . RSD: Desviación estándar resisual.

<sup>A,B</sup> dentro de la misma fila, los valores con diferente superíndice difieren significativamente ( $P < 0,05$ ).

En todos los grupos la variación de peso fue positiva y significativamente ( $P < 0,05$ ) diferente de cero. La variación de peso que se produjo entre el inicio y la quinta semana, y entre la semana cinco y la semana nueve fue significativamente diferente de cero ( $P < 0,05$ ).

En estos dos intervalos de tiempo, los animales que recibieron el menor aporte de proteína presentaron los menores valores de ganancia de peso, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ( $P>0,10$ ) entre los otros dos grupos.

## 5.2.2. Concentración plasmática de hormonas

### 5.2.2.1. Hormona luteinizante (Lh)

En la tabla XXXV se presentan los valores medios de la concentración plasmática de Lh en las nueve semanas del ensayo, para cada grupo experimental. En la misma tabla figuran los resultados del análisis de varianza realizado.

**Tabla XXXV:** Evolución de la concentración plasmática de Lh (ng/ml) a lo largo del ensayo, para cada grupo experimental.

<b>NIVEL DE INGESTIÓN DE PROTEÍNA</b>				
	<b>BAJO</b>	<b>MEDIO</b>	<b>ALTO</b>	<b>Media</b>
<b>Semana</b>				
<b>1</b>	0,65	1,12	0,48	0,74
<b>2</b>	0,43	0,98	0,56	0,64
<b>3</b>	0,45	1,34	0,64	0,79
<b>4</b>	0,57	1,04	0,58	0,72
<b>5</b>	0,50	1,12	0,62	0,73
<b>6</b>	0,47	0,60	0,48	0,51
<b>7</b>	0,48	0,78	0,44	0,56
<b>8</b>	0,60	1,02	0,30	0,64
<b>9</b>	0,80	1,22	0,52	0,84
<b>Media</b>	0,55 <sup>A</sup>	1,03 <sup>B</sup>	0,51 <sup>A</sup>	
<b>ANÁLISIS DE VARIANZA</b>				
<b>Dieta</b>	<b>Se</b>	<b>Dieta*Se</b>	<b>CME<sub>1</sub></b>	<b>CME<sub>2</sub></b>
T	NS	NS	1,34	0,21

Fuentes de variación: Dieta (nivel de ingestión de proteína); Se (semana de extracción de sangre).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot.

T:  $P<0,10$ ; NS:  $P>0,10$ .

<sup>A,B</sup> dentro de la misma fila, los valores con diferente superíndice difieren significativamente ( $P<0,10$ ).

La concentración plasmática de esta hormona tendió a ser mayor ( $P < 0,10$ ) en el grupo que recibió el nivel intermedio de proteína (Medio). Entre los otros dos grupos (Bajo y Alto) no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ).

La semana de experimento no influyó ( $P > 0,10$ ) en la concentración plasmática de Lh. La interacción entre el nivel de ingestión de proteína y la semana tampoco fue estadísticamente significativa ( $P > 0,10$ ).

#### **5.2.2.2. Hormona folículoestimulante (Fsh)**

En la tabla XXXVI figuran los valores medios de la concentración plasmática de Fsh (ng/ml) en los diferentes momentos de muestreo y para cada grupo experimental, así como los resultados del análisis de varianza realizado.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) en la concentración plasmática de Fsh atribuibles al nivel de ingestión de proteína.

La concentración, sin embargo, varió significativamente ( $P < 0,001$ ) con la semana de muestreo. Ésta disminuyó desde el inicio del experimento hasta alcanzar un valor mínimo en la semana 8 si bien no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) entre los valores registrados en las semanas 5, 6, 7, 8 y 9 del experimento.

**Tabla XXXVI:** Evolución de la concentración plasmática de Fsh (ng/ml) a lo largo del ensayo, para cada grupo experimental.

Semana	NIVEL DE INGESTIÓN DE PROTEÍNA			Media
	BAJO	MEDIO	ALTO	
1	1,53	1,70	1,75	1,64 <sub>e</sub>
2	1,43	1,62	1,62	1,54 <sub>de</sub>
3	1,10	1,37	1,40	1,28 <sub>bc</sub>
4	1,17	1,40	1,40	1,32 <sub>cd</sub>
5	1,00	1,40	1,32	1,22 <sub>abc</sub>
6	0,86	1,22	1,17	1,07 <sub>ab</sub>
7	0,68	1,25	1,25	1,03 <sub>ab</sub>
8	0,72	1,20	1,05	0,99 <sub>a</sub>
9	0,82	1,10	1,10	1,00 <sub>a</sub>
Media	1,06	1,36	1,35	

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

Dieta	Se	Dieta*Se	CME <sub>1</sub>	CME <sub>2</sub>
NS	***	NS	2,37	0,08

Fuentes de variación: Dieta (nivel de ingestión de proteína); Se (semana de extracción de sangre).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot.

NS: P>0,10; \*\*\*: P<0,001.

<sub>a,b,c,d,e</sub> dentro de la misma columna, los valores con diferente subíndice difieren significativamente (P<0,05).

#### **5.2.2.3. Testosterona**

En la tabla XXXVII figuran los valores medios de la concentración plasmática de testosterona (ng/ml) en las nueve semanas del ensayo, para cada grupo experimental, así como los resultados del análisis de varianza.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas (P>0,10) en la concentración plasmática de testosterona atribuibles al nivel de ingestión de proteína.

La semana influyó significativamente ( $P < 0,001$ ) en la concentración plasmática de esta hormona, aunque su evolución fue muy irregular.

**Tabla XXXVII:** Evolución de la concentración plasmática de testosterona (ng/ml) a lo largo del ensayo, para cada grupo experimental.

<b>NIVEL DE INGESTIÓN DE PROTEÍNA</b>				
	<b>BAJO</b>	<b>MEDIO</b>	<b>ALTO</b>	<b>Media</b>
<b>Semana</b>				
<b>1</b>	11,58	11,92	12,20	11,88 <sub>a</sub>
<b>2</b>	15,95	18,08	17,16	16,99 <sub>cd</sub>
<b>3</b>	11,37	17,00	12,46	13,47 <sub>ab</sub>
<b>4</b>	13,50	18,18	17,10	16,09 <sub>bcd</sub>
<b>5</b>	16,87	18,62	18,16	17,96 <sub>cd</sub>
<b>6</b>	16,80	15,58	18,64	16,99 <sub>cd</sub>
<b>7</b>	18,32	19,18	18,34	18,59 <sub>d</sub>
<b>8</b>	16,18	15,74	12,92	15,02 <sub>bc</sub>
<b>9</b>	17,23	17,28	15,72	16,77 <sub>cd</sub>
<b>Media</b>	15,25	16,84	15,85	

#### **ANÁLISIS DE VARIANZA**

<b>Dieta</b>	<b>Se</b>	<b>Dieta*Se</b>	<b>CME<sub>1</sub></b>	<b>CME<sub>2</sub></b>
NS	***	NS	181,09	16,87

Fuentes de variación: Dieta (nivel de ingestión de proteína); Se (semana de extracción de sangre).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot.

NS:  $P > 0,10$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$ .

<sub>a,b,c,d</sub> dentro de la misma columna, los valores con diferente subíndice difieren significativamente ( $P < 0,05$ ).

#### **5.2.2.4. Relaciones entre la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona**

En la tabla XXXVIII figuran los coeficientes de correlación entre las concentraciones plasmáticas Lh, Fsh y testosterona, para cada grupo experimental.

En el grupo que recibió el menor aporte de proteína (Bajo), la concentración plasmática de testosterona mostró una correlación significativa y negativa con la concentración plasmática de Fsh ( $r = -0,68$ ;  $P < 0,05$ ). En los demás casos, los coeficientes de correlación no fueron estadísticamente significativos ( $P > 0,10$ ).

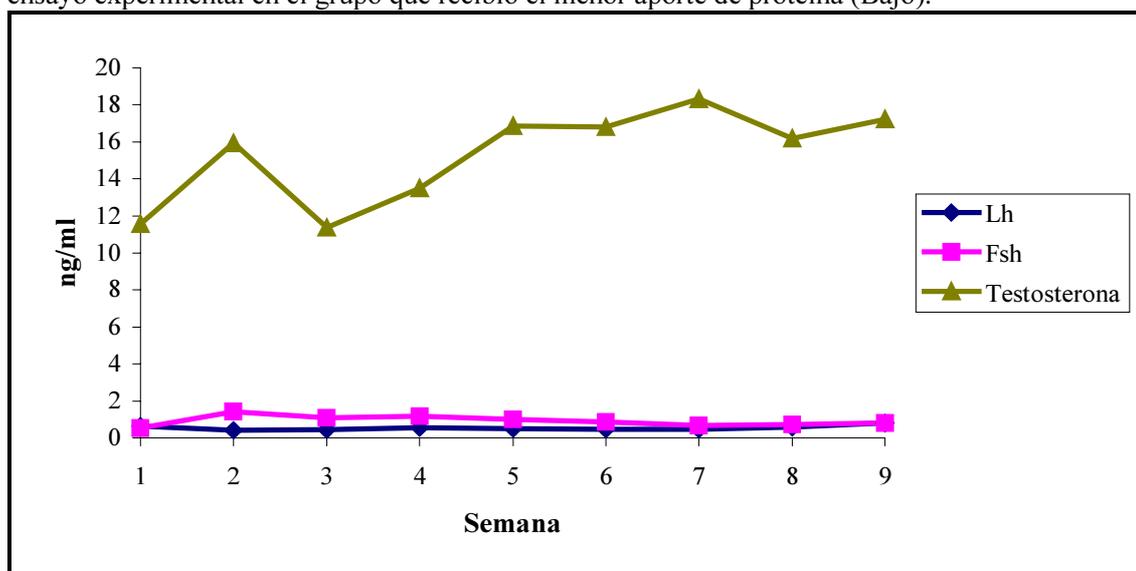
**Tabla XXXVIII:** Coeficientes de correlación entre la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, para cada grupo experimental.

	<u>Grupo Bajo (n=9)</u>		<u>Grupo Medio (n=9)</u>		<u>Grupo Alto (n=9)</u>	
	Lh	Fsh	Lh	Fsh	Lh	Fsh
<b>Fsh</b>	-0,11 ns		0,18 ns		0,42 ns	
<b>Testosterona</b>	0,01 ns	-0,68*	-0,06 ns	-0,35 ns	0,19 ns	-0,23 ns

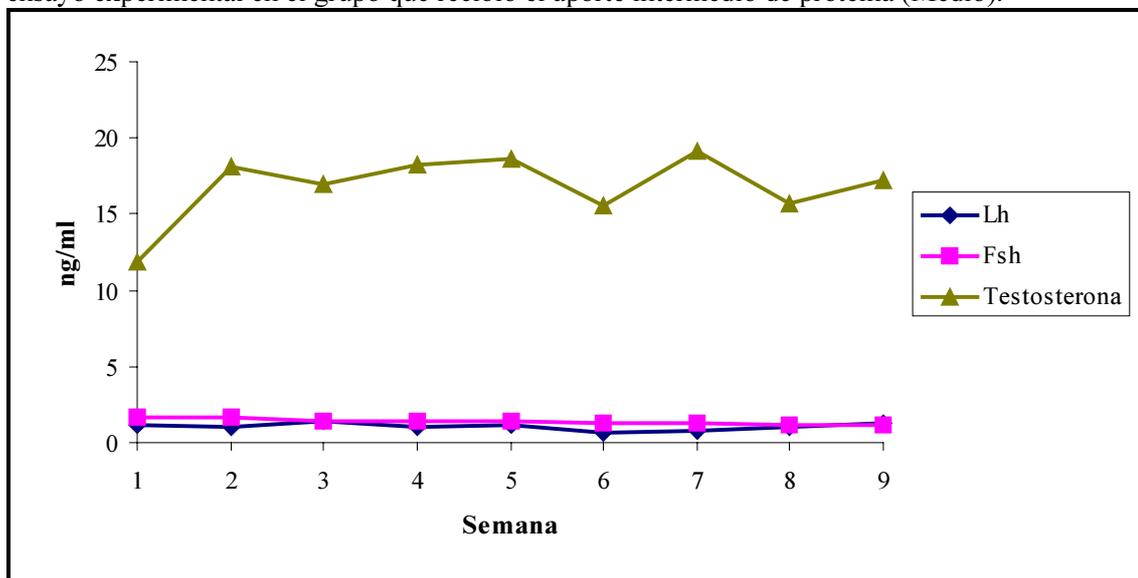
ns:  $P > 0,10$ ; \*:  $P < 0,05$ .

En las figuras XV, XVI y XVII puede observarse la evolución de la concentración plasmática de las hormonas Lh, Fsh y testosterona a lo largo del ensayo para los grupos Bajo, Medio y Alto, respectivamente.

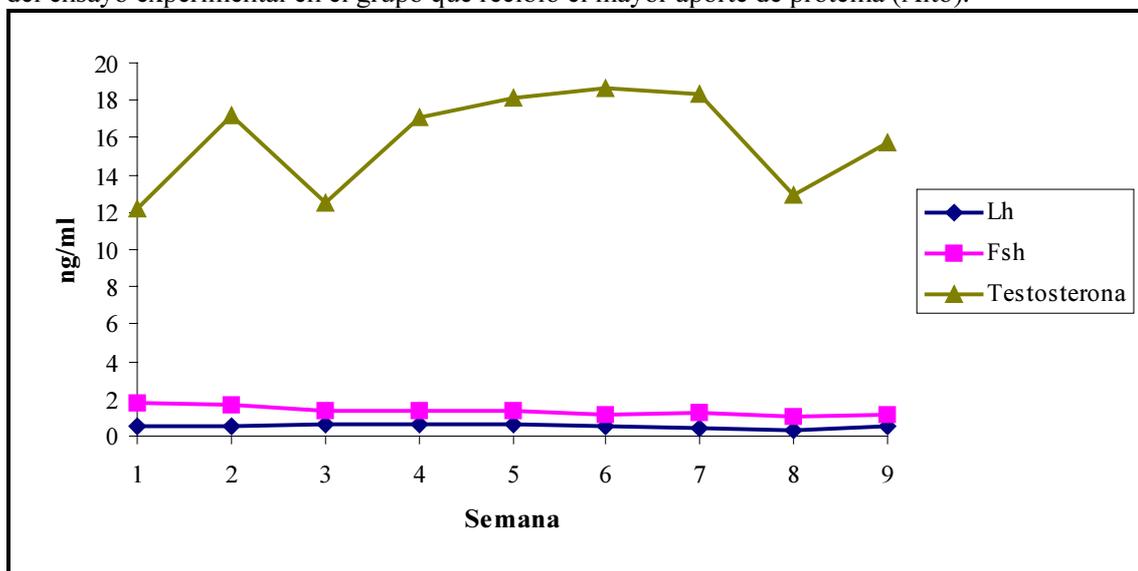
**Figura XV.** Evolución de la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, a lo largo del ensayo experimental en el grupo que recibió el menor aporte de proteína (Bajo).



**Figura XVI.** Evolución de la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, a lo largo del ensayo experimental en el grupo que recibió el aporte intermedio de proteína (Medio).



**Figura XVII.** Evolución de la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, a lo largo del ensayo experimental en el grupo que recibió el mayor aporte de proteína (Alto).



### 5.2.3. Evolución del tamaño de los testículos

#### 5.2.3.1. Circunferencia escrotal y volumen testicular

En las tablas XXXIX y XL se recogen los valores medios de la circunferencia escrotal y del volumen testicular, respectivamente, para cada grupo experimental y momento de medición. En las mismas tablas se presentan los resultados de los análisis de varianza realizados.

**Tabla XXXIX:** Valores medios de la circunferencia escrotal (cm) en las semanas 1, 5 y 9 del ensayo, para cada grupo experimental.

<b>NIVEL DE INGESTIÓN DE PROTEÍNA</b>				
	<b>BAJO</b>	<b>MEDIO</b>	<b>ALTO</b>	<b>Media</b>
<b>Semana</b>				
<b>1</b>	36,33 <sub>a</sub>	36,80 <sub>a</sub>	36,60 <sub>a</sub>	36,56 <sub>a</sub>
<b>5</b>	36,90 <sub>b</sub> <sup>A</sup>	39,72 <sub>b</sub> <sup>B</sup>	39,90 <sub>b</sub> <sup>B</sup>	38,72 <sub>b</sub>
<b>9</b>	37,13 <sub>b</sub> <sup>A</sup>	39,90 <sub>b</sub> <sup>B</sup>	40,20 <sub>b</sub> <sup>B</sup>	38,96 <sub>b</sub>
<b>Media</b>	36,78	38,80	38,90	
<b>ANÁLISIS DE VARIANZA</b>				
<b>Dieta</b>	<b>Se</b>	<b>Dieta*Se</b>	<b>CME<sub>1</sub></b>	<b>CME<sub>2</sub></b>
*	***	***	6,49	0,17

Fuentes de variación: Dieta (nivel de ingestión de proteína); Se (semana de experimento).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot.

\*: P<0,05; \*\*\*: P<0,001.

<sup>A,B</sup> dentro de la misma fila, los valores con diferente superíndice difieren significativamente (P<0,05).

<sub>a,b</sub> dentro de la misma columna, los valores con diferente subíndice difieren significativamente (P<0,05).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas (P<0,001) entre semanas tanto en la circunferencia escrotal como en el volumen testicular. En ambos

parámetros, y en todos los grupos experimentales, el menor valor se observó al inicio del ensayo (semana 1), no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ( $P>0,10$ ) entre los valores registrados en las semanas 5<sup>a</sup> y 9<sup>a</sup>.

**Tabla XL:** Valores medios del volumen testicular (cc) en las semanas 1, 5 y 9 del ensayo, para cada grupo experimental.

<b>NIVEL DE INGESTIÓN DE PROTEÍNA</b>				
	<b>BAJO</b>	<b>MEDIO</b>	<b>ALTO</b>	<b>Media</b>
<b>Semana</b>				
<b>1</b>	331,25	345,10 <sub>a</sub>	340,10 <sub>a</sub>	338,34 <sub>a</sub>
<b>5</b>	341,66 <sup>A</sup>	385,30 <sub>b</sub> <sup>B</sup>	385,36 <sub>b</sub> <sup>B</sup>	368,96 <sub>b</sub>
<b>9</b>	341,25 <sup>A</sup>	380,58 <sub>b</sub> <sup>B</sup>	390,30 <sub>b</sub> <sup>B</sup>	368,87 <sub>b</sub>
<b>Media</b>	338,05	370,33	371,92	

#### **ANÁLISIS DE VARIANZA**

<b>Dieta</b>	<b>Se</b>	<b>Dieta*Se</b>	<b>CME<sub>1</sub></b>	<b>CME<sub>2</sub></b>
T	***	**	2044,36	176,52

Fuentes de variación: Dieta (nivel de ingestión de proteína); Se (semana de experimento).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot.

T:  $P<0,10$ ; \*\*:  $P<0,01$ ; \*\*\*:  $P<0,001$ .

<sup>A,B</sup> dentro de la misma fila, los valores con diferente superíndice difieren significativamente ( $P<0,10$ ).

<sub>a,b</sub> dentro de la misma columna, los valores con diferente subíndice difieren significativamente ( $P<0,05$ ).

El efecto de la dieta experimental, tanto en el caso de la CE como del VT, fue estadísticamente significativo ( $P<0,05$ ), pero dependió de la semana.

Lógicamente, al inicio del ensayo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P>0,10$ ) entre grupos, ya que éstos fueron equilibrados para la circunferencia escrotal y el volumen testicular.

En las semanas 5<sup>a</sup> y 9<sup>a</sup>, el grupo que recibió el menor aporte de proteína (Bajo) presentó valores significativamente inferiores ( $P < 0,05$ ) a los de los otros dos grupos, entre los cuales las diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ).

### 5.2.3.2. Relaciones entre la circunferencia escrotal, volumen testicular, peso vivo y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona

En la tabla XLI figuran los coeficientes de correlación entre la circunferencia escrotal (CE) y el volumen testicular (VT) con el peso vivo (PV) y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona en las semanas 1, 5 y 9 del ensayo experimental.

La circunferencia escrotal presentó una correlación elevada ( $P < 0,001$ ) con el volumen testicular en las tres semanas estudiadas (1, 5 y 9). Sin embargo, la correlación de estos dos parámetros con el peso vivo no fue estadísticamente significativa ( $P > 0,10$ ).

**Tabla XLI:** Coeficientes de correlación entre la circunferencia escrotal (CE), el volumen testicular (VT), el peso vivo (PV) y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona en las semanas 1, 5 y 9 del ensayo experimental.

	<u>Semana 1 (n=16)</u>		<u>Semana 5 (n=16)</u>		<u>Semana 9 (n=16)</u>	
	CE	VT	CE	VT	CE	VT
<b>VT</b>	0,92 <sup>***</sup>		0,84 <sup>***</sup>		0,86 <sup>***</sup>	
<b>PV</b>	0,09 ns	0,12 ns	0,09 ns	0,30 ns	0,08 ns	0,21 ns
<b>Lh</b>	0,25 ns	0,15 ns	0,31 ns	0,39 ns	0,11 ns	-0,04 ns
<b>Fsh</b>	0,15 ns	-0,003 ns	0,26 ns	0,12 ns	-0,27 ns	0,13 ns
<b>Testosterona</b>	0,34 ns	0,37 ns	0,13 ns	0,06 ns	0,17 ns	0,30 ns

ns:  $P > 0,10$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$ .

La concentración plasmática de las hormonas (Lh, Fsh y testosterona) no mostró una correlación estadísticamente significativa ( $P > 0,10$ ) con la CE y el VT, en ninguna de las semanas consideradas.

#### **5.2.4. Calidad del semen**

##### **5.2.4.1. Volumen de eyaculado, concentración y cantidad total de espermatozoides**

En la tabla XLII se presentan los valores medios del volumen de eyaculado, concentración y cantidad total de espermatozoides, para cada grupo experimental. En la tabla XLIII se recogen los resultados de los análisis de varianza realizados.

El nivel de ingestión de proteína influyó de forma estadísticamente significativa ( $P < 0,05$ ) en el volumen y en la cantidad total de espermatozoides de los eyaculados. El menor volumen correspondió al grupo que recibió el menor aporte proteico (Bajo), no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) entre los otros dos grupos experimentales (Medio y Alto).

La cantidad total de espermatozoides presentó diferencias entre los tres grupos, correspondiendo el mayor valor al grupo Alto y el menor al grupo Bajo.

La concentración de espermatozoides mostró una tendencia ( $P < 0,10$ ) a ser mayor en los dos grupos que recibieron el mayor aporte de proteína (Medio y Alto). Este efecto, no obstante, no fue independiente de la semana.

En la semana 5, la mayor concentración correspondió al grupo Alto, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ( $P>0,10$ ) entre los otros dos grupos.

En la semana 9, la concentración tendió a ser significativamente menor ( $P<0,10$ ) en el grupo Bajo, no existiendo diferencias estadísticamente significativas ( $P>0,10$ ) entre los otros dos grupos.

**Tabla XLII:** Valores medios del volumen de eyaculado (VE), concentración (CC) y cantidad total de espermatozoides (CTE) en las semanas 5 y 9 del ensayo, para cada grupo experimental.

<b>NIVEL DE INGESTIÓN DE PROTEÍNA</b>				
	<b>BAJO</b>	<b>MEDIO</b>	<b>ALTO</b>	<b>Media</b>
<b>VE (ml)</b>				
<b>Semana 5</b>	0,55	1,02	1,04	0,85 <sub>a</sub>
<b>Semana 9</b>	0,67	1,07	1,21	0,96 <sub>b</sub>
<b>Media</b>	0,61 <sup>A</sup>	1,04 <sup>B</sup>	1,12 <sup>B</sup>	
<b>CC (sp.10<sup>7</sup>/ml)</b>				
<b>Semana 5</b>	307,91 <sup>A</sup>	317,10 <sup>A</sup>	393,30 <sup>B</sup>	337,47 <sub>a</sub>
<b>Semana 9</b>	334,08 <sup>A</sup>	409,00 <sup>B</sup>	392,50 <sup>B</sup>	375,75 <sub>b</sub>
<b>Media</b>	321,00	363,05	392,90	
<b>CTE (x10<sup>7</sup>)</b>				
<b>Semana 5</b>	172,86	318,97	408,22	292,07 <sub>a</sub>
<b>Semana 9</b>	224,41	440,39	485,34	373,44 <sub>b</sub>
<b>Media</b>	198,64 <sup>A</sup>	379,68 <sup>B</sup>	446,78 <sup>C</sup>	

<sup>A,B,C</sup>, dentro de la misma fila, los valores con diferente superíndice difieren significativamente ( $P<0,05$  para el volumen de eyaculado y la cantidad total de espermatozoides;  $P<0,10$  para la concentración).

<sub>a,b</sub> dentro de la misma columna, los valores con diferente subíndice difieren significativamente ( $P<0,05$ ).

El volumen, la concentración y la cantidad total de espermatozoides variaron significativamente ( $P < 0,05$ ) con la semana de experimento. En los tres grupos experimentales, los mayores valores se obtuvieron en la semana 9.

**Tabla XLIII:** Análisis de varianza de las características de los eyaculados: Volumen (VE), concentración (CC) y cantidad total de espermatozoides en el eyaculado (CTE).

	Dieta	Se	Dieta*Se	DI	DI*Dieta	DI*Se	DI*Dieta*Se	CME <sub>1</sub>	CME <sub>2</sub>	CME <sub>3</sub>
<b>VE</b>	***	*	NS	*	NS	**	NS	0,13	0,04	0,03
<b>CC</b>	T	**	*	NS	NS	NS	NS	9415,46	2608,52	1390,98
<b>CTE</b>	**	**	NS	NS	NS	**	NS	32274,72	12000,65	5450,11

Fuentes de variación: Dieta (nivel de ingestión de proteína); Se (semana de experimento); DI (día de extracción de semen).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot ( $\times 10^7$  para la CC y los ST); CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot ( $\times 10^7$  para la CC y los ST); CME<sub>3</sub>: Cuadrado medio del error del subsubplot ( $\times 10^7$  para la CC y los ST).

NS:  $P > 0,10$ ; T:  $P < 0,10$ ; \*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$ .

El día de extracción de los eyaculados afectó significativamente ( $P < 0,05$ ) al volumen de eyaculado, aunque este efecto únicamente se manifestó en la semana 9. En esta semana, el mayor volumen correspondió al primer día de extracción de eyaculados.

#### 5.2.4.2. Otras características del semen

En la tabla XLIV se presentan los valores medios de la motilidad masal, motilidad individual, porcentaje de espermatozoides vivos y porcentaje de espermatozoides con anomalías morfológicas. En la tabla XLV se recogen los resultados del análisis de varianza realizado.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) atribuibles al nivel de ingestión de proteína en ninguna de estas características del semen.

La motilidad masal varió significativamente ( $P < 0,05$ ) con la semana de experimento y con el día de extracción de los eyaculados. Los mayores valores de motilidad masal se encontraron en la semana 9 y en el segundo día de extracción de eyaculados.

**Tabla XLIV:** Valores medios de las características del semen: Motilidad masal (MM), motilidad individual (MI), porcentaje de espermatozoides vivos (PEV) y de espermatozoides con anomalías morfológicas (PEA) en las semanas 5 y 9 del ensayo, para cada grupo experimental.

<b>NIVEL DE INGESTIÓN DE PROTEÍNA</b>				
	<b>BAJO</b>	<b>MEDIO</b>	<b>ALTO</b>	<b>Media</b>
<b>MM</b>				
<b>Semana 5</b>	4,42	4,21	4,37	4,33 <sub>a</sub>
<b>Semana 9</b>	4,58	4,40	4,49	4,50 <sub>b</sub>
<b>Media</b>	4,50	4,30	4,43	
<b>MI</b>				
<b>Semana 5</b>	4,14	4,12	4,23	4,16
<b>Semana 9</b>	4,22	4,23	4,27	4,24
<b>Media</b>	4,18	4,17	4,25	
<b>PEV (%)</b>				
<b>Semana 5</b>	83,83	79,20	81,30	81,59
<b>Semana 9</b>	80,58	80,60	81,90	81,00
<b>Media</b>	82,21	79,90	81,60	
<b>PEA (%)</b>				
<b>Semana 5</b>	9,25	7,70	5,10	7,47
<b>Semana 9</b>	6,58	7,80	5,80	6,72
<b>Media</b>	7,92	7,75	5,45	

<sub>a,b</sub> dentro de la misma columna, los valores con diferente subíndice difieren significativamente ( $P < 0,05$ ).

En la semana 9, el porcentaje de espermatozoides vivos fue significativamente mayor ( $P < 0,05$ ) el primer día de extracción de los eyaculados que el segundo día. Este efecto, sin embargo, no se encontró en la semana 5 ( $P > 0,10$ ).

**Tabla XLV:** Análisis de varianza de las características de los eyaculados: Motilidad masal (MM), motilidad individual (MI), porcentaje de espermatozoides vivos (PEV) y de espermatozoides con anomalías morfológicas (PEA) en las semanas 5 y 9 del ensayo.

	Dieta	Se	Dieta*Se	DI	DI*Dieta	DI*Se	DI*Dieta*Se	CME <sub>1</sub>	CME <sub>2</sub>	CME <sub>3</sub>
<b>MM</b>	NS	*	NS	*	NS	NS	NS	0,18	0,06	0,09
<b>MI</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,05	0,04	0,02
<b>PEV</b>	NS	NS	NS	NS	NS	**	NS	193,75	37,79	29,15
<b>PEA</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	73,16	32,10	37,28

Fuentes de variación: Dieta (nivel de ingestión de proteína); Se (semana de experimento); DI (día de extracción de semen).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot; CME<sub>3</sub>: Cuadrado medio del error del subsubplot.

NS:  $P > 0,10$ ; \*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ .

### 5.2.4.3. Relaciones entre las características del semen, la circunferencia escrotal, el volumen testicular y la concentración plasmática de Lh, Fsh, testosterona

#### 5.2.4.3.1. Semana 5

En la tabla XLVI figuran los coeficientes de correlación entre las características del semen, la circunferencia escrotal, el volumen testicular y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona en la semana 5 del experimento.

Como es lógico, la cantidad total de espermatozoides presentes en el eyaculado estuvo correlacionada significativa y positivamente con el volumen de eyaculado ( $r =$

0,88;  $P < 0,001$ ) y con la concentración de espermatozoides del eyaculado ( $r = 0,70$ ;  $P < 0,01$ ).

La motilidad masal mostró una correlación significativa y negativa ( $P < 0,05$ ) con el porcentaje de espermatozoides con anomalías morfológicas ( $r = -0,56$ ;  $P < 0,05$ ). La correlación entre los restantes parámetros seminales no fue estadísticamente significativa ( $P > 0,10$ ).

**Tabla XLVI:** Coeficientes de correlación entre las características del semen, la circunferencia escrotal (CE), el volumen testicular (VT) y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona (Tes), en la semana 5 del ensayo experimental.

	VE	CC	CTE	MM	MI	PEV	PEA
<b>CC</b>	0,31 ns						
<b>CTE</b>	0,88***	0,70**					
<b>MM</b>	-0,11 ns	0,18 ns	-0,02 ns				
<b>MI</b>	0,31 ns	0,34 ns	0,39 ns	0,42 ns			
<b>PEV</b>	-0,18 ns	-0,33 ns	-0,34 ns	0,22 ns	-0,10 ns		
<b>PEA</b>	-0,11 ns	-0,38 ns	-0,20 ns	-0,56*	-0,06 ns	0,01 ns	
<b>CE</b>	0,74***	0,40 ns	0,71**	0,27 ns	0,18 ns	-0,10 ns	-0,52*
<b>VT</b>	0,69**	0,41 ns	0,69**	0,09 ns	0,14 ns	-0,36 ns	-0,37 ns
<b>Lh</b>	0,45 T	-0,01 ns	0,35 ns	-0,34 ns	-0,15 ns	-0,22 ns	0,21 ns
<b>Fsh</b>	0,14 ns	-0,14 ns	0,05 ns	-0,19 ns	-0,19 ns	-0,01 ns	-0,05 ns
<b>Tes</b>	-0,29 ns	0,01 ns	-0,21 ns	0,11 ns	-0,09 ns	0,21 ns	0,03 ns

VE= volumen de eyaculado; CC= concentración de espermatozoides en el eyaculado; CTE= espermatozoides totales en el eyaculado; MM= motilidad masal; MI= motilidad individual; PEV= porcentaje de espermatozoides vivos; PEA= porcentaje de espermatozoides anormales.

ns:  $P > 0,10$ ; T:  $P < 0,10$ ; \*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$ .

El volumen de eyaculado mostró una correlación significativa y positiva con la circunferencia escrotal ( $r = 0,74$ ;  $P < 0,001$ ) y con el volumen testicular ( $r = 0,69$ ;  $P < 0,01$ ). La cantidad total de espermatozoides también presentó una correlación significativa con la circunferencia escrotal ( $r = 0,71$ ;  $P < 0,01$ ) y con el volumen testicular ( $r = 0,69$ ;  $P < 0,01$ ).

La circunferencia escrotal también se correlacionó significativa y negativamente con el porcentaje de espermatozoides con anomalías morfológicas ( $r = -0,52$ ;  $P < 0,05$ ).

La concentración plasmática de Lh mostró una correlación, con tendencia a la significación, con el volumen de eyaculado ( $r = 0,45$ ;  $P < 0,10$ ). La concentración plasmática de Fsh y de testosterona no se correlacionaron significativamente ( $P > 0,10$ ) con ninguna de las características del semen.

#### 5.2.4.3.2. Semana 9

En la tabla XLVII figuran los coeficientes de correlación entre las características del semen, la circunferencia escrotal, el volumen testicular y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona en la semana 9 del experimento.

**Tabla XLVII:** Coeficientes de correlación entre las características del semen, la circunferencia escrotal (CE), el volumen testicular (VT) y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona (Tes), en la semana 9 del ensayo experimental.

	VE	CC	CTE	MM	MI	PEV	PEA
<b>CC</b>	0,54*						
<b>CTE</b>	0,94***	0,75***					
<b>MM</b>	-0,11 ns	0,42 ns	0,10 ns				
<b>MI</b>	0,20 ns	0,69**	0,40 ns	0,74***			
<b>PEV</b>	0,21 ns	0,41 ns	0,32 ns	0,19 ns	0,30 ns		
<b>PEA</b>	-0,28 ns	-0,50*	-0,37 ns	-0,58*	-0,71**	-0,21 ns	
<b>CE</b>	0,64**	0,53*	0,65*	-0,07 ns	0,12 ns	0,09 ns	-0,35 ns
<b>VT</b>	0,69*	0,50*	0,69*	-0,05 ns	0,15 ns	-0,09 ns	-0,31 ns
<b>Lh</b>	0,05 ns	-0,18 ns	-0,07 ns	-0,56*	-0,40 ns	0,21 ns	0,11 ns
<b>Fsh</b>	0,10 ns	0,15 ns	0,10 ns	0,04 ns	0,14 ns	0,02 ns	0,09 ns
<b>Tes</b>	-0,05 ns	-0,03 ns	-0,10 ns	-0,28 ns	-0,13 ns	-0,28 ns	-0,15 ns

VE= volumen de eyaculado; CC= concentración de espermatozoides en el eyaculado; CTE= espermatozoides totales en el eyaculado; MM= motilidad masal; MI= motilidad individual; PEV= porcentaje de espermatozoides vivos; PEA= porcentaje de espermatozoides anormales.

ns:  $P > 0,10$ ; \*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$ .

Se encontró una correlación significativa y positiva entre el volumen de eyaculado y la concentración de espermatozoides en el eyaculado ( $r= 0,54$ ;  $P<0,05$ ). Lógicamente, la cantidad total de espermatozoides presentes en el eyaculado estuvo correlacionada significativa y positivamente con el volumen de eyaculado ( $r= 0,94$ ;  $P<0,001$ ) y con la concentración de espermatozoides del eyaculado ( $r= 0,75$ ;  $P<0,001$ ).

La motilidad individual presentó una correlación significativa con la concentración de espermatozoides en el eyaculado ( $r= 0,69$ ;  $P<0,01$ ) y con la motilidad masal ( $r= 0,74$ ;  $P<0,001$ ).

El porcentaje de espermatozoides con anomalías morfológicas mostró una correlación negativa y significativa ( $P<0,05$ ) con la concentración de espermatozoides en el eyaculado ( $r= -0,50$ ), con la motilidad masal ( $r= -0,58$ ) y con la motilidad individual ( $r= -0,71$ ).

La circunferencia escrotal y el volumen testicular presentaron una correlación positiva con el volumen de eyaculado ( $r= 0,64$ ;  $P<0,01$  y  $r= 0,69$ ;  $P<0,05$  para la CE y el VT, respectivamente), con la concentración de espermatozoides en el eyaculado ( $r= 0,53$ ;  $P<0,05$  y  $r= 0,50$ ;  $P<0,05$  para la CE y el VT, respectivamente) y con la cantidad total de espermatozoides presentes en el eyaculado ( $r= 0,65$ ;  $P<0,05$  y  $r= 0,69$ ;  $P<0,05$  para la CE y el VT, respectivamente).

La concentración plasmática de Lh mostró una correlación significativa y negativa con la motilidad masal ( $r= -0,56$ ;  $P<0,05$ ). La concentración plasmática de Fsh y de testosterona no se correlacionaron significativamente ( $P>0,10$ ) con ninguna de las características del semen.

### 5.2.5. Capacidad de servicio

En la tabla XLVIII se recogen los valores medios de los parámetros que fueron registrados en las pruebas de capacidad de servicio. En la tabla IL se recogen los resultados del análisis de varianza realizado.

**Tabla XLVIII:** Valores medios de los parámetros registrados en las pruebas de capacidad de servicio: Montas sin eyaculación (MSE), montas con eyaculación (MCE) y tiempo de reacción (TR) en las semanas 6 y 10 del ensayo, para cada grupo experimental.

	NIVEL DE INGESTIÓN DE PROTEÍNA			Media
	BAJO	MEDIO	ALTO	
<b>MSE</b>				
<b>Semana 5</b>	4,58	5,70	5,40	5,17
<b>Semana 9</b>	6,58	5,40	3,90	5,37
<b>Media</b>	5,58	5,55	4,65	
<b>MCE</b>				
<b>Semana 5</b>	3,33	3,50	4,00	3,59
<b>Semana 9</b>	3,08	3,60	4,10	3,56
<b>Media</b>	3,21	3,55	4,05	
<b>TR (segundos)</b>				
<b>Semana 5</b>	16,83	23,90	19,80	19,97
<b>Semana 9</b>	21,75	17,60	23,80	21,09
<b>Media</b>	19,29	20,75	21,80	

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) debidas al nivel de ingestión de proteína, a la semana de experimento ni a su interacción en ninguno de los parámetros registrados en las pruebas.

El número medio de montas sin eyaculación fue  $5,28 \pm 0,689$ ; el de montas con eyaculación  $3,58 \pm 0,144$  y el tiempo medio de reacción  $20,53 \pm 2,153$  segundos.

El número de montas sin eyaculación y el de montas con eyaculación variaron significativamente ( $P < 0,05$ ) con el día de realización de las pruebas. Estos dos parámetros evolucionaron de forma contraria; el mayor número de montas con eyaculación se registraron el primer día y el mayor número de montas sin eyaculación el segundo día.

**Tabla II:** Análisis de varianza de los parámetros registrados en las pruebas de capacidad de servicio: Montas sin eyaculación (MSE), montas con eyaculación (MSC) y tiempo de reacción (TR).

	Dieta	Se	Dieta*Se	DI	DI*Dieta	DI*Se	DI*Dieta*Se	CME <sub>1</sub>	CME <sub>2</sub>	CME <sub>3</sub>
<b>MSE</b>	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	87,79	12,25	16,92
<b>MCE</b>	NS	NS	NS	***	NS	NS	NS	3,01	0,67	0,59
<b>TR</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	454,57	174,38	355,03

Fuentes de variación: Dieta (nivel de ingestión de proteína); Se (semana de experimento); DI (día de realización de la prueba).

CME<sub>1</sub>: Cuadrado medio del error del plot; CME<sub>2</sub>: Cuadrado medio del error del subplot; CME<sub>3</sub>: Cuadrado medio del error del subsubplot.

NS:  $P > 0,10$ ; \*:  $P < 0,05$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$ .

### 5.2.5.1. Relaciones entre los parámetros registrados en las pruebas de capacidad de servicio, la circunferencia escrotal, el volumen testicular, las características del semen y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona

#### 5.2.5.1.1. Semana 6

En la tabla L figuran los coeficientes de correlación entre los parámetros registrados en las pruebas de capacidad de servicio, la circunferencia escrotal, el

volumen testicular, las características del semen y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona, en la semana 6 del experimento.

**Tabla L:** Coeficientes de correlación entre los parámetros registrados en las pruebas de capacidad de servicio, la circunferencia escrotal (CE), el volumen testicular (VT), las características del semen y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona (Tes), en la semana 6 del ensayo experimental.

	<b>MSE</b>	<b>MCE</b>	<b>TR</b>
<b>MCE</b>	-0,02 ns		
<b>TR</b>	0,10 ns	0,35 ns	
<b>CE</b>	-0,02 ns	0,23 ns	-0,23 ns
<b>VT</b>	0,12 ns	0,17 ns	-0,16 ns
<b>VE</b>	-0,01 ns	0,10 ns	-0,05 ns
<b>CC</b>	0,17 ns	0,18 ns	0,06 ns
<b>CTE</b>	0,09 ns	0,20 ns	-0,04 ns
<b>MM</b>	-0,07 ns	0,16 ns	-0,38 ns
<b>MI</b>	0,04 ns	-0,02 ns	-0,43 ns
<b>PEV</b>	-0,66**	0,15 ns	0,11 ns
<b>PEA</b>	-0,19 ns	-0,14 ns	-0,04 ns
<b>Lh</b>	0,51*	0,13 ns	0,43 T
<b>Fsh</b>	-0,30 ns	0,11 ns	-0,15 ns
<b>Tes</b>	-0,07 ns	0,19 ns	-0,46 T

**MSE**= montas sin eyaculación; **MCE**= montas con eyaculación; **TR**= tiempo de reacción; **VE**= volumen de eyaculado en la semana 5; **CC**= concentración de espermatozoides en el eyaculado en la semana 5; **CTE**= espermatozoides totales en el eyaculado en la semana 5; **MM**= motilidad masal en la semana 5; **MI**= motilidad individual en la semana 5; **PEV**= porcentaje de espermatozoides vivos en la semana 5; **PEA**= porcentaje de espermatozoides anormales en la semana 5.

ns: P>0,10; T: P<0,10; \*: P<0,05; \*\*: P<0,01.

El número de montas sin eyaculación mostró una correlación significativa y negativa con el porcentaje de espermatozoides vivos ( $r = -0,66$ ;  $P < 0,01$ ) y positiva con la concentración plasmática de Lh ( $r = 0,51$ ;  $P < 0,05$ ).

El tiempo de reacción mostró una tendencia a correlacionarse de forma positiva con la concentración plasmática de Lh ( $r = 0,43$ ;  $P < 0,10$ ) y negativa con la concentración de testosterona ( $r = -0,46$ ;  $P < 0,10$ ).

### 5.2.5.1.2. Semana 10

En la tabla LI figuran los coeficientes de correlación entre los parámetros registrados en las pruebas de capacidad de servicio, la circunferencia escrotal, el volumen testicular, las características del semen y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona.

**Tabla LI:** Coeficientes de correlación entre los parámetros registrados en las pruebas de capacidad de servicio, la circunferencia escrotal (CE), el volumen testicular (VT), las características del semen y la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona (Tes), en la semana 10 del ensayo experimental.

	<b>MSE</b>	<b>MCE</b>	<b>TR</b>
<b>MCE</b>	-0,58*		
<b>TR</b>	-0,22 ns	0,20 ns	
<b>CE</b>	-0,10 ns	0,17 ns	-0,19 ns
<b>VT</b>	0,06 ns	0,27 ns	-0,18 ns
<b>VE</b>	-0,21 ns	0,61*	-0,03 ns
<b>CTE</b>	-0,32 ns	0,68*	0,03 ns
<b>CC</b>	-0,46 T	0,48*	0,20 ns
<b>MM</b>	-0,14 ns	0,24 ns	0,25 ns
<b>MI</b>	-0,34 ns	0,41 ns	0,39 ns
<b>PEV</b>	-0,44 T	0,09 ns	0,26 ns
<b>PEA</b>	0,31 ns	-0,26 ns	-0,18 ns
<b>Lh</b>	0,06 ns	-0,34 ns	-0,36 ns
<b>Fsh</b>	-0,10 ns	0,07 ns	0,20 ns
<b>Tes</b>	0,16 ns	-0,40 ns	-0,41 ns

MSE= montas sin eyaculación; MCE= montas con eyaculación; TR= tiempo de reacción; VE= volumen de eyaculado en la semana 10; CC= concentración de espermatozoides en el eyaculado en la semana 9; CTE= espermatozoides totales en el eyaculado en la semana 9; MM= motilidad masal en la semana 9; MI= motilidad individual en la semana 9; PEV= porcentaje de espermatozoides vivos en la semana 9; PEA= porcentaje de espermatozoides anormales en la semana 9.

ns: P>0,10; T: P<0,10; \*: P<0,05.

El número de montas sin eyaculación presentó una correlación negativa con el número de montas con eyaculación ( $r = -0,58$ ;  $P < 0,05$ ), con la concentración de

espermatozoides en el eyaculado ( $r = -0,46$ ;  $P < 0,10$ ) y con el porcentaje de espermatozoides vivos ( $r = -0,44$ ;  $P < 0,10$ ).

El número de montas con eyaculación mostró una correlación positiva con el volumen de eyaculado ( $r = 0,61$ ;  $P < 0,05$ ), con la concentración de espermatozoides en el eyaculado ( $r = 0,48$ ;  $P < 0,05$ ) y con la cantidad total de espermatozoides en el eyaculado ( $r = 0,68$ ;  $P < 0,05$ ).

---

## **6.- DISCUSIÓN**

---

## **6.1. Prueba 1**

### **6.1.1. Ingestión**

#### **6.1.1.1. Primer periodo**

Los consumos de forraje y de pienso, registrados en el presente ensayo, se encuentran dentro del rango de valores recogidos en la literatura para corderos de otras razas, tanto de aptitud cárnica como de aptitud láctea, alimentados en condiciones similares (Tan y Bryant, 1991a; Manso, 1994; Manso *et al.*, 1997; Brusa, 1998).

El consumo de paja fue muy similar en los diferentes grupos experimentales y muy inferior al de pienso. Por término medio, el consumo diario de forraje representó el 5% del consumo total de materia seca.

Al contrario de lo que sucedió con el forraje, el consumo de pienso fue mayor en los animales que recibieron el pienso con mayor contenido de proteína (pienso A).

Numerosos trabajos han constatado que, en corderos en crecimiento, existe una relación positiva entre el contenido de proteína de la ración y el consumo (Ørskov *et al.*, 1971; Yilala y Bryant, 1985; Purroy *et al.*, 1992; Tan y Bryant, 1991a; Manso *et al.*, 1997; Manso *et al.*, 1998).

Ahora bien, el efecto positivo que ejerce el contenido de proteína de la ración sobre el consumo puede ser producido por diferentes mecanismos.

Por una parte, hay que considerar la relación entre el aporte de proteína degradable en el rumen (PDR) y el crecimiento y la actividad de la población microbiana del rumen. Por otra, también se debe tener en cuenta el efecto de la proteína absorbida sobre el metabolismo tisular.

En aquellas situaciones en las que el aporte de PDR es limitante para el crecimiento microbiano, al aumentar el contenido de PDR de la ración se estimula el crecimiento microbiano y la actividad degradativa. Como consecuencia, se favorece el vaciado del tracto digestivo y se incrementa la ingestión voluntaria (Andrews y Ørskov, 1970a; Ørskov *et al.*, 1971; Mehrez y Ørskov, 1978; Van Soest, 1994).

En el presente ensayo los piensos se formularon para que presentaran un contenido de PDR similar y para que el aporte de PDR no fuera limitante para el crecimiento microbiano. Por este motivo, *a priori*, no cabe esperar que las diferencias observadas en el consumo estén relacionadas con diferencias en la actividad degradativa.

No obstante, diferentes trabajos han puesto de manifiesto que el crecimiento microbiano y, por ende, la actividad degradativa también puede variar con la composición de la PDR (Yilala y Bryant, 1985; Tan y Bryant, 1991a; Tan y Bryant, 1991b; Yan *et al.*, 1996).

Evidentemente, la composición de la PDR en los piensos empleados en el presente trabajo es distinta, ya que es diferente la proporción de las distintas materias primas que los integran. Por ello, no puede descartarse que hayan existido diferencias

entre grupos experimentales en la actividad degradativa y que éstas hayan contribuido a las diferencias observadas en la ingestión.

Como se señaló anteriormente, la relación entre ingestión y contenido de proteína de la ración también se puede basar en cambios en el metabolismo tisular.

Según Ørskov *et al.* (1971), al aumentar el aporte de aminoácidos a los tejidos se favorece la deposición de proteína. Ésto, a su vez, aumenta la demanda de energía, que sólo puede ser cubierta incrementando el consumo de alimento. De hecho, en el presente estudio, los animales que consumieron el pienso A presentaron mayores ritmos de crecimiento.

En relación con el control metabólico de la ingestión, cabe mencionar otros aspectos que también pueden contribuir a explicar los resultados obtenidos en el presente ensayo.

La relación energía/proteína de la ración influye en el engrasamiento de los animales y existen datos suficientes para aceptar la existencia de un mecanismo de retroalimentación negativo que permite regular el consumo en función de este parámetro.

El fundamento de este mecanismo, sin embargo, no está totalmente esclarecido, aunque en la actualidad comienza a vislumbrarse.

Inicialmente se pensó que este mecanismo tenía una base física, de modo que el tracto digestivo y el tejido adiposo competían por el espacio. De acuerdo con esta

teoría, a medida que aumentaba la deposición de grasa disminuía la capacidad de distensión del tracto digestivo, especialmente del rumen, y se limitaba la ingestión (Forbes, 1986; Ketelaars y Tolkamp, 1992). Esta explicación física, sin embargo, ya no se acepta, puesto que el efecto del engrasamiento es, en cierta manera, independiente del volumen del alimento (Ketelaars y Tolkamp, 1992).

Recientemente se ha descubierto la existencia de una nueva hormona, denominada leptina, que parece constituir la base del mecanismo de retroalimentación antes señalado. Esta hormona se sintetiza, fundamentalmente, en el tejido adiposo y su concentración plasmática es mayor cuanto mayor es la cantidad de tejido adiposo en el organismo (Coppack *et al.*, 1998; Porter y Andrews, 1998).

El mecanismo de acción de la leptina no se conoce, todavía, con exactitud. Sin embargo, se sabe que existen receptores para esta hormona en diferentes órganos y tejidos y que reduce el apetito y aumenta el metabolismo energético (Cawthorne *et al.*, 1998; Porter y Andrews, 1998).

La mayoría de los estudios sobre esta hormona se han realizado en la especie humana y en animales de laboratorio. Sin embargo, también se ha identificado esta hormona en la especie ovina (Williams *et al.*, 1999).

En el presente estudio cabe esperar que los animales que recibieron el pienso B presentaran una mayor deposición de grasa y, por tanto, una mayor concentración de leptina en el plasma, que actuaría reduciendo el consumo.

### 6.1.1.2. Segundo periodo

El consumo diario de paja de cebada fue mayor en los grupos BA y AB. Sin embargo, estas diferencias pueden considerarse cuantitativamente irrelevantes desde el punto de vista nutritivo. Tal y como sucedió en el primer periodo, en ninguno de los grupos el consumo de paja superó el 10% de la materia seca total ingerida.

En lo que respecta al consumo de pienso, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) entre grupos experimentales. No obstante, los animales que recibieron el pienso con mayor contenido de proteína (pienso A) presentaron un consumo alrededor de un 10% superior.

La ausencia de diferencias estadísticamente significativas puede explicarse por la elevada variación individual ( $CV = 27 \pm 2,1 \%$ ) y por el comportamiento errático que experimentó la ingestión en todos los grupos.

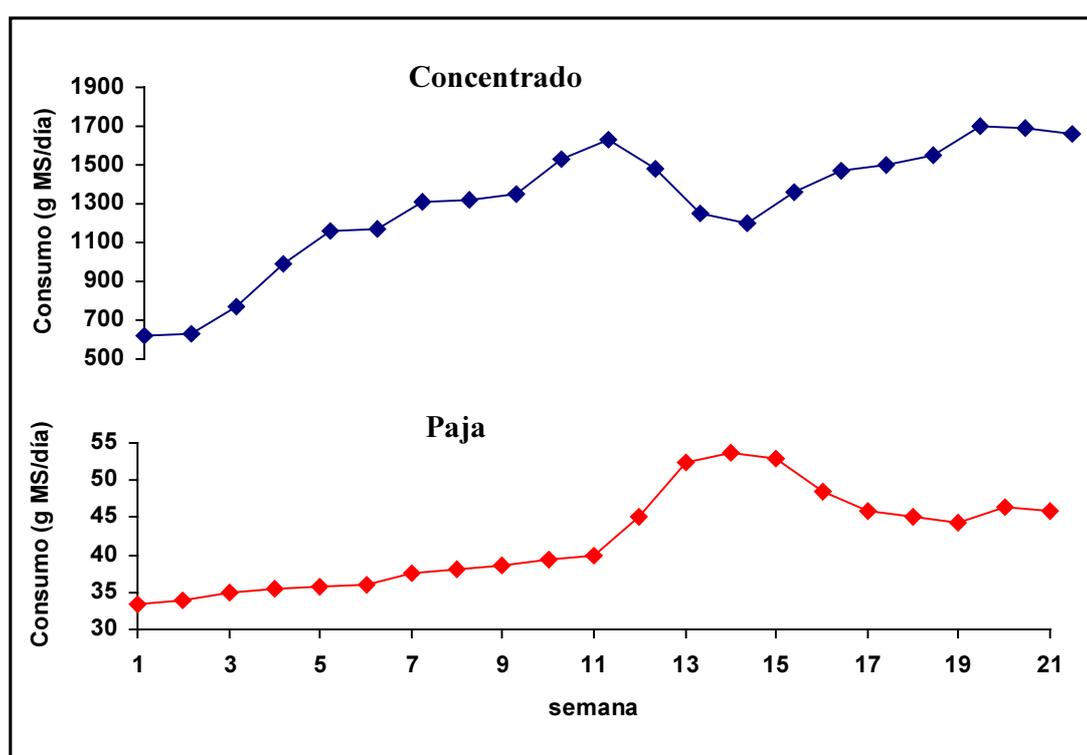
El comportamiento errático de la ingestión sugiere la existencia de alteraciones digestivas asociadas con el elevado consumo de pienso (acidosis ruminal).

En este sentido, cabe señalar que diferentes estudios han puesto de manifiesto que las alteraciones morfológicas de la mucosa provocadas por la acidosis son reversibles, de manera que la mucosa puede recuperarse completamente en un periodo de tiempo comprendido entre las 3 y las 6 semanas (Nocek y Kessler, 1980; Dirksen, 1989; Nocek, 1997).

En el presente ensayo, por tanto, se podría haber producido una acidosis subclínica crónica, que habría ido alterando de forma progresiva la mucosa del rumen en los animales experimentales. La evolución de estas lesiones, al llegar a cierto punto,

provocaría una reducción en el consumo de pienso, que volvería a recuperarse transcurrido un tiempo. De hecho, en la mayoría de los animales suele coincidir, en el tiempo, la depresión en el consumo de pienso con un aumento en la ingestión de paja (ver figura XVIII).

**Figura XVIII:** Evolución del consumo de pienso y del consumo de paja en uno de los animales experimentales, a lo largo del tiempo.



La necesidad de un tiempo mínimo para que la alteración de la mucosa del rumen desencadene un cambio en el comportamiento alimentario podría ser, además, la explicación de por qué el comportamiento errático de la ingestión únicamente se observó en el segundo periodo.

En lo que respecta a las diferencias en el consumo entre grupos, el mayor consumo expresado por los grupos AA y BA podría explicarse utilizando los mismos argumentos empleados en el primer periodo.

Es un hecho ampliamente constatado que el potencial de crecimiento y las necesidades proteicas de los animales disminuyen a medida que el animal crece (AFRC, 1993; Ingvarlsen, 1994; Lawrence y Fowler, 1997). Como consecuencia, se ha observado que el efecto del contenido de proteína sobre la ingestión y la ganancia de peso varía con la etapa de crecimiento que se esté estudiando (Andrews y Ørskov, 1970a; Ørskov *et al.*, 1972; Cañeque y Gálvez, 1975; Ørskov *et al.*, 1976).

Este fenómeno fisiológico también se refleja en el comportamiento alimentario de los animales. Así, por ejemplo, se ha observado en estudios de selección de dieta realizados con corderos en crecimiento, con rangos de peso entre 23 y 45 kg, que la cantidad y la composición de la dieta seleccionada por los animales están relacionadas con sus necesidades proteicas. En las etapas iniciales de crecimiento, es decir, con pesos vivos bajos, los corderos muestran preferencia por aquellas dietas con alto contenido de proteína bruta; al aumentar el peso vivo, sin embargo, disminuye esta preferencia (Kyriazakis y Oldham, 1993).

Este comportamiento confiere al animal un mecanismo de defensa, puesto que la disminución en el consumo de proteína reduce la necesidad de destoxicación y, por tanto, una sobrecarga hepática que podría ser perjudicial para su salud (Lindsay, 1976; Boon *et al.*, 1999). En condiciones de temperatura elevada, ajustar el consumo de proteína también favorece la ingestión de los animales, puesto que evita el incremento térmico asociado con el metabolismo proteico (Johnston *et al.*, 1999).

Teniendo en consideración lo expuesto y ensayos realizados en otras razas (Ørskov *et al.*, 1972; Cañeque y Gálvez, 1975; Thompson y Parks, 1983; Ingvarsten, 1994; Frutos, 1993; Brusa, 1998), como hipótesis de partida, podría considerarse que el primer y segundo periodo experimental son etapas bien diferenciadas desde el punto de vista de la composición de la ganancia de peso y de las necesidades proteicas de los animales.

Los resultados obtenidos en el presente estudio, sin embargo, no corroboran tal hipótesis.

Así, por una parte, el incremento de peso durante el segundo periodo no fue inferior al que presentaron los animales durante el primer periodo, excepto en el grupo AB. Esto fue así a pesar de que el peso alcanzado por los animales al finalizar el segundo periodo ( $54 \pm 1,5$  kg) fue, prácticamente, el doble del que presentaron al finalizar el primer periodo ( $30 \pm 0,9$  kg).

No obstante, si tenemos en consideración que el peso adulto de los sementales de raza Assaf se sitúa en torno a los 100 kg (Zekaria *et al.*, 1991), teóricamente, no sería absurdo aceptar que el segundo periodo todavía podría englobarse en la fase de crecimiento rápido y, por tanto, de crecimiento relativamente lineal.

Por otra parte, el estudio pormenorizado de la ingestión permite extraer conclusiones concordantes con lo que sugieren los datos de ganancia de peso.

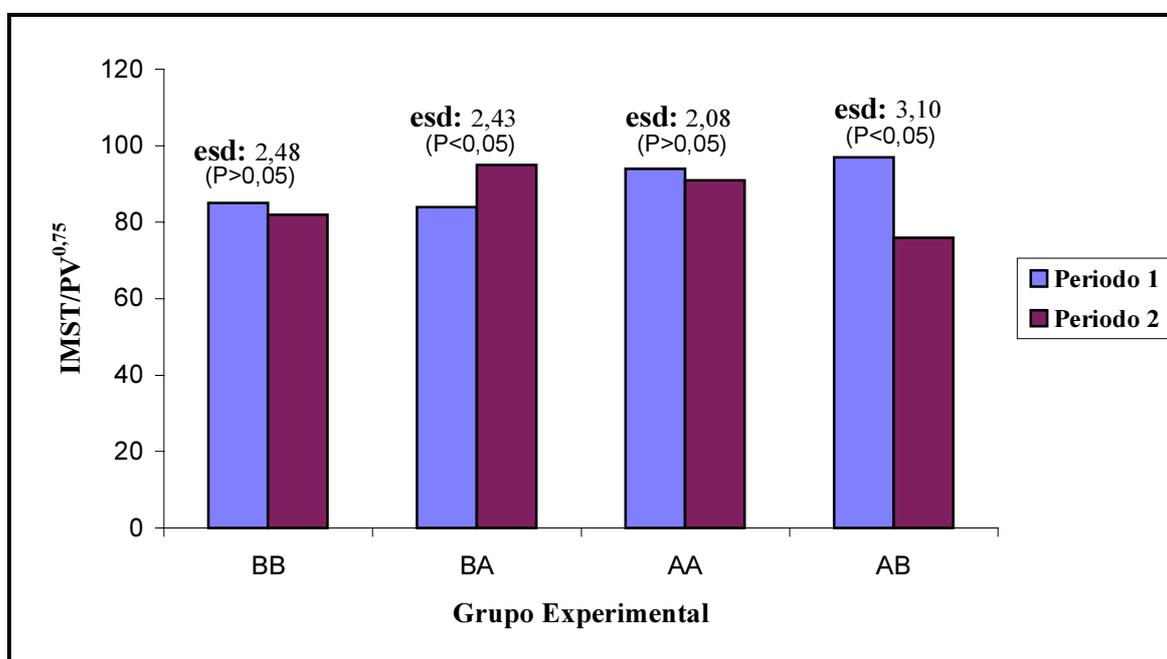
De acuerdo con diferentes autores, la relación entre la ingestión, expresada en g de MS ingerida por kg de peso metabólico, y el peso del animal sigue una relación curvilínea, de manera que, en una primera fase, el consumo aumenta hasta alcanzar un máximo. A partir de este punto, el consumo, en términos generales, disminuye a

medida que el animal crece y aumenta de peso (Greenhalgh y McDonald, 1978; Newbold *et al.*, 1987; Ingvarlsen, 1994).

Sin embargo, en el presente ensayo no se observó ninguna relación significativa, ni lineal, ni cuadrática, ni cúbica, entre la ingestión y el peso en ninguno de los grupos experimentales.

Es interesante señalar que cuando se estudia la relación entre ingestión y peso para cada periodo experimental se llega a las mismas conclusiones. Sin embargo, cuando se comparan los valores medios correspondientes a cada periodo se observan diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) únicamente en los grupos AB y BA (ver figura XIX).

**Figura XIX.** Valores medios de la ingestión de materia seca total, expresada en gramos por kg de peso metabólico, para cada periodo y grupo experimental.

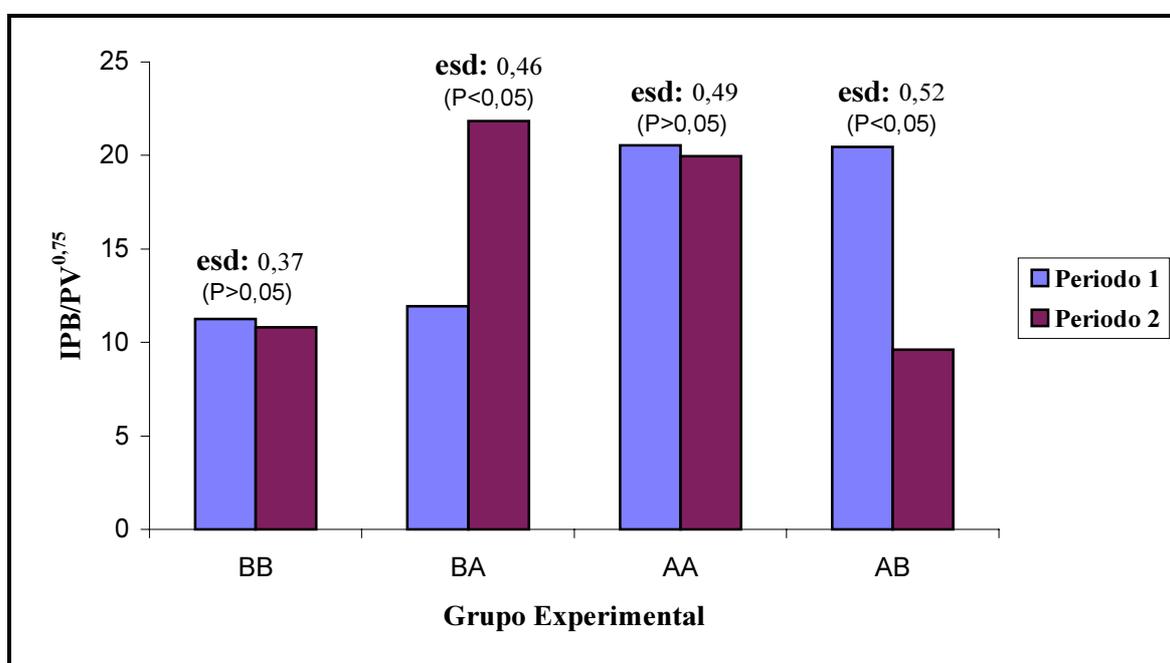


esd: error estándar de la diferencia.

Estos resultados confirman que la ingestión, expresada por kg de peso metabólico, cambia de un periodo a otro en aquellos grupos en los que se produce un cambio en la ganancia diaria de peso y, por ende, de las necesidades, pero que, a lo largo de cada periodo, la ingestión, en términos relativos, permanece relativamente constante independientemente del peso del animal.

Por otra parte, es necesario mencionar que, dado que el pienso no se granuló, los animales podrían haber realizado cierta selección de los ingredientes que lo componen, por lo que permaneciendo constante la ingestión de materia seca, podría haber variado la ingestión de los distintos componentes, en especial, de proteína. Los resultados obtenidos, sin embargo, ponen de manifiesto que la ingestión de proteína permaneció relativamente constante (ver figura XX).

**Figura XX.** Valores medios de la ingestión de proteína bruta, expresada en gramos por kg de peso metabólico, para cada periodo y grupo experimental.



esd: error estándar de la diferencia.

## 6.1.2. Variaciones de peso vivo

### 6.1.2.1. Primer periodo

Tal y como se puede observar en la tabla LII , los valores de ganancia de peso registrados en el presente estudio se encuentran dentro del rango de valores recogidos en la literatura, para corderos en crecimiento.

Como era de esperar, los animales que recibieron el pienso con mayor contenido de proteína (A) presentaron una mayor ganancia diaria de peso (250 vs 327 g/día).

**Tabla LII:** Valores de ganancia de peso para corderos de distintas razas alimentados a voluntad con forraje y piensos con diferente contenido de proteína bruta (PB).

Raza	Rango peso (kg)	PB del pienso (%)	IPV (g/día)	Fuente
Manchega	12-21	17	287	Cañeque y Gálvez (1975)
Manchega	12-21	14	266	Cañeque y Gálvez (1975)
Merina	13-25	16	217	Manso <i>et al.</i> (1997)
Merina	13-25	22	304	Manso <i>et al.</i> (1997)
Merina	15-30	15	288	Brusa (1998)
Suffolk	17-45	18	305	Beauchemin <i>et al.</i> (1995)
Assaf	12-28	14	250	Datos presente trabajo, grupos BB y BA
Assaf	12-32	20	327	Datos presente trabajo, grupos AA y AB

Aunque los corderos que recibieron el pienso A presentaron un mayor consumo de alimento y, por tanto, de energía, creemos que esta diferencia no ha contribuido de forma cuantitativamente importante a las diferencias observadas entre grupos en la ganancia de peso.

Utilizando los datos de ingestión obtenidos en el presente estudio y las recomendaciones del sistema británico de alimentación (ARC, 1980), podemos estimar la ganancia media de peso para cada grupo experimental. Así, ésta sería alrededor de 375 g/día en los animales que recibieron el pienso A y de 350 g/día en los animales que consumieron el pienso B.

Claramente, los valores estimados para cada grupo son más próximos que los observados, lo que sugiere que la diferencia en el consumo de energía ha contribuido en escasa magnitud a las diferencias observadas en la ganancia diaria de peso.

Indudablemente, los datos de ganancia de peso estimados utilizando las ecuaciones de predicción del sistema británico de alimentación son sólo orientativos. No obstante, independientemente de su exactitud, creemos que permiten obtener una idea aproximada de la respuesta productiva, muy útil, esencialmente, a efectos comparativos.

Considerando los principios bioquímicos, suficientemente conocidos, que gobiernan la relación entre crecimiento y nutrición, el menor crecimiento experimentado por los animales que consumieron el pienso B podría atribuirse a un aporte limitante de proteína o de algún aminoácido específico.

En este sentido, es sabido que para un mismo consumo de energía, el aporte de proteína que recibe el animal puede condicionar la composición de la ganancia y el incremento de peso (Andrews y Ørskov, 1970a; Jordan y Hanke, 1970; Ørskov *et al.*, 1971; Cañeque y Gálvez, 1975; Purroy *et al.*, 1992; Manso *et al.*, 1997; Brusa, 1998). En el presente estudio, el consumo de proteína de los animales que recibieron el

pienso B fue muy inferior, como es lógico, al del otro grupo experimental (ver figura XX).

Recurriendo de nuevo al sistema británico (ARC, 1980), podemos estimar la ganancia de peso que, teóricamente, podrían alcanzar los animales que recibieron los piensos A y B, en función del aporte de proteína metabolizable. Así, los animales que recibieron el pienso A podrían desarrollar tasas de crecimiento superiores a los 400 g/animal y día, mientras que los corderos que consumieron el otro pienso, presentarían ritmos de crecimiento muy inferiores, en torno a los 200 g/animal y día.

Evidentemente, en los animales que recibieron el pienso B, el ritmo de crecimiento presentó un valor intermedio entre los valores estimados de acuerdo con la ingestión de energía y de proteína, ya que, al ser el aporte de proteína limitante, cabe esperar que aumente la deposición de grasa y disminuya el índice de conversión.

Por otra parte, es interesante destacar que el menor valor de los ritmos de crecimiento observados respecto a los estimados, en los animales que consumieron el pienso A, sugiere que el aporte de proteína no fue limitante para el crecimiento.

En este sentido, Cañeque y Gálvez (1975) indican que el contenido óptimo de proteína bruta en el pienso para corderos, con un peso vivo comprendido entre 11 y 21 Kg, debe oscilar entre el 15 y el 16%. En la misma línea, Andrews y Ørskov (1970a), estudiando el efecto del contenido de proteína bruta de la ración sobre el crecimiento de corderos con pesos en torno a los 20 kg, encontraron que el contenido mínimo de proteína que permitía obtener los mayores ritmos de crecimiento era de 15 g/100 g de alimento.

En el presente ensayo, el contenido de proteína bruta del pienso A fue del 20%, cifra, por tanto, claramente superior a la recomendada en la literatura.

Por otra parte, a la hora de explicar la relación entre ganancia de peso y consumo de proteína, además de la cantidad, también hay que considerar la calidad. En este sentido, Ørskov *et al.* (1970) comprobaron que el ritmo de crecimiento, en corderos castrados de 15 kg de peso vivo, era mayor cuando se utilizaba como fuente de proteína harina de pescado que cuando se empleaba torta de soja. Esta última, a su vez, permitía mayores ganancias diarias de peso que la caseína. Resultados similares fueron obtenidos por Urbaniak (1995b) en un ensayo realizado con corderos de mayor peso (25 kg).

El pienso consumido por los corderos de los grupos AA y AB incluía en su composición torta de soja (mealpass®) en una proporción del 20%. Esta materia prima aporta proteína de mejor calidad, desde el punto de vista de la composición de aminoácidos, que la cebada. Esta circunstancia, por tanto, también pudo haber influido de forma positiva en el ritmo de crecimiento de los animales que pertenecieron a estos dos grupos.

#### **6.1.2.2. Segundo periodo**

Al igual que sucedió en el primer periodo, los animales que recibieron el pienso con menor contenido de proteína bruta (grupos BB y AB) experimentaron un menor crecimiento. Este hecho sugiere que, también en este periodo, el aporte de proteína fue limitante para el crecimiento de los animales.

Estos resultados coinciden con los observados por otros autores (Ørskov *et al.*, 1976; Hassan y Bryant, 1986; Tayer y Bryant, 1988) y de los mismos se infiere que,

entre los 30 y 60 kg de peso para la raza Assaf, el contenido óptimo de proteína bruta del pienso debe ser superior al del pienso B (14%) utilizado en el presente ensayo.

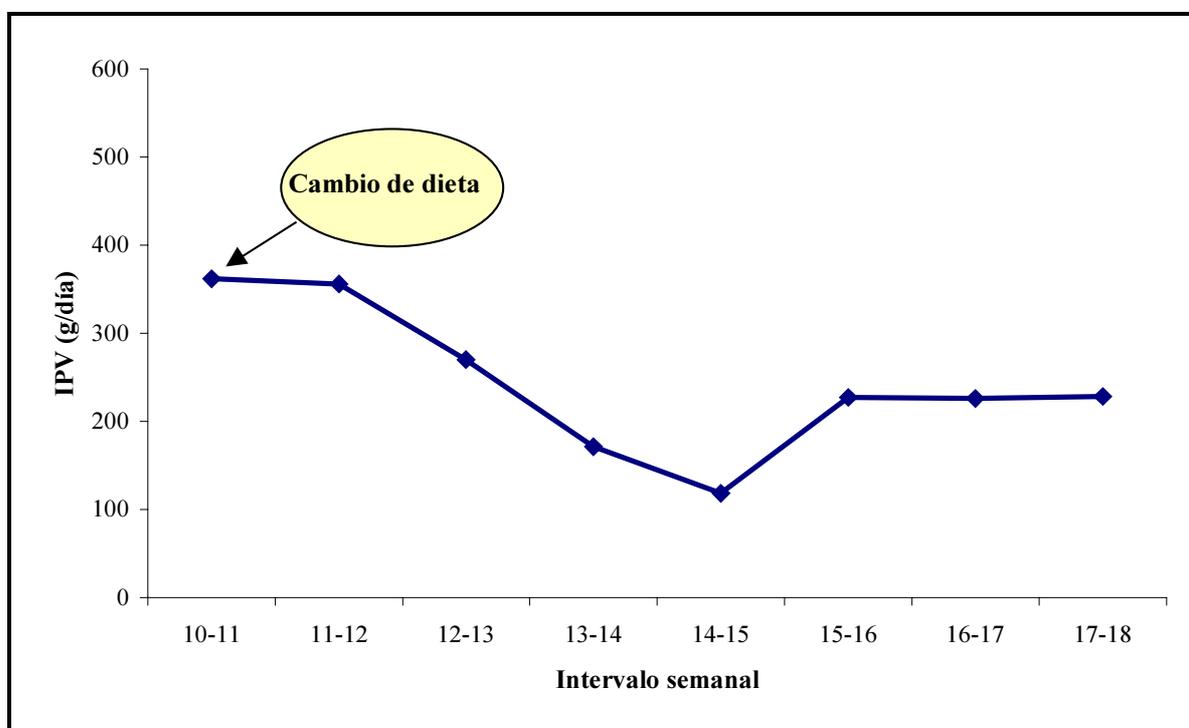
Es oportuno mencionar que, aunque la interacción entre las fuentes de variación no fue estadísticamente significativa ( $P > 0,10$ ), los valores extremos de ganancia de peso correspondieron a los animales que cambiaron de pienso al comenzar el segundo periodo. Así, en orden decreciente, los valores medios de ganancia de peso fueron  $369 \pm 2,9$ ;  $331 \pm 3,6$ ;  $304 \pm 2,3$  y  $234 \pm 2,2$  g/día, que corresponden a los grupos BA, AA, BB y AB, respectivamente.

En relación al grupo AB, que pasó de recibir el pienso A a consumir el pienso B, se observó un descenso paulatino en la velocidad de crecimiento, la cual se estabilizó transcurridas unas semanas (ver figura XXI).

Cuando el aporte de proteína disminuye por debajo de las necesidades de mantenimiento se produce un cambio prácticamente instantáneo en el metabolismo proteico. Así, se reducen las tasas de síntesis y de degradación y disminuye la excreción de nitrógeno en la orina (Liu *et al.*, 1995; Cole, 1999).

Evidentemente, cuando la reducción en el aporte de proteína no es tan acusada, también se producen reajustes en el metabolismo proteico. La concentración en plasma, tejidos y órganos de numerosas enzimas disminuye, ya que disminuye el flujo de los sustratos sobre los que actúan. Así, por ejemplo, diferentes autores han encontrado una disminución de la concentración de algunas enzimas implicadas en el ciclo de la urea al reducir el aporte de proteína (Waterlow, 1969; Lobley *et al.*, 1978; Payne y Laws, 1978).

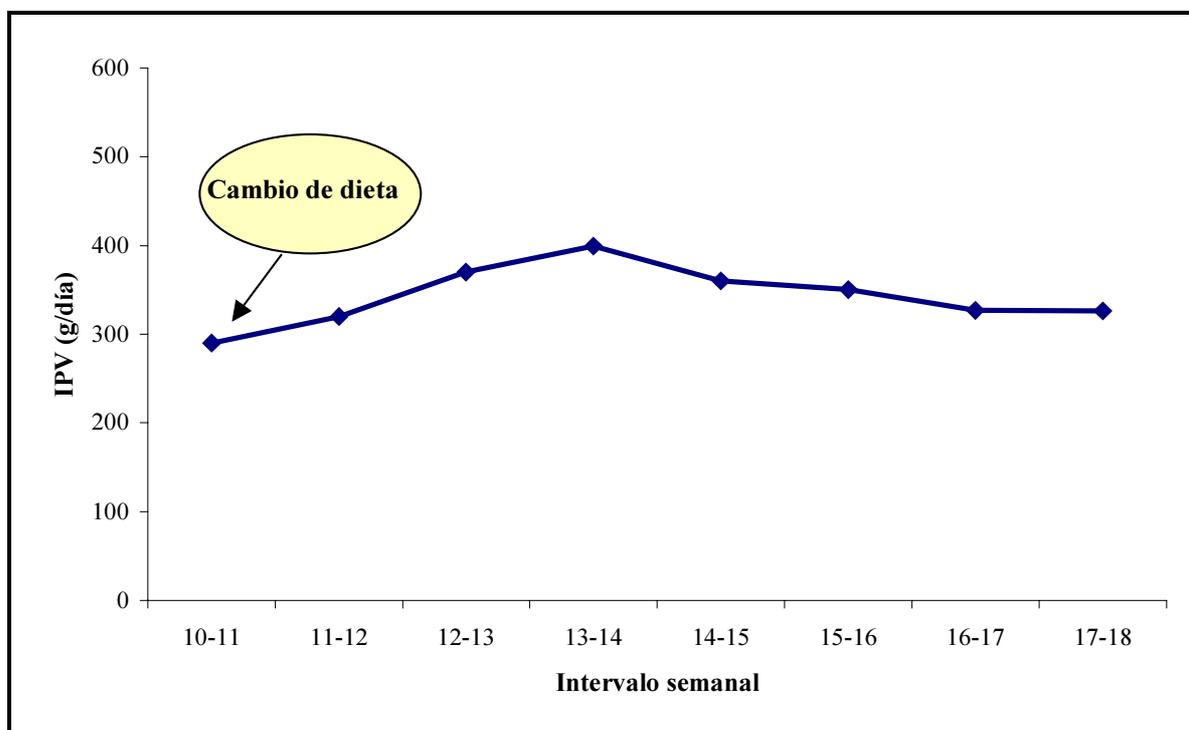
**Figura XXI.** Evolución del ritmo de crecimiento (IPV) en el grupo AB durante las 8 primeras semanas del segundo periodo.



Esta circunstancia podría ayudar a explicar la reducción paulatina de la velocidad de crecimiento, en el grupo AB, ya que la degradación de las enzimas sobrantes podría proporcionar aminoácidos para la síntesis de tejido muscular y, así, contribuir a paliar, temporalmente, el efecto que sobre el crecimiento puede causar la reducción en el aporte de proteína.

En lo que respecta al grupo BA, la velocidad de crecimiento aumentó rápidamente. Incluso se alcanzaron valores ligeramente superiores a los que presentaron los corderos que recibieron durante todo el periodo el pienso A (ver figura XXII).

**Figura XXII.** Evolución del ritmo de crecimiento (IPV) en el grupo BA durante las 8 primeras semanas del segundo periodo.



Esta evolución concuerda con lo observado por otros autores. Así, por ejemplo, Tayer y Bryant (1988) observaron, en un experimento realizado con corderos que eran suplementados con harina de pescado, desde los 30 hasta los 40 kg de peso, un incremento transitorio en la ganancia diaria de peso.

Conclusiones similares fueron obtenidas por Hassan y Bryant (1986), utilizando el mismo suplemento proteico y el mismo rango de peso. Estos autores relacionaron el rápido aumento de la ganancia de peso, tras la suplementación con harina de pescado, con un aumento del contenido digestivo.

A este respecto, cabe señalar que, tal como se discutió anteriormente, la ingestión del grupo BA, expresada por kg de peso metabólico, aumentó en el segundo periodo respecto al primero. En consecuencia, es posible que se haya producido un aumento en el contenido digestivo.

No obstante, no se pueden descartar otros factores. Así, algunos autores sugieren que los cambios que tienen lugar en el ritmo de crecimiento, tras un aumento en el contenido de proteína de la ración, podrían estar relacionados con variaciones en la eficiencia de utilización de la energía metabolizable para el crecimiento (Ørskov *et al.*, 1976; Tayer y Bryant, 1988; Urbaniak, 1995b).

### **6.1.3. Concentración plasmática de hormonas**

#### **6.1.3.1 Hormona Lh**

En el presente ensayo no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) en la concentración plasmática de Lh atribuibles al pienso consumido por los animales en el primer y tercer periodo, aunque si se observaron en el segundo periodo.

Algunos autores, en ensayos realizados con machos adultos, han encontrado un incremento en la concentración plasmática de Lh en respuesta a la suplementación proteica (Sutherland y Martin, 1980; Pomares *et al.*, 1991; Martin *et al.*, 1994b). Sin embargo, otros estudios, realizados con corderos en desarrollo, no han podido constatar este efecto (Brown, 1993; Adam y Findlay, 1997).

Esta controversia, y también el efecto variable observado en el presente estudio, podría ser consecuencia de diferencias en las condiciones experimentales y en la metodología empleada en los distintos ensayos realizados.

En este sentido, se ha apuntado que el efecto del aporte de proteína sobre la secreción de Lh podría variar con la edad de los animales (Adam y Findlay, 1997). Según Courot *et al.* (1975) la secreción de Lh sólo es sensible a otros factores, distintos de la edad, después de sobrepasar los 3 meses de edad, una vez que se haya alcanzado la máxima concentración en plasma (pico neonatal).

Este hecho, en parte, podría explicar por qué, en el presente trabajo, se encontraron diferencias en el segundo periodo, pero no en el primero. Aunque no explicaría por qué no se encontraron diferencias en el tercer periodo.

A nuestro juicio la ausencia de diferencias significativas en el tercer periodo, con respecto al segundo, obedece, entre otras razones, al tipo de análisis estadístico realizado y a la elevada variación individual ( $CV = 44 \pm 7,4 \%$ ), ya que en el segundo periodo se dispone de varias medidas que permiten reducir la variación residual.

Otro aspecto que se debe considerar, es un posible efecto transitorio de la proteína y que, en el presente estudio, podría explicar las diferencias observadas entre grupos en la evolución de la concentración plasmática de Lh a lo largo del ensayo.

Diferentes autores han señalado que la concentración plasmática de Lh aumenta progresivamente desde el nacimiento hasta alcanzar un valor máximo, que,

generalmente, se alcanza cuando los corderos tienen entre 8 y 12 semanas de vida. Posteriormente, la concentración decrece hasta situarse en valores próximos a los observados en moruecos adultos (Courot *et al.*, 1975; Cotta *et al.*, 1975; Lee *et al.*, 1976; Wilson y Lapwood, 1979).

En los grupos experimentales AA, AB y BB se observó una evolución similar a la descrita. La máxima concentración se registró en el segundo muestreo, que corresponde aproximadamente a una edad de 11 semanas ( $80 \pm 1,1$  días). A partir de ese punto, se observa una clara tendencia a disminuir. De hecho, si se realiza una ecuación de regresión lineal para cada grupo, que relacione la concentración plasmática, como variable dependiente, y la edad, como variable independiente, se puede observar que las pendientes son diferentes de cero y de signo negativo en todos los grupos ( $b = -0,009 \pm 0,0035$ ,  $P < 0,06$  para el grupo BB;  $-0,014 \pm 0,0050$ ,  $P < 0,06$ , para el grupo AB;  $-0,008 \pm 0,0026$ ,  $P < 0,05$  para el grupo AA).

La edad a la que se alcanza la máxima concentración de Lh en plasma varía con la raza (Cotta *et al.*, 1975; Wilson y Lapwood, 1979; Lafortune *et al.*, 1982), pero, en todas ellas, suele coincidir con la fase de crecimiento rápido de los testículos (Courot *et al.*, 1975; Foster y Olster, 1985).

En el presente ensayo, a esa edad, según el modelo logístico empleado para describir el crecimiento de los testículos, estos órganos se encontraban en la etapa de crecimiento rápido. De acuerdo con dicho modelo, el punto de inflexión es el punto de máxima velocidad de crecimiento, considerando la circunferencia escrotal como

parámetro de referencia, y en ese punto la edad media de los corderos fue de  $88 \pm 3,6$  días.

La elevación neonatal de la concentración sanguínea de Lh se ha relacionado con el incremento paralelo que se produce en el contenido de dicha hormona en la hipófisis, que, a su vez, podría ser responsable del aumento en la frecuencia y en la amplitud de los pulsos de secreción de la hormona (Skinner *et al.*, 1968; Courot *et al.*, 1975; Wilson y Lapwood, 1979; Levasseur y Thibault, 1984; Hochereau-de Reviers *et al.*, 1984).

El descenso de la concentración sanguínea de Lh probablemente esté asociado con el aumento plasmático de la testosterona, que ejercería un efecto de retroalimentación negativo sobre aquélla (Lee *et al.*, 1976; Wilson y Lawood, 1979; Levasseur y Thibault, 1984). En este sentido, cabe mencionar que, en el presente ensayo, el aumento del nivel plasmático de testosterona coincidió en el tiempo con el descenso de la concentración de Lh.

No obstante, la alimentación también puede influir en esta evolución. Tal y como se señaló previamente, la ingestión de proteína podría producir cambios transitorios en la concentración plasmática de Lh (Martin *et al.*, 1994b).

Esta circunstancia, podría explicar la diferente evolución que presentó el grupo BA, en el cual se observó un segundo pico tras el cambio de dieta. Tras este pico, la concentración también disminuyó de forma continua ( $b = -0,025 \pm 0,0059$ ,  $P < 0,05$ ), lo que apoya la idea, apuntada anteriormente, de un efecto transitorio del consumo de proteína.

### 6.1.3.2 Hormona Fsh

Según se recoge en la literatura, la concentración sanguínea de Fsh aumenta en los corderos desde el nacimiento hasta alcanzar un valor máximo, aproximadamente entre la quinta y décima semana de vida. A partir de ese momento, la concentración disminuye de forma continua hasta alcanzar los valores normales de los animales adultos (Lee *et al.*, 1976; Lafortune *et al.*, 1982; Hochereau-de Reviers *et al.*, 1984).

No obstante, la raza influye de forma importante en la edad a la que se alcanza la máxima concentración de esta hormona, de manera que, dependiendo de la raza, ésta se puede alcanzar antes o después dentro del intervalo de edad anteriormente señalado. Además, en animales adultos también se producen oscilaciones, en la concentración plasmática de esta hormona, relacionadas con el fotoperiodo (Sanford *et al.*, 1977; Lincoln *et al.*, 1990).

La disminución de la concentración plasmática de Fsh parece ser consecuencia del desarrollo de los túbulos seminíferos, cuyas células sintetizan factores inhibidores de la secreción de dicha hormona (Lee *et al.*, 1976).

En el presente trabajo la evolución de la concentración plasmática de Fsh fue distinta a la descrita. Esta discrepancia podría ser debida a la edad de los animales utilizados en el ensayo experimental. Así, la primera determinación de Fsh se realizó cuando los animales tenían aproximadamente 45 días de edad y es posible que se hubiera superado el denominado “pico” neonatal, de forma que éste no pudo ser detectado.

La elevada concentración plasmática que se registró a la edad de 165 días (semana 17 del ensayo) podría estar relacionada con el efecto del fotoperiodo sobre la secreción de las gonadotropinas.

Dado que los cambios prepuberales y puberales en la secreción de Fsh se inician y se completan antes en el tiempo, en comparación con la Lh, es posible que la secreción de Fsh también responda antes a los cambios en el fotoperiodo (Sanford *et al.*, 1982).

La semana 17 del ensayo coincidió, en el tiempo, con el mes de septiembre. En este sentido, en los animales adultos se ha podido comprobar que las mayores concentraciones plasmáticas de Fsh se encuentran a finales del verano y principios del otoño (Sanford *et al.*, 1977; Lincoln *et al.*, 1990).

En lo que respecta al efecto de la alimentación sobre la concentración plasmática de Fsh, tanto en moruecos como en corderos, se ha observado que la suplementación proteica causa un aumento de la concentración plasmática de Fsh (Martin *et al.*, 1987; Brown, 1993; Tjondronegoro *et al.*, 1990).

Sin embargo, el incremento se produce a los pocos días de iniciar la suplementación y, al igual que sucede con la Lh, este aumento es temporal y desaparece en un breve espacio de tiempo. En general, la concentración plasmática vuelve a la normalidad después de dos semanas (Martin *et al.*, 1994b; Brown, 1993; Tjondronegoro *et al.*, 1990).

En el presente estudio no se observaron variaciones en la concentración plasmática de Fsh como consecuencia del tipo de pienso que consumieron los corderos.

No se puede descartar, sin embargo, la posibilidad de que se hubieran producido variaciones y que no se hubieran registrado, ya que la frecuencia de toma de sangre, que se realizó en este experimento, fue mensual y lo podría haber impedido.

### **6.1.3.3 Testosterona**

Contrariamente a lo observado por otros autores (Martin *et al.*, 1987, 1994b; Adam y Findlay, 1997), en el presente ensayo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la concentración plasmática de testosterona atribuibles a los tratamientos experimentales estudiados.

Dada la relación entre el tamaño testicular y la secreción de esta hormona señalada por diferentes autores (Cotta *et al.*, 1975; Wilson y Lapwood, 1979; Sharpe, 1984; Pomares *et al.*, 1991), cabría esperar, *a priori*, diferencias entre grupos en el primer periodo, puesto que los testículos de los animales que consumieron el pienso A experimentaron un mayor crecimiento en este periodo. De hecho, aunque las diferencias no fueron significativamente diferentes, la concentración de testosterona en los animales que consumieron el pienso B fue, por término medio, alrededor de un 50% inferior.

Cabe señalar, sin embargo, que en el presente experimento, las diferencias en la circunferencia escrotal o el volumen testicular sólo permiten explicar el 19% y 29%, respectivamente, de la variación observada en la concentración de testosterona en la semana 9 del ensayo.

La ingestión de proteína, además de influir en el tamaño de los testículos, puede también estimular la actividad secretora de las células de Leydig y, por consiguiente, la secreción de testosterona. Este efecto parece estar mediado por la acción de la Lh, cuya concentración aumenta, de forma transitoria, al aumentar la ingestión de proteína (Sharpe, 1984; Martin *et al.*, 1987, 1994b; Adam y Findlay, 1997).

Así pues, la ausencia de diferencias significativas en la concentración plasmática de testosterona pudo ser debida a que no hubo realmente un efecto atribuible a la dieta o bien a que el muestreo realizado no permitió detectar las posibles variaciones.

Por otra parte, independientemente de la alimentación, la concentración de testosterona varió con el tiempo.

En general, la concentración plasmática de testosterona aumenta de forma continua en el periodo prepuberal, alcanzando un valor máximo entre los 5 y los 7 meses de edad, dependiendo de la raza. Posteriormente, la concentración plasmática se mantiene, con pequeñas oscilaciones (Schanbacher *et al.*, 1974; Courot *et al.*, 1975; Cotta *et al.*, 1975; Lee *et al.*, 1976; Wilson y Lapwood, 1979; Noakes, 1988).

En el periodo de tiempo que comprende la toma de muestras en el presente experimento, que se extiende desde, aproximadamente, los dos hasta los siete meses de edad, la evolución de la testosterona coincidió, en líneas generales, con la descrita por esos autores. Así, la concentración aumentó de forma continua desde el inicio del ensayo hasta la finalización del mismo. No obstante, la evolución varió mucho entre animales y, a partir de los resultados obtenidos, no se puede concluir que se haya alcanzado la máxima concentración.

El aumento en la concentración plasmática de testosterona entre el nacimiento y los 70-80 días de vida de los animales es debido a la estimulación de las células de Leydig del testículo por la cantidad creciente de Lh (Cotta *et al.*, 1975; Courot *et al.*, 1975; Wilson y Lapwood, 1979). A partir de esa edad, los niveles de Lh tienden a disminuir y, sin embargo, los niveles de testosterona siguen aumentando. Este incremento está asociado con el crecimiento de los testículos, que implica un aumento en el número de células de Leydig (Cotta *et al.*, 1975; Wilson y Lapwood, 1979).

En este sentido, es oportuno comentar que en la semana 9 del ensayo se observó una relación significativa ( $P < 0,05$ ) entre la concentración plasmática de testosterona y los parámetros indicativos del tamaño testicular, es decir, la circunferencia escrotal ( $r = 0,44$ ;  $n = 18$ ) y el volumen testicular ( $r = 0,54$ ;  $n = 18$ ).

No obstante, tal y como se señaló anteriormente, tanto la circunferencia escrotal como el volumen testicular, en esa semana del ensayo, permiten explicar menos del 30% de la variación observada en la concentración de plasmática de testosterona.

Además, la concentración de esta hormona, desde ese momento, sigue aumentando de forma exponencial, pero el crecimiento de los testículos se ralentiza, ya que entran en la fase de crecimiento lento. En consecuencia, la relación entre el tamaño de los testículos y la concentración de testosterona se hace más débil a medida que transcurre el tiempo.

Por tanto, resulta obvio que la circunferencia escrotal o el volumen testicular no reflejan adecuadamente los cambios en la concentración de testosterona debidos al

tamaño de los testículos o bien se producen modificaciones en la composición y actividad de estos órganos que no guardan una relación lineal con su tamaño.

#### **6.1.4. Crecimiento testicular**

Algunos trabajos realizados sobre el desarrollo testicular describen el crecimiento de los testículos utilizando modelos de regresión lineales (Courot, 1962; Bénévent, 1971; Colyer, 1971).

Estos trabajos, no obstante, efectúan el estudio desde el nacimiento hasta aproximadamente los 5 meses de edad. De esta manera únicamente están considerando las dos fases iniciales del crecimiento de los testículos y emplean dos rectas de regresión con diferente pendiente: una para la fase de crecimiento lento y otra para la fase de crecimiento rápido.

Sin embargo, si se considera todo el periodo de crecimiento, éste describe una evolución sigmoide (Watson *et al.*, 1956; Schanbacher *et al.*, 1974). Por esta razón, en el presente ensayo, se ajustaron los datos del crecimiento testicular de acuerdo con el modelo logístico, que ha sido utilizado para describir procesos biológicos de muy diferente naturaleza, incluido el crecimiento de los testículos (France y Thornley, 1984; Notter *et al.*, 1985).

Los resultados obtenidos en el presente ensayo ponen de manifiesto que, en los corderos de raza Assaf, el crecimiento de los testículos, medido a través de la circunferencia escrotal o del volumen testicular, sigue también una evolución sigmoide. Además, permiten confirmar que el modelo logístico es un modelo adecuado para

describir este proceso biológico y analizar, tal y como se demostrará posteriormente, el efecto de posibles fuentes de variación sobre los diferentes parámetros que definen este crecimiento.

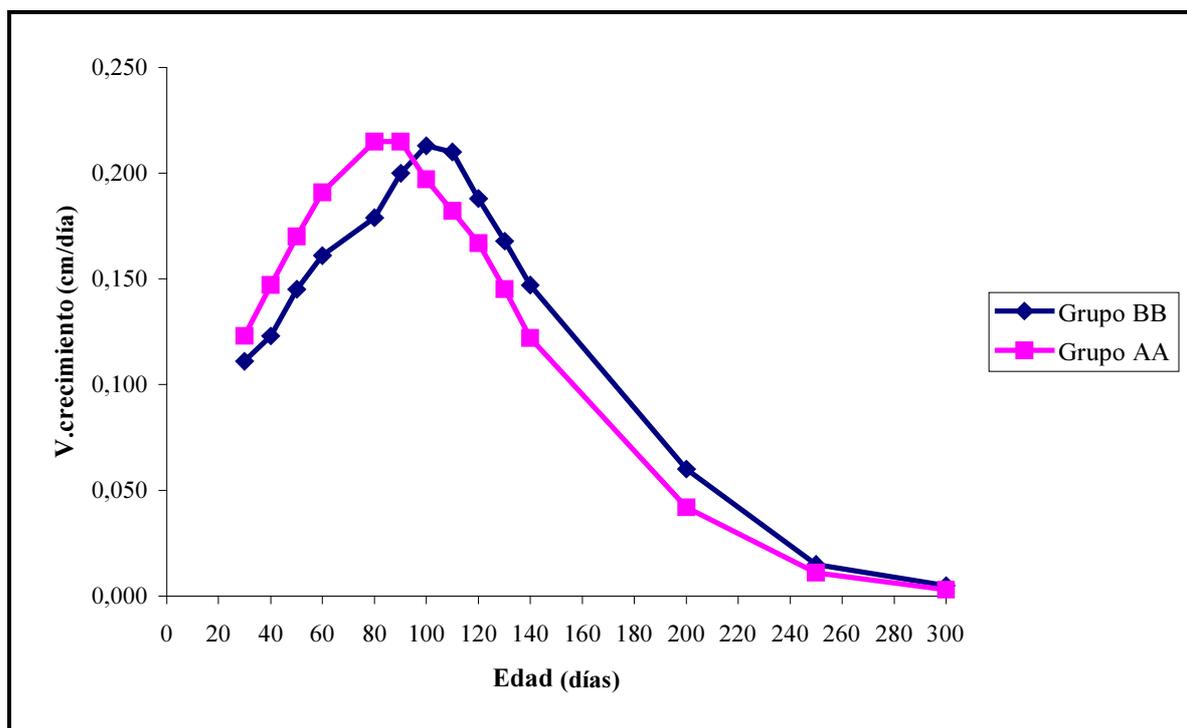
Cuando se analizan conjuntamente los datos del tamaño testicular correspondientes al primer y segundo periodo, se puede observar que el efecto del tipo de pienso encontrado en el primer periodo desaparece en el segundo periodo. Así, durante el primer periodo, los testículos de los animales que recibieron el pienso A crecieron más rápido que los testículos de los animales que recibieron el pienso B. Sin embargo, no se encontraron diferencias entre grupos experimentales ni en el tamaño alcanzado por los testículos al finalizar el segundo periodo ni en el tamaño final estimado con el modelo logístico.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Brown (1993) en un ensayo realizado con corderos, diseñado para estudiar el efecto de la ingestión de proteína desde el destete hasta la pubertad, y en el que observó que, en el momento de la pubertad, los corderos que recibieron un mayor aporte de este nutriente tenían unos testículos de mayor tamaño. Esta diferencia, sin embargo, desapareció cuando los animales alcanzaron los 14 meses de edad.

En esta misma línea, Abi Saab *et al.* (1997), en la especie caprina, comprobaron que el aporte proteico desde el día 28 de vida y hasta los 4 meses de edad influye de forma positiva en el volumen testicular, manteniéndose este efecto hasta los 7 meses de edad.

Cuando se compara la evolución de la velocidad de crecimiento de la circunferencia escrotal en los animales que recibieron el pienso A y el B, durante todo el ensayo (ver figura XXIII), se puede comprobar, por una parte, que la velocidad en el punto de inflexión es similar para ambos grupos ( $0,218 \pm 0,0150$  vs  $0,214 \pm 0,0181$  cm/día). Por otra parte, que, hasta que se alcanza el punto de inflexión, el incremento en la velocidad de crecimiento a medida que aumenta la edad es muy similar en ambos grupos, pero la velocidad de inicio es mayor en los animales que recibieron el pienso A. Como consecuencia, la edad a la que alcanzan el punto de inflexión es mayor en los animales que recibieron el pienso B ( $94 \pm 4,7$  vs  $83 \pm 2,5$  días).

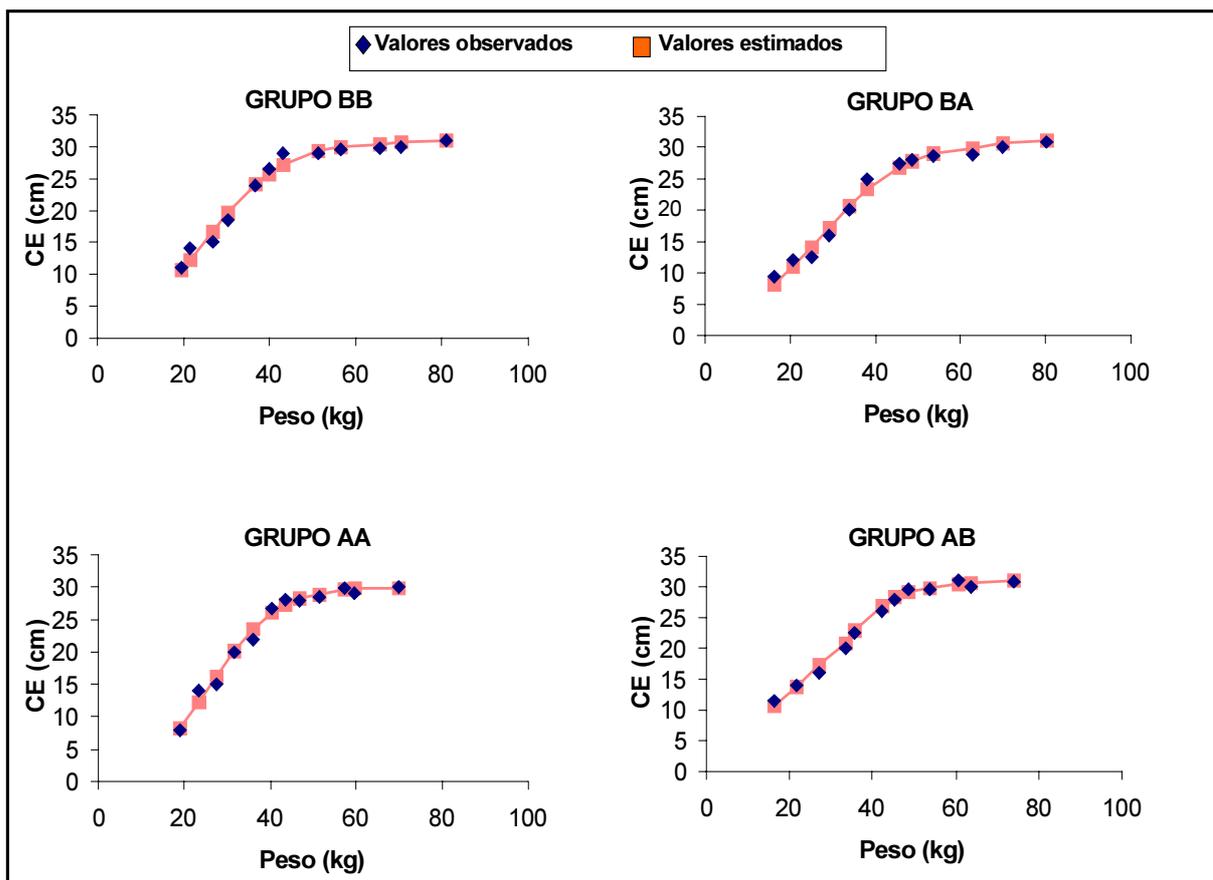
**Figura XXIII.** Evolución de la velocidad de crecimiento de la circunferencia escrotal en los grupos BB y AA.



Esta diferente evolución permite explicar por qué se observaron diferencias entre grupos en el tamaño testicular al final del primer periodo, pero no al final del segundo, ya que a partir del punto de inflexión las diferencias, tanto en la circunferencia escrotal como en el volumen testicular, comienzan a reducirse.

Por otra parte, las diferencias entre grupos experimentales en el patrón de crecimiento de los testículos probablemente estén relacionadas con la ganancia de peso de los animales.

**Figura XXIV.** Relación entre el peso vivo y la circunferencia escrotal en cada uno de los grupos experimentales (datos correspondientes a un animal de cada grupo experimental).



De hecho, la relación entre la circunferencia escrotal y el peso vivo también siguió una evolución sigmoide (ver figura XXIV) y el peso al que se alcanzó el punto de inflexión fue muy similar en todos los grupos:  $24,1 \pm 0,83$ ;  $25,1 \pm 1,6$ ;  $24,1 \pm 1,7$  y  $24,9 \pm 0,74$  kg para los grupos BB, BA, AA y AB, respectivamente. Estos resultados sugieren que el crecimiento de los testículos está más relacionado con el peso vivo que con la edad, tal y como han señalado otros autores (Alberio y Colas, 1976; Belloc *et al.*, 1977).

#### **6.1.5. Calidad del semen**

Las características del semen están muy relacionadas con el tamaño de los testículos y con el estatus hormonal de los animales (Sanford *et al.*, 1977; Colas, 1981; Pomares *et al.*, 1991; Abi Saab *et al.*, 1997; Gordon, 1997).

En este sentido, numerosos estudios realizados en la especie ovina han puesto de manifiesto una relación positiva entre el tamaño de los testículos y la producción de espermatozoides, así como entre el tamaño de los testículos y las reservas de espermatozoides en el epidídimo (Lino *et al.*, 1972; Smith *et al.*, 1981; Cameron *et al.*, 1984; Chemineau, 1986; Huang y Johson, 1996; Gordon, 1997; Solomon y Thwaites, 1997).

Asimismo, diferentes autores han observado que las variaciones en la calidad del semen, causadas por el fotoperiodo, la alimentación u otros factores, suelen ir unidas a variaciones en la concentración plasmática de Lh, Fsh o testosterona (Oldham *et al.*, 1978; Colas, 1980; Alkass y Bryant, 1982; Gordon, 1997; Hötzel *et al.*, 1998).

Como ya se ha discutido previamente, en el presente ensayo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) entre grupos experimentales, ni en el tamaño de los testículos ni en la concentración plasmática de las hormonas sexuales, en el momento de la realización de la colección de semen. En consecuencia, puede considerarse lógico que tampoco se hayan observado diferencias entre grupos en las características del semen estudiadas.

Asimismo, es interesante destacar que, aunque hubo una variación individual importante en el tamaño de los testículos (26 y 32 cm de CE de valor mínimo y máximo, respectivamente), no se observó ninguna relación entre este parámetro y las características del semen, cuando se consideraron todos los animales conjuntamente.

Por otra parte, como cabría esperar, los valores observados fueron inferiores a los registrados en la prueba 2 y a los referidos en la literatura para animales adultos (Álvarez *et al.*, 1999). Se sabe que la edad de los animales influye en la calidad del semen. En este sentido, se sabe que los primeros eyaculados tras alcanzar la pubertad son de mala calidad y de escaso poder fecundante (Cameron *et al.*, 1984; Ketut Sutarna y Edey, 1985).

Algunos autores atribuyen la mala calidad del semen, observada en los machos jóvenes, a la falta de desarrollo del aparato genital, particularmente de los testículos y del epidídimo, lo que determinaría una incompleta espermatogénesis y maduración epididimaria de los espermatozoides (Colas, 1983; Cameron y Farnie, 1984). Cuando el epidídimo no ha finalizado su desarrollo, su longitud es pequeña, con respecto a la de los moruecos adultos, y el tiempo de tránsito de los espermatozoides a través de él se ve

disminuido, impidiendo que se complete el proceso de maduración de los mismos (Greig, 1991).

A este respecto, cabe destacar que el tamaño de los testículos de los corderos utilizados en la prueba 1, en el momento de la valoración del semen, fue menor que el tamaño de estos órganos en los sementales adultos empleados en la prueba 2 ( $30 \pm 0,4$  vs  $36 \pm 0,3$  cm).

Estos datos confirman que los testículos de los moruecos utilizados en la prueba 1 no habían completado su desarrollo en el transcurso de la prueba experimental, lo que concuerda con los datos de valoración seminal.

No se conoce con exactitud el tiempo mínimo que debe transcurrir desde que los animales alcanzan la pubertad hasta que las características de sus eyaculados coinciden con las observadas en los sementales adultos. Además, dicho tiempo parece variar con la raza.

A este respecto, Colas y Zinszner-pfimlin (1975) recomiendan que los machos de raza Ile-de-France no sean empleados como sementales hasta que tengan una edad mínima de nueve meses y medio, mientras que los de la raza Prealpes pueden ser utilizados con una edad inferior, aproximadamente de siete meses.

En el presente ensayo, los corderos utilizados en la prueba tenían una edad media de  $222 \pm 1,2$  días, cuando se realizó la valoración de la calidad del semen. No obstante, considerando que la raza Ile-de-France es más precoz que la raza Assaf, una hipótesis posible, para esta última raza, sería considerar que la edad mínima, para que el semen

presente una calidad similar a la de los moruecos utilizados en la prueba 2, es superior a los nueve meses. No obstante, esta edad podría depender de la época de nacimiento, ya que los testículos presentan ciclos de crecimiento y decrecimiento, dependientes del fotoperiodo, a los que, posiblemente, no son ajenos los testículos de los animales en crecimiento que no han completado su desarrollo.

## **6.2. Prueba 2**

### **6.2.1. Variaciones de peso vivo**

Como se señaló en el capítulo de resultados, los animales de los tres grupos experimentales aumentaron de peso en el transcurso del ensayo. Este incremento de peso, probablemente, se deba, al menos en parte, a un aumento del tejido adiposo, ya que, en el presente ensayo, todos los animales recibieron un aporte de energía superior a las necesidades de mantenimiento, estimadas de acuerdo con el sistema británico de alimentación (ARC, 1980).

No obstante, la magnitud del incremento varió entre grupos experimentales. Así, el incremento de peso fue mayor cuanto mayor fue el consumo de proteína.

Esta circunstancia, unida al hecho de que el consumo de energía fue similar en los tres grupos experimentales, sugiere que las diferencias, entre grupos, en el incremento de peso están relacionadas con diferencias en la retención de proteína.

La capacidad de retención de proteína disminuye tanto en las etapas finales del crecimiento como en los animales adultos, en comparación con la deposición de grasa (Castrillo, 1975; Frutos, 1993; Ingvarsen, 1994).

No obstante, los animales adultos pueden presentar fluctuaciones en el peso corporal, que no sólo comprometen a las reservas de grasa sino también de proteína.

Así, cuando el aporte de proteína es insuficiente para satisfacer las necesidades de mantenimiento del animal se produce un reajuste del metabolismo proteico, cuya finalidad es reducir las necesidades de mantenimiento y la pérdida de proteína (Koenig *et al.*, 1980; Burrin *et al.*, 1990; Lobley *et al.*, 1994). Por el contrario, después de un periodo de restricción y cuando el aporte de proteína es suficiente, el animal puede recuperar sus reservas (Munro, 1964; Chen y Ørskov, 1994; Nozière *et al.*, 1999).

De igual modo, una restricción en el aporte de energía también puede modificar la tasa de síntesis de proteína, ya que ésta conlleva un elevado gasto energético y, en condiciones desfavorables, el organismo trata de adaptarse, disminuyendo el gasto energético (Koenig *et al.*, 1980; Rompala y Hoagland, 1987; Neutze *et al.*, 1997). Además, en una primera etapa, también se produce un aumento en la tasa de degradación, motivado por la necesidad de aminoácidos glucogénicos (Munro, 1964; Koenig, 1980; Burrin *et al.*, 1990; Chen y Ørskov, 1994). En animales en crecimiento también se ha podido constatar la utilización de las reservas corporales de grasa para mantener la síntesis proteica (Chowdhury *et al.*, 1991; Giráldez *et al.*, 1999).

Todos estos cambios metabólicos implican una pérdida o ganancia de peso que, en lo referente a la proteína, se localiza, básicamente, en el músculo esquelético y en las vísceras del área esplácnica (Rompala y Hoagland, 1987; Burrin *et al.*, 1990).

En este sentido, diferentes trabajos señalan que el músculo esquelético, el hígado, el intestino delgado y el rumen pueden experimentar variaciones en su peso, fundamentalmente de la masa proteica, como respuesta a variaciones en el plano de alimentación (Rompala y Hoagland, 1987; Burrin *et al.*, 1992; Lobley *et al.*, 1994;

Nozière *et al.*, 1999). Estos cambios, por otra parte, parecen estar más relacionados con alteraciones de la tasa de degradación que con la tasa de síntesis de proteína (Burrin *et al.*, 1992; Nozière *et al.*, 1999). Obviamente, cabe esperar que la capacidad de aumento de la masa de proteína de estos órganos y tejidos sea limitada y que el tiempo necesario para alcanzar ese límite dependa, entre otros factores, del grado de deplección de las reservas al inicio del periodo de realimentación y del nivel de ingestión durante este periodo.

No se dispone de información específica sobre el estado de las reservas de proteína de los animales al inicio del ensayo y, por tanto, únicamente pueden realizarse especulaciones al respecto.

En este sentido, la condición corporal de los animales, al inicio del ensayo, osciló entre 2,5 y 3,25 puntos, lo que, inicialmente, sugiere que no habían alcanzado el máximo potencial de reservas corporales.

No obstante, la nota de condición corporal hace referencia, fundamentalmente, al estado de las reservas de grasa subcutánea, por lo que extraer conclusiones sobre la situación de las reservas de proteína puede conducir a error.

Por otra parte, en la raza Assaf, la grasa se acumula, básicamente, en los depósitos internos y también, de forma importante, en la cola por lo que la nota de condición corporal, determinada mediante palpación de la zona lumbar, no es un buen indicador de la movilización de las reservas de grasa (Datos propios, sin publicar).

### 6.2.2. Perfil hormonal

Actualmente existe cierta controversia en relación con el efecto del aporte de proteína sobre la concentración plasmática de las hormonas implicadas en la actividad sexual.

Hasta hace relativamente poco tiempo, se aceptaba que el aporte de proteína podía influir en la concentración plasmática de las hormonas gonadotrópicas y de testosterona (Sutherland y Martin, 1980; Tjondronegoro, 1990; Pomares *et al.*, 1991; Martin *et al.*, 1989, 1994b).

Sin embargo, gran parte de los ensayos utilizados para confirmar esta hipótesis presentan un diseño experimental inadecuado para estudiar el efecto específico del aporte de proteína, ya que en los mismos es difícil separar el efecto debido a la ingestión de proteína y de energía (Rowe y Murray, 1984; Murray *et al.*, 1990; Boukhliq *et al.*, 1997). Así, en diferentes ensayos se extrajeron conclusiones sobre el aporte de proteína basándose en la suplementación con materias primas, como los altramuces, que, obviamente, no sólo aportan proteína (Pomares *et al.*, 1991; Martin *et al.*, 1987, 1989, 1994b).

Por otra parte, en los rumiantes, variaciones en el aporte de energía, excepto en diseños experimentales muy minuciosos, pueden provocar cambios en la utilización de la proteína, ya que la síntesis de proteína microbiana es un proceso dependiente del aporte de energía (Chen y Ørskov, 1994).

Además, ensayos recientes realizados en la Universidad de Western -Australia- (Boukhliq *et al.*, 1997) han puesto de manifiesto que la relación de estos nutrientes, es decir, energía y proteína, con la función reproductora en los machos se rige por mecanismos biológicos diferentes.

Así, mediante la infusión de caseína en el abomaso de moruecos adultos, se ha comprobado que la concentración plasmática de Lh, Fsh y testosterona es insensible a los cambios en el aporte de proteína, por encima de las necesidades de mantenimiento.

Por el contrario, se ha observado que la infusión de ácidos grasos volátiles en el rumen, o lo que es lo mismo, la suplementación energética, sí influye positivamente en la concentración plasmática de las citadas hormonas.

Estos hallazgos son análogos a los encontrados en el presente ensayo, en el cual no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) entre grupos experimentales ni en la concentración plasmática de Fsh, ni de testosterona.

Inicialmente se podía pensar que la concentración plasmática de Lh del grupo Medio, con relación a los otros dos grupos, refleja una relación parabólica entre la concentración de esta hormona y el aporte de proteína, que contradice lo anteriormente expuesto.

No obstante, a este respecto es obligado señalar que la concentración de Lh del grupo Medio fue mayor que la de los otros grupos desde el inicio del ensayo, por lo que este efecto no puede atribuirse a los tratamientos experimentales estudiados. De hecho, si se incorpora la concentración plasmática correspondiente a la primera semana como

covariable en el análisis de varianza, el efecto de la dieta deja de ser significativo ( $P > 0,15$ ).

Por otra parte, independientemente del efecto de la alimentación, la concentración plasmática de Fsh y de testosterona cambiaron con el tiempo.

Este efecto probablemente está relacionado con la época del año en la que se realizó el experimento. Es un hecho bien conocido que los moruecos presentan variaciones estacionales en su actividad endocrina, las cuales se relacionan con las variaciones observadas en el tamaño testicular, la actividad sexual y la calidad del semen (Sandford *et al.*, 1977; Lindsay *et al.*, 1984; Sharpe, 1984; Pelletier y Almeida, 1987; Borque y Sagües, 1993).

En el presente estudio se encontró un efecto del periodo en el crecimiento de los testículos que también podría estar asociado con los cambios endocrinos estacionales. Aunque existe una gran variabilidad entre razas en la evolución de la concentración en sangre periférica de la hormona Fsh a lo largo del año, en términos generales, la concentración plasmática de esta hormona alcanza su máximo valor en los meses de agosto y septiembre. A partir de ese momento, comienza a descender hasta alcanzar un valor mínimo entre finales de invierno y principios de primavera (Sanford *et al.*, 1977; Lincoln *et al.*, 1990).

Según Karsch *et al.* (1980), las variaciones en el fotoperiodo podrían modificar la sensibilidad del hipotálamo a la acción de los esteroides y, por tanto, reducir la eficacia del mecanismo de retroalimentación negativo que regula la secreción de estas hormonas. De esta forma, al disminuir el número de horas de luz aumentaría la

secreción de gonadotropinas porque disminuye la sensibilidad del hipotálamo a la acción de la testosterona.

De acuerdo con lo expuesto, como en el presente estudio el periodo experimental comenzó en el mes de septiembre, sería lógico pensar que, en ese momento, la concentración en plasma de Fsh se encontraría próxima a su máximo valor. En consecuencia, en el ensayo sólo se pudo detectar el descenso en la concentración a partir ese valor máximo.

En relación con la testosterona, la evolución que experimentó la concentración en sangre periférica coincide con la descrita en otras razas (Purvis *et al.*, 1974; Lincoln, 1976; Sanford *et al.*, 1977; Lincoln *et al.*, 1990), ya que aumentó desde el inicio del periodo experimental (mes de septiembre) hasta alcanzar un valor máximo en el mes de octubre, que se mantuvo hasta el final del experimento (principios del mes de noviembre).

El incremento en la concentración sanguínea de testosterona en los meses con fotoperiodo negativo podría ser consecuencia de un aumento en la frecuencia de los pulsos de secreción de la hormona Lh y, también, de una mayor sensibilidad de las células de Leydig de los testículos a esta hormona, lo que estimularía la actividad de síntesis de testosterona en dichos órganos (Sanford *et al.*, 1977).

En el presente ensayo, no se encontraron variaciones en la concentración plasmática de Lh debidas al periodo. En consecuencia, es posible que el incremento de la concentración plasmática de testosterona fuera debido, básicamente, a un aumento en la sensibilidad de las células de Leydig de los testículos a la acción de la Lh.

### 6.2.3. Tamaño testicular

Existen múltiples evidencias sobre el efecto de la alimentación en el tamaño de los testículos (Oldham *et al.*, 1978; Shuterlan y Martin, 1980; Lindsay *et al.*, 1984; Rowe y Murray, 1984; Murray *et al.*, 1990; Tjondronegoro, 1990; Pomares *et al.*, 1991; Martin *et al.*, 1994b; Thwaites, 1994; Höztel *et al.*, 1998).

No obstante, en lo referente a la proteína y cuando el aporte es superior a las necesidades de mantenimiento, los resultados obtenidos hasta la fecha han suscitado cierta controversia, tanto sobre su efecto como sobre su mecanismo de acción (Oldham *et al.*, 1978; Lindsay *et al.*, 1984; Rowe y Murray, 1984; Murray *et al.*, 1990; Martin y Walkden-Brown, 1995).

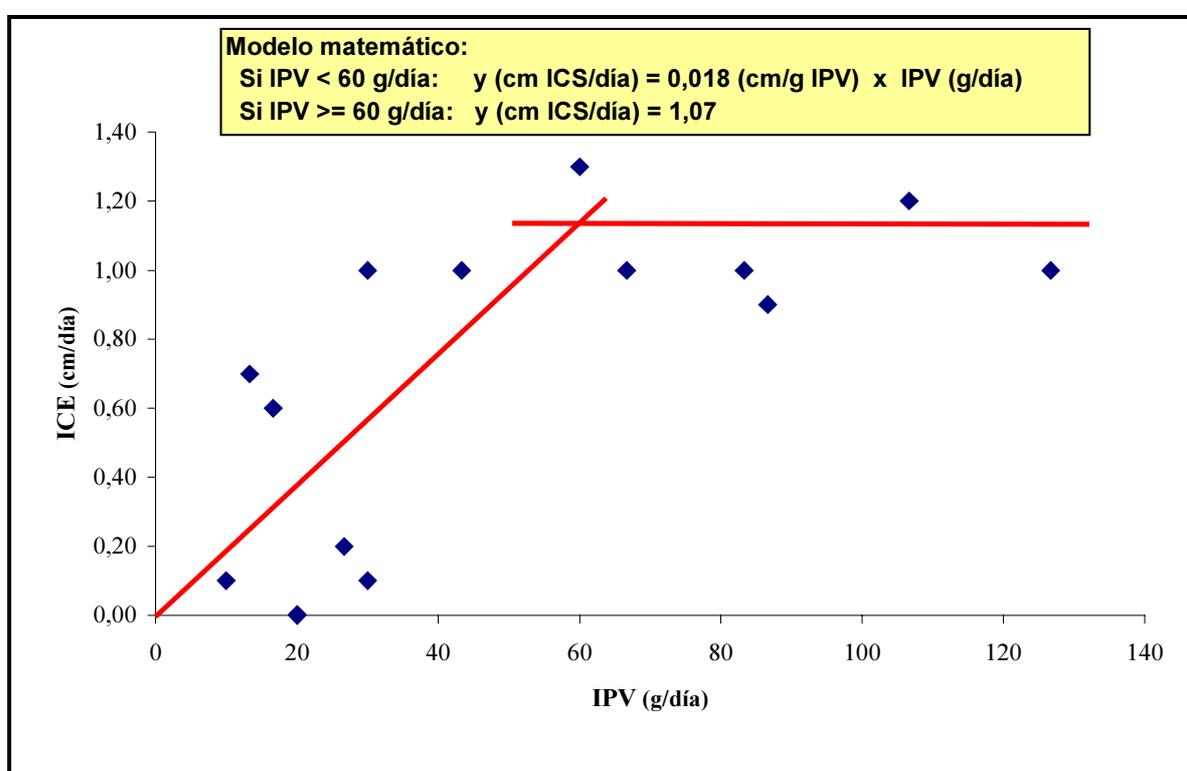
En lo que respecta al efecto, algunos autores han observado que el tamaño de los testículos es sensible a cambios en el aporte de proteína (Oldham *et al.*, 1978; Lindsay *et al.*, 1984), pero otros, por el contrario, no han observado variaciones (Braden *et al.*, 1974; Rowe y Murray, 1984; Murray *et al.*, 1990).

Los resultados obtenidos en el presente ensayo confirman la hipótesis de que el aporte de proteína, en animales adultos, sí influye en el tamaño de los testículos y pueden contribuir a explicar la controversia existente.

Así, en el primer periodo de estudio, se puede observar que el aumento de tamaño de los testículos fue menor en los animales que consumieron la ración con menor contenido de proteína, no encontrándose diferencias entre los otros dos grupos experimentales (Medio y Alto).

Este hecho permite explicar la relación observada entre el incremento de peso vivo y el incremento de tamaño de los testículos encontrada en este periodo (ver gráfica XXV), ya que el incremento de peso fue mayor en los animales pertenecientes al grupo Alto que en los del grupo Medio.

**Figura XXV.** Relación entre el incremento de peso vivo (IPV, g/día) y el incremento de circunferencia escrotal (ICE, cm/día) de los animales durante el primer periodo experimental.



De acuerdo con el modelo segmentado utilizado para describir la relación entre la velocidad de crecimiento de los testículos y la ganancia diaria de peso, la velocidad de crecimiento de los testículos aumenta de forma lineal (0,018 cm/g IPV) al hacerlo la

ganancia diaria de peso, hasta que se alcanza un valor máximo (1,07 cm/día) cuando esta última se sitúa en torno a los 60 g/día.

Una evolución similar fue observada por Rowe y Murray (1984) y por Murray *et al.* (1990) en moruecos de raza merina, los cuales recibían distintos niveles de suplementación proteica. De acuerdo con estos autores, la relación entre el crecimiento de los testículos y la ganancia de peso describe una relación curvilínea, de manera que a partir de valores de ganancias de peso superiores a 200 g/día, el aumento de los testículos permanece relativamente constante (aproximadamente 3,4 cc/g IPV).

Durante el segundo periodo, los animales siguieron aumentando de peso, en diferente magnitud según el grupo experimental. Sin embargo, no se observaron diferencias en el incremento de tamaño testicular que, en cualquier caso, fue muy reducido ( $0,008 \pm 0,0008$  cm/día).

De estos resultados se pueden extraer dos conclusiones, a nuestro juicio, de gran relevancia.

La primera es que existe un valor máximo en la respuesta a la ingestión de proteína, de manera que a partir de un determinado aporte no se mejora la velocidad de crecimiento de los testículos. A partir de nuestros datos, no podemos establecer el nivel óptimo de aporte de proteína, aunque sí podemos afirmar que aportes superiores a 3,9 g de proteína metabolizable/Kg PV<sup>0,75</sup> no mejoran la respuesta y, por tanto, no suponen ningún beneficio desde el punto de vista del crecimiento de los testículos.

La segunda es que a partir de un determinado tamaño el crecimiento de los testículos es escaso y la capacidad de respuesta a cambios en la ingestión de proteína es mínima.

Dependiendo, por tanto, del tamaño de los testículos al inicio del ensayo experimental se podría encontrar o no variación en su tamaño en respuesta a cambios en la ingestión de proteína.

Estos hallazgos sugieren que el efecto de la ingestión de proteína está condicionado por el historial nutritivo previo de los animales y por el propio aporte de proteína. Aspectos, por tanto, que deben considerarse a la hora de plantear estudios sobre la interacción entre nutrición proteica y reproducción y que podrían contribuir, al menos parcialmente, a resolver la controversia anteriormente comentada.

En relación con el mecanismo de acción asociado con la nutrición, en la actualidad se cree que coexisten dos mecanismos diferentes. Por una parte, un mecanismo de tipo hormonal y, por otra, un efecto directo de la nutrición sobre los propios testículos (Martin y Walkden-Brown, 1995).

En lo que respecta al primero de los mecanismos, numerosos trabajos han constatado un incremento en la concentración plasmática de las hormonas gonadotrópicas (Lh y Fsh) cuando los animales son alimentados por encima de sus necesidades de mantenimiento (Martin *et al.*, 1987, 1994b; Tjondronegoro, 1996; Boukliq y Martin, 1997). El aumento de esas hormonas en la sangre periférica incrementaría la cantidad de fluido intersticial en los testículos y estimularía la secreción de testosterona (Sharpe, 1984; Martin *et al.*, 1987). Sin embargo, Höztel *et al.*

(1995) demostraron que la administración de GnRh no es suficiente para reproducir los efectos en el crecimiento testicular causados por la alimentación.

El segundo de los mecanismos consistiría en el aumento de la disponibilidad de nutrientes para el metabolismo de los testículos. Este hecho favorece la división celular en los túbulos seminíferos y también disminuye el número de células que degeneran tras las divisiones meióticas y mitóticas. Como consecuencia, se produce un incremento en el diámetro y la longitud de los mismos, a la vez que aumenta la proporción de masa testicular ocupada por dichos túbulos (Oldham *et al.*, 1978; Pomares *et al.*, 1991).

Las hipótesis que se barajan en la actualidad asocian el mecanismo hormonal con la nutrición energética, limitando el efecto del aporte de proteína a un efecto directo, relacionado con el flujo de nutrientes (Boukhilq y Martin, 1997; Boukhliq *et al.*, 1997).

Estas hipótesis coinciden con los resultados hallados en este experimento, ya que no se observaron diferencias entre grupos en la concentración plasmática de las hormonas sexuales (Lh, Fsh y testosterona), pero sí en el tamaño de los testículos.

Por otra parte, tal y como aparece en la tablas XXXIX y XL, se encontró, en los tres grupos experimentales, un efecto del periodo sobre el tamaño testicular. Así, también en el grupo Bajo, en la quinta semana el tamaño de los testículos fue mayor que al inicio del ensayo, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los valores observados en la 5ª y 9ª semanas.

El efecto de la semana en el crecimiento de los testículos podría estar relacionado con cambios en el fotoperiodo. En este sentido, numerosos estudios han demostrado, en

distintas razas, que la longitud del día influye en los ciclos de crecimiento y decrecimiento testicular y, en términos generales, se puede afirmar que el tamaño de los testículos incrementa en los meses de verano, alcanzando un valor máximo entre los meses de octubre y de noviembre (Land y Sales, 1977; Tulley y Burfening, 1983; Dufour *et al.*, 1984; Lindsay *et al.*, 1984; Pelletier y Almeida, 1987).

Aunque en la literatura no se ha encontrado estudios sobre la evolución, a lo largo del año, del tamaño testicular referidos a la raza Assaf, empleada en nuestro experimento, y existe una amplia variabilidad entre razas, incluso entre individuos (Colas *et al.*, 1986; Tegegne *et al.*, 1994), cabe esperar que el tamaño testicular de la raza Assaf, al igual que sucede con el resto de las razas situadas en nuestras latitudes, esté sometido a variaciones estacionales.

En el presente trabajo, como la primera medición del tamaño de los testículos se efectuó a principios del mes de septiembre y las semanas 5<sup>a</sup> y 9<sup>a</sup> del periodo experimental coincidieron con los meses de octubre y noviembre, respectivamente, es muy probable que el efecto de la semana sobre el tamaño de los testículos fuera consecuencia de las variaciones experimentadas por el fotoperiodo durante el periodo de tiempo considerado.

Por último, es importante señalar que cuando se utiliza el volumen testicular para estimar el tamaño de los testículos, los cambios observados no son tan evidentes como cuando se utiliza la circunferencia escrotal. Esto podría ser debido a que la magnitud de medida que utilizan ambos métodos es muy distinta, de manera que la circunferencia escrotal es capaz de detectar pequeños cambios en el crecimiento de los testículos,

mientras que el volumen testicular necesita que los cambios sean de mayor magnitud para poder registrarlos.

#### **6.2.4. Calidad del semen**

Numerosos estudios han indicado que la espermatogénesis es sensible a los cambios en la alimentación, concretamente al aporte de proteína (Oldham *et al.*, 1978; Cameron *et al.* 1988; Abi Saab *et al.*, 1997; Hötzel *et al.*, 1998).

Los resultados de este experimento confirman el efecto que el aporte de proteína puede ejercer sobre la producción espermática, y, además, permiten progresar en el conocimiento de esta relación, ya que aportan nueva información sobre la interacción entre el nivel de ingestión de proteína y el tiempo y nivel de respuesta.

De acuerdo con la literatura consultada, el tiempo de respuesta como consecuencia de un cambio en el aporte de proteína se puede estimar en alrededor de cuatro semanas (Oldham *et al.*, 1978; Cameron *et al.*, 1988; Brown, 1994). No obstante, no existe información suficiente para elaborar un modelo que describa la relación entre el nivel de ingestión y la respuesta y, por tanto, para establecer el aporte óptimo de proteína y el tiempo de suplementación necesario.

Según los resultados obtenidos en el presente ensayo el tiempo de respuesta puede variar con el parámetro estudiado y el nivel de ingestión de proteína metabolizable. Así, un periodo de 4 semanas fue suficiente para lograr un aumento, respecto a los valores correspondientes al grupo Bajo (3,2 g de proteína metabolizable/kg PV<sup>0,75</sup>), del 89% y del 28% en el volumen de semen eyaculado y en la concentración de espermatozoides

en éste, respectivamente, cuando el aporte de proteína metabolizable fue de 5,2 g/kg PV<sup>0,75</sup> (grupo Alto). Con una ingestión de proteína metabolizable menor (3,9 g/kg PV<sup>0,75</sup>, grupo Medio) también fue suficiente un periodo de 4 semanas para lograr la máxima respuesta en cuanto a volumen de semen eyaculado se refiere. Por el contrario, este periodo de tiempo fue insuficiente para lograr una respuesta en la concentración de espermatozoides.

Como consecuencia de las variaciones en el volumen de semen eyaculado y en la concentración de espermatozoides, tanto después de 4 semanas como de 8 semanas de tiempo, los mayores valores de producción espermática (volumen x concentración) correspondieron a los animales que recibieron el mayor aporte de proteína metabolizable (5,2 g/kg PV<sup>0,75</sup>), ocupando los animales del grupo Medio (3,9 g de proteína metabolizable/kg PV<sup>0,75</sup>) una posición intermedia. No obstante, la diferencia entre estos dos grupos se redujo a medida que transcurrió el tiempo (28 y 10% de diferencia tras 4 y 8 semanas de tiempo, respectivamente), lo cual sugiere que el efecto del nivel de ingestión de proteína metabolizable, por encima de las necesidades de mantenimiento, se refleja más en el tiempo que en el nivel de respuesta.

En relación con el mecanismo de acción, se considera que los cambios en la calidad del semen están asociados, fundamentalmente, con cambios en el tamaño de los testículos, originados por el crecimiento de los túbulos seminíferos (Knight, 1977; Oldham *et al.*, 1978; Knight, 1984; Abi Saab *et al.*, 1997; Solomon y Thwaites, 1997; Höztel *et al.*, 1998).

De acuerdo con nuestros datos, sin embargo, el crecimiento de los testículos por sí solo no permite explicar los cambios en la calidad del semen.

Como cabría esperar, se observó una relación lineal y positiva entre el tamaño de los testículos, medido a partir de la circunferencia escrotal, y la producción espermática. Sin embargo, la circunferencia escrotal sólo permitió explicar el 50% de la variación observada en la producción espermática (ver figura XXVI).

Este, relativamente, bajo coeficiente de determinación puede ser explicado, en parte, porque el crecimiento de los testículos entre el inicio y la semana 5 fue similar en los animales del grupo Medio y Alto y, por tanto, también el tamaño final de los testículos. Sin embargo, la evolución de la concentración de espermatozoides en el semen fue diferente.

Si consideramos que los cambios en la circunferencia escrotal o el volumen testicular reflejan de forma aceptable el crecimiento de los túbulos seminíferos, la discrepancia observada entre el crecimiento de los testículos y la producción espermática inicialmente podría atribuirse a cambios en la capacidad espermatogénica de los testículos.

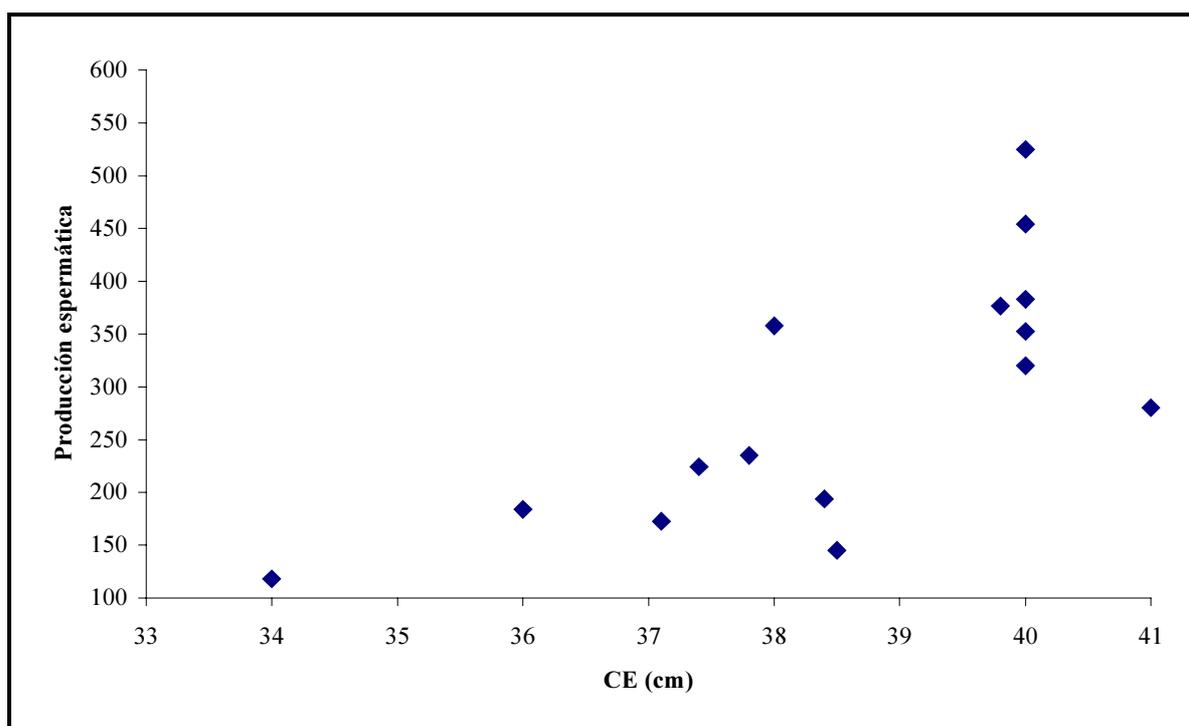
En la bibliografía consultada, se han encontrado muy pocos estudios que corroboren o rechacen esta hipótesis. Cameron *et al.* (1988) señalan que los planos altos de alimentación podrían favorecer las divisiones celulares en el proceso de espermatogénesis, lo cual se vería reflejado en la concentración de espermatozoides, siempre y cuando se mantenga constante el volumen de semen eyaculado.

Por otra parte, existen evidencias, obtenidas en otros tejidos y órganos, de que cambios en la alimentación pueden provocar alteraciones no sólo en el tamaño o peso, sino también en la actividad metabólica relativa, es decir, por gramo de tejido u órgano

(Rompala y Hoagland, 1987; Burrin *et al.*, 1992; Lobley *et al.*, 1994; Nozière *et al.*, 1999).

En relación con otras características del eyaculado (motilidad masal e individual y porcentaje de espermatozoides vivos y con anomalías morfológicas), los resultados indican que éstas son independientes del aporte de proteína, al menos cuando éste es superior a las necesidades de mantenimiento.

**Figura XXVI.** Relación entre la circunferencia escrotal (CE) y la producción espermática (espermatozoides/eyaculado) en la semana 5 del experimento.



En la revisión efectuada, que se ha centrado en las revistas científicas de mayor difusión en esta área de conocimiento, no se han encontrado trabajos de investigación

en los que se haya estudiado el efecto del aporte de proteína sobre la motilidad masal, motilidad individual y porcentaje de espermatozoides vivos y con anomalías morfológicas, en el ganado ovino.

En pequeños rumiantes, únicamente se encontró un trabajo realizado por Abi Saab y colaboradores (1997), en ganado caprino, en el que observó que los animales que recibían una suplementación proteica desde el día 28 de vida hasta los 4 meses de edad tenían un mayor porcentaje de espermatozoides vivos, cuando se extrajo el semen a los seis meses de edad.

Sin embargo, es necesario tener en cuenta que los animales todavía no habían alcanzado el desarrollo completo de los testículos y, además, el grupo que recibió el menor aporte de proteína tenía, a esa edad, un retraso en el crecimiento de los testículos. Por tanto, intentar extrapolar estos resultados a animales adultos puede conducir a error.

Por otra parte, al igual que sucedió con el tamaño de los testículos, la concentración de espermatozoides y el volumen de eyaculado cambiaron entre la semana 5 y la 9 en el grupo Bajo. Asimismo, la motilidad masal aumentó en similar magnitud en los tres grupos a lo largo del ensayo.

El efecto de la semana sobre estas características del semen también podría estar relacionado con cambios en el fotoperiodo. Numerosos estudios han demostrado, en distintas razas, que el volumen, la concentración espermática y la motilidad masal de los eyaculados son mayores en los meses en los que disminuye el número de horas de

luz (Phillips *et al.*, 1943; Fowler, 1965; Dacheux *et al.*, 1981; Greig, 1991; Borque y Sagües, 1993, Anel *et al.*, 1995).

Además, Dacheux *et al.* (1981) también observaron un incremento progresivo en la concentración y en el volumen de los eyaculados desde el comienzo de la estación favorable para la reproducción (mes de julio), hasta alcanzar un valor máximo en el mes de noviembre.

Por tanto, como en el presente experimento la primera colección de semen se realizó a principios del mes de octubre y la segunda en la primera semana de noviembre, es muy probable que el efecto de la semana, sobre las características del semen que nos ocupan, fuera consecuencia de las variaciones experimentadas por el fotoperiodo durante el periodo de tiempo que transcurrió desde la primera hasta la segunda colección seminal.

#### **6.2.5. Capacidad de servicio**

La capacidad de servicio implica una considerable actividad física y, por ende, un importante gasto de energía (Brown, 1994). Por esta razón, se considera que esta actividad está más condicionada por el aporte de energía que de proteína (Parker y Thwaites, 1972; Brown, 1994).

En este sentido, múltiples estudios han puesto de manifiesto una relación positiva entre el balance de energía y la actividad sexual (Salamon, 1964; Parker y Thwaites, 1972; Millar y Fairall, 1976; Alkass y Bryant, 1984; Brown, 1994).

En relación con el aporte de proteína, sin embargo, la información existente ha suscitado cierta controversia.

Existen autores que consideran que hay datos suficientes para afirmar que el aporte de proteína puede influir en la capacidad de servicio. Así, por una parte, se argumenta que diferentes ensayos, en los que se estudió el efecto de la suplementación con alimentos de naturaleza proteica, tales como altramuces, han puesto de manifiesto una relación positiva entre la capacidad de servicio y el balance de nitrógeno (Chenoweth, 1981; Gheradi *et al.*, 1980).

Por otra parte, se señala que también existe una relación positiva entre la capacidad de servicio y el tamaño de los testículos y que este último parámetro puede variar con la ingestión de proteína (Oldham *et al.*, 1978; Lindsay *et al.*, 1984; Barwick *et al.*, 1985; Barwick *et al.*, 1989; Solomon y Thawaites, 1997). En consecuencia, se sugiere que la ingestión de proteína también puede afectar a la capacidad de servicio.

Los detractores de esta hipótesis argumentan, en primer lugar, que la mayoría de los ensayos en los que se ha estudiado el efecto de la suplementación no presentan un diseño experimental muy adecuado para separar el efecto de la ingestión de energía y de proteína, puesto que la suplementación con alimentos proteicos también supone una suplementación energética (Rowe y Murray, 1984; Murray *et al.*, 1990).

En segundo lugar, consideran que la relación entre el tamaño de los testículos y la capacidad de servicio se ha encontrado cuando las diferencias en estas variables, en la población objeto de estudio, tienen una base genética y no son consecuencia de diferencias en el estatus nutritivo (Gordon, 1997; Purvis y Hillard, 1997).

En el presente ensayo no se han encontrado diferencias en los parámetros registrados en las pruebas de capacidad de servicio, lo que parece corroborar la hipótesis de que la capacidad de servicio es relativamente insensible a cambios en el aporte de proteína, por lo menos, cuando estos cambios en la ingestión se producen por encima de las necesidades de mantenimiento y cuando los animales están sometidos a regímenes de servicio moderados.

No obstante, no se puede descartar que la ausencia de diferencias, tal vez, pueda ser debida a la elevada variación individual observada. Así, por ejemplo, el número de montas con eyaculación fue en torno a un 14% y un 25% superior en los animales del grupo Alto respecto a los grupos Medio y Bajo, respectivamente. Asimismo el coeficiente de variación fue, por término medio, de un 25%.

Es oportuno comentar, sin embargo, que la variación en los parámetros registrados en las pruebas de capacidad de servicio, tanto “dentro” como “entre” grupos experimentales, no se puede atribuir a diferencias en el tamaño de los testículos.

Por una parte, el tamaño de los testículos de los animales de los grupos Medio y Alto fue similar en todos los periodos de medición, siendo los valores para la semana 5 de 39,72 vs 39,90 cm y en la semana 9 de 39,90 vs 40,20 cm para los grupos Medio y Alto, respectivamente.

Por otra parte, la elevada variación individual tampoco se puede atribuir a diferencias en el tamaño de los testículos, ya que cuando se compara la relación entre la capacidad de servicio y el tamaño de los testículos para cada grupo experimental se observa que ésta es, en general, baja y muy variable, incluso en su signo (por ejemplo,

en la semana 5 se observaron coeficientes de correlación de -0,17; -0,24 y 0,61 para los grupos Bajo, Medio y Alto, respectivamente).

Esta inconsistente relación entre el tamaño de los testículos y la capacidad de servicio tampoco debe extrañarnos. La base biológica de esta relación parece residir en la secreción de testosterona. Así, cuanto mayor es el tamaño de los testículos mayor es la concentración en plasma de testosterona y, por ende, mayor la producción espermatogénica y la actividad sexual (Purvis *et al.*, 1974; Knight, 1984; Martin *et al.*, 1987; Perkins *et al.*, 1992a; Solomon y Thwaites, 1997; Gordon, 1997).

Sin embargo, en analogía con Boukhliq *et al.* (1997), los resultados obtenidos en este trabajo, con la precaución que exige las limitaciones asociadas con el esquema de toma de muestras de sangre, sugieren que esta interdependencia no siempre existe y los cambios en el tamaño de los testículos y en la producción espermatogénica, consecuencia de cambios en la nutrición proteica, no tienen una base hormonal, por lo menos en lo que se refiere a las hormonas sexuales, es decir, Lh, Fsh y testosterona.

---

## **7.- CONCLUSIONES**

---

## **Conclusiones de la prueba 1**

### **Primera**

La ganancia diaria de peso de los corderos, tanto en el primer periodo (desde la semana 7 hasta la semana 16 de edad) como en el segundo (desde la semana 17 hasta la semana 27 de edad), fue significativamente mayor ( $P < 0,05$ ) en aquellos que ingirieron mayor cantidad de proteína metabolizable ( $263 \pm 12,4$  vs  $336 \pm 14,1$  g/día). Este efecto fue independiente del periodo de estudio, lo que sugiere que el potencial de crecimiento de los corderos de raza Assaf es relativamente constante en el intervalo de edad estudiado.

### **Segunda**

La relación entre la circunferencia escrotal y la edad describió una curva de tipo sigmoide, siendo la edad en el punto de inflexión, es decir, en el punto en el que el ritmo de crecimiento de los testículos alcanza su máximo valor, menor en los corderos que recibieron un mayor aporte de proteína metabolizable durante el primer periodo experimental ( $83 \pm 2,5$  vs  $94 \pm 4,7$  días). Por el contrario, el nivel de ingestión de proteína metabolizable no influyó en el peso que presentaron los corderos a esa edad, siendo el valor medio de  $24 \pm 0,629$  kg. Este hecho contribuye a confirmar que el crecimiento de los testículos es un proceso más dependiente de la ganancia de peso corporal que de la edad.

### **Tercera**

El nivel de ingestión de proteína metabolizable en los diferentes periodos experimentales no influyó, de forma estadísticamente significativa ( $P > 0,10$ ), ni en las características del semen estudiadas (volumen de eyaculado, concentración, cantidad total de espermatozoides en el eyaculado, motilidad masal, motilidad individual y porcentaje de espermatozoides vivos y de espermatozoides con anomalías morfológicas), ni en el tamaño final de los testículos, medido éste tanto en términos de circunferencia escrotal como de volumen testicular.

## **Conclusiones de la prueba 2**

### **Primera**

En moruecos de raza Assaf la ingestión de proteína metabolizable influyó, de forma estadísticamente significativa ( $P < 0,05$ ), en la circunferencia escrotal. Con un aporte de 3,9 g de proteína metabolizable/kg PV<sup>0,75</sup>, durante 4 semanas, la circunferencia escrotal aumentó un  $8 \pm 0,9$  %. Aportes de proteína superiores o periodos de suplementación más prolongados no mejoraron esta respuesta.

### **Segunda**

La producción espermática aumentó al hacerlo el nivel de ingestión de proteína metabolizable. Por encima de las necesidades proteicas de mantenimiento, la diferencia, en la producción espermática, entre niveles de ingestión se reduce a medida que transcurre el tiempo, lo cual sugiere que el nivel de ingestión de proteína metabolizable influye más en el tiempo de respuesta que en el nivel de la misma.

### **Tercera**

La ingestión de proteína metabolizable no influyó, de forma estadísticamente significativa ( $P > 0,10$ ), en los niveles plasmáticos de las hormonas luteinizante, folículoestimulante y testosterona, lo cual confirma que el mecanismo de acción de la proteína sobre la producción espermática no está mediada por las hormonas sexuales.

### **Cuarta**

La capacidad de servicio no varió, de forma estadísticamente significativa ( $P > 0,10$ ), con el nivel de ingestión de proteína metabolizable que recibieron los animales. Estos resultados sugieren que cuando los cambios en la ingestión de proteína se producen por encima de las necesidades de mantenimiento y los animales están sometidos a regímenes de servicio moderados, la capacidad de servicio es insensible a ellos.

---

## **8.- RESUMEN**

---

El presente trabajo comprende dos pruebas experimentales, diseñadas para estudiar la relación entre el aporte de proteína metabolizable y el desarrollo testicular, la espermatogénesis y los niveles plasmáticos de Lh, Fsh y testosterona en corderos y moruecos de raza Assaf.

En la primera prueba se estudió el efecto del contenido de proteína metabolizable en el pienso administrado a corderos de raza Assaf, en el periodo comprendido entre los 2 y 7 meses de edad, sobre el consumo de alimento, la ganancia de peso, el desarrollo testicular y los niveles plasmáticos de las hormonas Lh, Fsh y testosterona. Asimismo, a los 8 meses de edad se estudió el efecto de la alimentación recibida previamente sobre el volumen y calidad del semen eyaculado. Esta prueba se llevó a cabo durante los meses de marzo a noviembre en la Estación Agrícola Experimental de León, perteneciente al CSIC.

Para esta prueba, se utilizaron 24 corderos de raza Assaf, recién destetados, que se distribuyeron en 4 grupos experimentales de acuerdo con un diseño factorial 2 x 2, definido por dos tipos de pienso con diferente contenido de proteína metabolizable y similar contenido de energía metabolizable (**A**: 143 g PM/kg MS y 12,64 MJ EM/kg MS y **B**: 83 g PM/kg MS y 12,82 MJ EM/kg MS y) y dos periodos de crecimiento (**periodo 1**: desde la semana 7 hasta la semana 16 de edad, ambas incluidas, y **periodo 2**: desde la semana 17 hasta la semana 27 de edad, ambas incluidas). Durante estos dos periodos, los animales estuvieron alojados en jaulas individuales de 2 x 2 m<sup>2</sup> de superficie y recibieron paja de cebada y el pienso correspondiente, según el diseño experimental, administrados, ambos, a voluntad. Una vez finalizado el segundo periodo experimental, todos los animales recibieron, durante cuatro semanas, la misma ración (50 g de heno/kg PV<sup>0,75</sup> y día y 40 g de pienso B/kg PV<sup>0,75</sup> y día), transcurridas las cuales se llevaron a cabo las recogidas y determinaciones sobre el semen.

La ingestión diaria de pienso, en el primer periodo, fue significativamente mayor ( $P < 0,05$ ) en los animales que recibieron el pienso A ( $805 \pm 55,9$  vs  $973 \pm 34,2$  g MS/animal). El consumo de paja no se vio afectado por el tipo de pienso consumido por los animales, que en todo caso fue cuantitativamente irrelevante ( $32 \pm 1,5$  g de MS/animal y día).

En el segundo periodo, no hubo diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,05$ ) en la ingestión de pienso debidas al tipo de pienso utilizado y tampoco se observaron efectos “carry over” derivados de la alimentación en el primer periodo, siendo el valor medio de  $1317 \pm 26,2$  g de MS/animal y día. Los consumos de pienso y de paja de cebada, sin embargo, variaron significativamente ( $P < 0,001$ ) con la semana de experimento, pero el consumo de ambos alimentos tuvo una secuencia muy irregular.

La ganancia diaria de peso vivo, tanto en el primer como en el segundo periodo, fue significativamente mayor ( $P < 0,01$ ) en los animales que consumieron el pienso A. Asimismo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,05$ ) entre periodos en aquellos animales que no cambiaron de alimentación. Los valores medios de ganancia de peso para el conjunto de los dos periodos fueron  $328 \pm 20,2$  y  $276 \pm 17,1$  g/día para los animales que consumieron el pienso A y B, respectivamente.

Por lo que se refiere a los niveles hormonales en plasma, sólo se observó una diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0,05$ ) en cuanto a la Lh, que fue superior, en el segundo periodo, en los animales con mayor aporte proteico.

En el primer periodo de estudio, el crecimiento de los testículos fue mayor ( $P < 0,05$ ) en los corderos que recibieron el pienso A, siendo el valor medio de la circunferencia escrotal en ese periodo de  $17,1 \pm 0,72$  cm y  $15,3 \pm 0,66$  cm para los

animales que consumieron el pienso A y B, respectivamente. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,05$ ) entre grupos experimentales en el tamaño alcanzado por los testículos al finalizar el segundo periodo, siendo el valor medio de la circunferencia escrotal de  $29,3 \pm 0,45$  cm.

Respecto a las características del semen, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ), atribuibles al tipo de pienso consumido por los animales en el primer o en el segundo periodo, en ninguna de las características estudiadas. Los valores medios fueron:  $0,65 \pm 0,029$  ml para el volumen de eyaculado;  $200 \pm 9,7 \times 10^7$  espermatozoides/ml para la concentración;  $141 \pm 9,5 \times 10^7$  para la cantidad total de espermatozoides;  $4,0 \pm 0,10$  puntos para la motilidad masal;  $4,0 \pm 0,05$  puntos para la motilidad individual;  $75 \pm 2,1$  % para el porcentaje de espermatozoides vivos y  $7,1 \pm 0,79$  % para el porcentaje de espermatozoides con anomalías morfológicas.

La segunda prueba experimental se planteó para estudiar el efecto del nivel de ingestión de proteína metabolizable, en animales adultos, sobre los niveles plasmáticos de Lh, Fsh y testosterona, el tamaño de los testículos, las características del semen y la capacidad de servicio.

Para esta prueba, se utilizaron 18 moruecos de raza Assaf, de entre 3 y 4 años de edad, que se distribuyeron en 3 grupos experimentales, de 6 animales cada uno. Los animales recibieron paja de cebada ( $20$  g/kg  $PV^{0,75}$ ) y diferentes piensos ( $35$  g/kg  $PV^{0,75}$ ) según el grupo experimental, para lograr un aporte similar de energía metabolizable (aproximadamente  $0,5$  MJ de EM/kg  $PV^{0,75}$ ) y diferente de proteína metabolizable (**Grupo Bajo:**  $3,2$  g de proteína metabolizable/kg  $PV^{0,75}$ ; **Grupo Medio:**  $3,9$  g de proteína metabolizable/kg  $PV^{0,75}$  y **Grupo Alto:**  $5,2$  g de proteína metabolizable/kg  $PV^{0,75}$ ). El ensayo experimental comenzó en el mes de septiembre y tuvo una duración de 10 semanas. Durante todo el ensayo los animales permanecieron en jaulas individuales ( $2 \times 2$  m<sup>2</sup> de superficie).

Los animales variaron de peso durante el periodo experimental. Esta variación fue en todos los casos positiva y mayor cuanto mayor fue la ingestión de proteína ( $30 \pm 8,2$  g/día para el grupo Bajo,  $60 \pm 13,4$  g/día para el grupo Medio y  $80 \pm 8,9$  g/día para el grupo Alto).

Los niveles plasmáticos de Lh, Fsh y testosterona no se vieron afectados ( $P > 0,10$ ) por el nivel de ingestión de proteína. La semana de experimento, por el contrario, influyó significativamente ( $P < 0,001$ ) en la concentración plasmática de Fsh y de testosterona.

El nivel de ingestión de proteína influyó de forma estadísticamente significativa ( $P < 0,05$ ) en la circunferencia escrotal y en el volumen testicular, pero este efecto dependió de la semana. Tanto en la semana 5ª como en la 9ª de la prueba, el grupo que recibió el menor aporte proteico (Bajo) presentó valores significativamente inferiores ( $P < 0,05$ ) a los de los otros dos grupos, entre los cuales las diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ). Los valores medios de circunferencia escrotal y volumen testicular en la semana 5ª fueron, respectivamente, de  $36,9 \pm 0,69$  cm y  $342 \pm 14,3$  cc para el grupo Bajo,  $39,7 \pm 0,52$  cm y  $385 \pm 6,1$  cc para el grupo Medio y  $39,9 \pm 0,56$  cm y  $385 \pm 5,9$  cc para el grupo Alto. En la semana 9ª, los valores medios de circunferencia escrotal y volumen testicular fueron, respectivamente, de  $37,1 \pm 0,75$  cm y  $341 \pm 13,5$  cc para el grupo Bajo,  $39,9 \pm 0,56$  cm y  $380 \pm 4,9$  cc para el grupo Medio y  $40,2 \pm 0,56$  cm y  $390 \pm 6,1$  cc para el grupo Alto.

El volumen de semen eyaculado y la producción espermática (vol x concentración) también variaron significativamente ( $P < 0,05$ ) con el nivel de ingestión de proteína metabolizable. Tanto en la semana 5ª como en la 9ª, el menor volumen correspondió al grupo Bajo ( $0,61 \pm 0,028$  ml), no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,10$ ) entre los otros dos grupos ( $1,04 \pm 0,058$  vs

1,12 ± 0,073 ml para los grupos Medio y Alto, respectivamente). La producción espermática presentó diferencias entre los tres grupos, correspondiendo el mayor valor al grupo Alto (446,78 ± 35,777 x 10<sup>7</sup>) y el menor al grupo Bajo (198,64 ± 13,741 x 10<sup>7</sup>).

La concentración de espermatozoides mostró una tendencia (P<0,10) a ser mayor en los grupos Medio y Alto. Este efecto, sin embargo, dependió de la semana. En la semana 5<sup>a</sup>, la concentración tendió a ser mayor (P<0,10) en el grupo Alto (393,30 ± 15,192 x 10<sup>7</sup>, espermatozoides/ml), no encontrándose diferencias estadísticamente significativas (P>0,10) entre los otros dos grupos (307,91 ± 14,577 x 10<sup>7</sup> vs 317,10 ± 26,164 x 10<sup>7</sup> espermatozoides/ml para los grupos Bajo y Medio, respectivamente). En la semana 9<sup>a</sup>, la concentración tendió a ser menor (P<0,10) en el grupo Bajo (334,08 ± 20,112 x 10<sup>7</sup> espermatozoides/ml), no habiendo diferencias estadísticamente significativas (P>0,10) entre los otros dos grupos (409,00 ± 24,945 x 10<sup>7</sup> vs 392,50 ± 15,767 x 10<sup>7</sup> espermatozoides/ml para los grupos Medio y Alto, respectivamente).

La semana de experimento también afectó de forma estadísticamente significativa (P<0,05) al volumen de eyaculado, la concentración y la cantidad total de espermatozoides. En los tres grupos experimentales, los mayores valores se obtuvieron en la semana 9<sup>a</sup>.

El resto de las características del semen que se estudiaron (motilidad masal, motilidad individual y porcentaje de espermatozoides vivos y de espermatozoides con anomalías morfológicas), no se vieron afectadas (P>0,10) por el nivel de ingestión de proteína

En relación con los parámetros que se estudiaron en las pruebas sobre la capacidad de servicio, éstos no se vieron afectados (P>0,10) ni por el nivel de

ingestión de proteína, ni por la semana de experimento, ni por la interacción entre estas dos fuentes de variación. El número medio de montas sin eyaculación fue  $5,28 \pm 0,689$ ; el de montas con eyaculación  $3,58 \pm 0,144$  y el tiempo medio de reacción  $20,53 \pm 2,153$  segundos.

---

## **9.- BIBLIOGRAFÍA**

---

- Abi Saab, S.; Sleiman, F.T.; Nassar, K.H.; 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.
- Adam, C.L. and Findlay, P.A. (1997).** Effect of nutrition on testicular growth and plasma concentrations of gonadotrophins, testosterone and insulin-like factor I (IGF-I) in pubertal male Soay sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*, 111, 121-125.
- AFRC. (1993).** *Energy and protein requirements of ruminants*. C.A.B International. Wallingford, UK.
- Alberio, R. and Colas, G. (1976).** Influence of photoperiodism of the sexual development of the young Ile-de-france ram. In: *Proceedings 8th International Congress of Animal Reproduction & Artificial Insemination Krakow*. pp: 26-29. Krakow, Polonia.
- Alkass, J.E. and Bryant, M.J. (1982).** Some effects of level of feeding and body condition upon sperm production and gonadotropin concentrations in the ram. *Animal Production*, 34, 265-277.
- Alkass, J.E. and Bryant, M.J. (1984).** Effects of level of feeding and body condition on libido in the ram. *World Review of Animal Production*, 20, 45-48.
- Almquist, J.O. (1982).** Effect of long term ejaculation at high frequency on output of sperm, sexual behavior, and fertility of Holstein bulls; Relation of reproductive capacity to high nutrient allowance. *Journal of Dairy Science*, 65, 814-823.
- Álvarez, M.; Kaabi, M.; Anel, L.; Anel, E.; Chamorro, C.; Pérez, J.J.; Aparicio, N.; Méndez, P. y Martínez, S. (1999).** Resultados preliminares de un programa de inseminación artificial en ovejas de raza Assaf. *ITEA Producción Animal*, 20, 666-668.

- Andrews, R.P. and Ørskov, E.R. (1970a).** The nutrition of the early weaned lamb. I. The influence of protein concentration and feeding level on rate of gain in body weight. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 75, 11-18.
- Anel, E.; Carbajo, M.; Dominguez, J.C.; Anel, L. y Boixo, J.C. (1995).** Utilización de moruecos de raza Churra mediante inseminación artificial. *Ovis*, 35, 17-24.
- ARC. (1980).** The Nutrition Requirements of Ruminant Livestock. C.A.B. International. London, UK.
- Baril, G.; Chemineau, P.; Cognie, Y.; Guerin, Y.; Leboeuf, B.; Orgeur, P. et Vallet, J.C. (1993).** Stade physiologique des animaux In: *Manuel de Formation pour L'insemination Artificielle Chez les Ovins et les Caprins*. pp: 98-101. (Ed. FAO). Roma, Italia.
- Baril, G.; Chemineau, P.; Cognie, Y.; Leboeuf, B.; Orgeur, P. et Vallet, J.C. (1993).** Collecte et Conservation de la Semence In: *Manuel de Formation pour L'insémination Artificielle Chez les Ovins et les Caprins*. pp: 7-32. (Ed. FAO). Roma, Italia.
- Barwick, S.A.; Kilgour, R.J. and Gleeson, A.C. (1985).** Ram mating performance in Border Leicester and related breed types. 1. Pens test performance and measures of testis diameter. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 25, 9-16.
- Barwick, S.A.; Kilgour, R.J.; Fowler, D.G.; Wilkins, F.J. and Harvey, W.R. (1989).** Ram mating performance in Border Leicesters and related breed types. 3. Relationships of ram serving capacity, testis diameter, liveweight, breed and age with flock fertility. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 29, 17-22.
- Beauchemin, K.A.; McClelland, L.A.; Jones, S.D.M. and Ckozub, G. (1995).** Effects of crude protein content, protein degradability and energy

concentration of diet on growth and carcass characteristics of market lambs fed high concentrate diets. *Canadian Journal of Animal Science*, 75, 387-395.

**Belloc, D.; Aparicio Ruiz, F. y Vera y Vega, A. (1977).** Notas sobre las relaciones entre la edad, peso del timo, peso de los testículos y el peso a la canal de ternascos rasos. *Archivos de Zootecnia*, 26, 311-315.

**Bénévent, M. (1971).** Croissance relative pondérale postnatale, dans les deux sexes, des principaux tissus et organes de l'agneau Mérinos d'Arles. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 11, 5-39.

**Blockey, M.A. (1989).** Relationship between serving capacity of beef bulls as predicted by the yard test and their fertility during paddock mating. *Australian Veterinary Journal*, 66, 348-351.

**Boon, L.; Geerts, W.J.; Jonker, A.; Lamers, W.H. and Van Noorden, C.J. (1999).** High protein diet induces pericentral glutamate dehydrogenase and ornithine aminotransferase to provide sufficient glutamate for pericentral detoxification of ammonia in rat liver lobules. *Histochemistry and Cell Biology*, 111, 445-452.

**Borque, C. y Sagües, A. (1992).** Variaciones estacionales de los niveles de fructosa, ácido cítrico y proteínas totales en eyaculados de moruecos de raza Manchega. *Investigación Agraria: Producción y Sanidad Animales*, 7, 235-240.

**Borque, C. y Sagües, A. (1993).** Influencia de la estación del año en las concentraciones de testosterona plasmática y en la composición bioquímica del eyaculado en moruecos de raza Manchega. *ITEA Producción Animal*, 12, 468-470.

**Boukhliq, R. and Martin, G.B. (1997).** Administration of fatty acids and gonadotrophin secretion in the mature ram. *Animal Reproduction Science*, 49, 143-149.

- Boukhliq, R.; Martin, G.B.; White, C.L.; Blackberry, M.A. and Murray, P.J. (1997).** Role of glucose, fatty acids and protein in regulation of testicular growth and secretion of gonadotrophin, prolactin, somatotrophin and insulin in the mature ram. *Reproduction, Fertility and Development*, 9, 515-524.
- Braden, A.W. and Mattner, P.E. (1970).** The effects of scrotal heating in the ram on semem characteristics, fecundity, and embryonic mortality. *Australian Journal of Agriculture Research*, 21, 509-518.
- Braden, A.W.H.; Turnbull, K.E.; Mattner, P.E. and Moule, G.R. (1974).** Effect of protein and energy content of the diet on the rate of sperm production in rams. *Australian Journal of Biology Science*, 27, 67-73.
- Broers, P. (1995).** *Compendium de Reproducción Animal*. (Ed. Laboratorios Intervet). Salamanca, España.
- Brown, B.W. (1993).** Gonadotrophin and testosterone concentrations and testicular growth in rams supplemented with lupins from birth to puberty. *Proceedings of the Australian Society of Reproduction Biology*, 25, 34.
- Brown, B.W. (1994).** A review of nutritional influences on reproduction in boars, bulls and rams. *Reproduction Nutrition Développement*, 34, 89-114.
- Brusa, C. (1998).** *Crecimiento y composición corporal de corderos de raza Merina durante el cebo intensivo: Efecto de la inclusión de una etapa previa de pastoreo y del suplemento proteico administrado*. Tesis Doctoral. Universidad de León. León, España.
- Burrin, D.G.; Ferrell, C.L.; Britton, R.A. and Bauer, M. (1990).** Level of nutrition and visceral organ size and metabolic activity in sheep. *British Journal of Nutrition*, 64, 439-448.

- Burrin, D.G.; Ferrell, C.L.; Britton, R.A. and Bauer, M. (1992).** Level of nutrition and visceral organ protein synthetic capacity and nucleic acid content in sheep. *Journal of Animal Science*, 70, 1137-1145.
- Burton, K.N.; Keogh, E.J. and Fairnie, I.J. (1982).** The effects of ram percentage and testis size on lambing percentage in Merino ewes. *Animal Production in Australia*, 15, 539-541.
- Cameron, A.W.N. and Fairnie, I.J. (1984).** Semen quality, quantity and flock fertility. In: *Reproduction in sheep*. pp: 79-85. (Ed. D.R. Lindsay and D.T. Pearce). Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- Cameron, A.W.N.; Fairnie, I.J.; Curnow, D.H.; Keogh, E.J. and Lindsay, D.R. (1984).** The relationship between testicular size and daily sperm output of rams. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 15, 658.
- Cameron, A.W.N.; Murphy, P.M. and Oldham, C.M. (1988).** Nutrition of rams and output of spermatozoa. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 17, 162-165.
- Cameron, R.D.A. (1977).** Semen collection and evaluation in the ram. The effect of method of stimulation on response to electroejaculation. *Australian Veterinary Journal*, 53, 380-383.
- Cañeque, V. y Gálvez, J.F. (1975).** Nivel de proteína bruta en el pienso para engorde intensivo de corderos. *Anales del INIA. Serie Producción Animal*, 6, 87-100.
- Casteilla, L.; Orgeur, P. and Signoret, J.P. (1987).** Effects of rearing conditions on sexual performance in the ram: Practical use. *Applied Animal Behavior Science*, 19, 111-118.

- Castrillo, O. (1975).** *La composición corporal de los corderos de raza Churra y su evolución en el transcurso del crecimiento.* Tesis Doctoral. Universidad de Oviedo. Oviedo, España.
- Cates, W.F. (1991).** Some nutritional and genetic considerations in the performance testing of beef bulls. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 7, 59-76.
- Cawthorne, M.; Morton, N.M.; Pallet, A.L.; Liu, Y.L. and Emilsson, V. (1998).** Peripheal metabolic actions of leptin. *Proceedings of the Nutrition Society*, 57, 449-453.
- Celorrío, I.; Manso, A.; Sevillano, C.; Gamallo, J.A.; Olmedo, J.A.; Domínguez, J.C.; Alvarez, M.; Gutiérrez, G. y Anel, E. (1994).** Estudio comparativo de las características seminales de las razas ovinas Churra y Assaf. En: *Resúmenes de la VII Jornadas Internacionales de Reproducción Animal.* pp: 299. Murcia, España.
- Chemineau, P. (1986).** Sexual behaviour and gonadal activity during the year in the tropical Creole meat goat. II. Male mating behaviour, testis diameter, ejaculate characteristics and fertility. *Reproduction Nutrition Développement*, 26, 453-460.
- Chen, X.B. and Ørskov, E.R. (1994).** Amino acid nutrition in sheep In: *Amino Acids in Farm Animal Nutrition.* pp: 307-328. (Ed. J.P.F. D'Mello). C.A.B. International. Wallingford, UK.
- Chenoweth, P.J. (1981).** Libido and mating behavior in bulls, boars and rams. A review. *Theriogenology*, 16, 155-177.
- Chenoweth, P.J. (1997).** Bull libido/serving capacity. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 13, 331-344.
- Chowdhury, S.A.; Ørskov, E.R.; Hovell, F.D.DeB and Mollison, G. (1991).** Protein utilization during energy undernutrition in the ruminants. In: *Protein*

*Metabolism and Nutrition*. Vol. 2. pp: 154-157. (Ed. B.O. Eggum, S. Boisen, C. Borsting, A. Danfaer and T. Hvelplund). National Institute of Animal Science. Foulum, Denmark.

**Colas, G. (1979).** Fertility in the ewe after artificial insemination with fresh and frozen semen at the induced oestrus, and influence of the photoperiod on the semen quality of the ram. *Livestock Production Science*, 6, 153-166.

**Colas, G. (1980).** Variations saisonnières de la qualité du sperme chez le bélier Ile-de-france. I. Étude de la morphologie cellulaire et de la motilité massale. *Reproduction Nutrition Développement*, 20, 1789-1799.

**Colas, G. (1981).** Variations saisonnières de la qualité du sperme chez le bélier Ile-de-france. II. Fécondance: relation avec les critères qualitatifs observés in vitro. *Reproduction Nutrition Développement*, 21, 399-407.

**Colas, G. (1983).** Factors affecting the quality of ram semen. In: *Sheep Production*. pp. 453-465. Butterworth. London, UK.

**Colás, G. et Zinszner-Pfimplin, F. (1975).** Production spermatique et développement testiculaire chez l'agneau de race Ile-de-France et Prealpes. In: *Proceedings I Journées de la Recherche Ovine et Caprine*. pp: 235-243. Francia.

**Colas, G.; Guerin, Y.; Briois, M. and Ortavant, R. (1987).** Photoperiodic control of testicular growth in the ram lamb. *Animal Reproduction Science*, 13, 255-262.

**Colas, G.; Guérin, Y.; Clanet, V. et Solari, A. (1985).** Influence de la durée d'éclaircissement sur la production et la fécondance des spermatozoïdes chez le bélier adulte Ile-de-france. *Reproduction Nutrition Développement*, 25, 101-111.

**Colas, G.; Guérin, Y.; Lemaire, Y.; Montassier, Y. et Despierres, J. (1986).** Variations saisonnières du diamètre testiculaire et de la morphologie des

spermatozoïdes chez le bélier Vendéen et chez le bélier Texel. *Reproduction Nutrition Développement*, 26, 863-875.

**Colas, G.; Menissier, F.; Courot, M. et Paquignon, M. (1984).** Technologie de l'insémination artificielle et amélioration génétique: bilan et perspectives critiques. *Les colloques de l'INRA*, 29, 53-75.

**Cole, N.A. (1999).** Nitrogen retention by lambs fed oscillating dietary protein concentrations. *Journal of Animal Science*, 77, 215-222.

**Colyer, R.J. (1971).** Development of the testis and epidymis of the Clun Forest ram. *Journal Agricultural Science, Cambridge*, 76, 433-441.

**Coppack, S.; Pinkney, J.H. and Mohamed-Ali, V. (1998).** Leptin production in human adipose tissue. *Proceedings of the Nutrition Society*, 57, 461-470.

**Cotta, Y.; Terqui, M.; Pelletier, J. et Courot, M. (1975).** Testostérone et Lh plasmatiques chez l'agneau de la naissance à la puberté. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences. Série D: Sciences naturelles*, 280, 1473-1476.

**Courot, M. (1962).** Développement du testicule chez l'agneau. Établissement de la spermatogenèse. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 2, 25-41.

**Courot, M. and Kilgour, R.J.(1984).** Endocrine control of mammalian testicular ontogenesis. *Archivos de Biología y Medicina Experimentales*, 17, 249-255.

**Courot, M.; Reviere, M.M. and Pelletier, J. (1975).** Variations in pituitary and blood Lh during puberty in the male lamb. Relation to time of birth. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 15, 509-516.

**Dacheux, J.L.; Pisselet, C.; Blanc, M.R.; Hochereau-de-Reviere, M.T. and Courot, M. (1981).** Seasonal variations in rete testis fluid secretion and sperm

production in different breeds of ram. *Journal of Reproduction and Fertility*, 61, 363-371.

**Dirksen, G. (1989).** Rumen function and disorders related to production disease. In: *Proceedings VII International Conference Diseases Farms Animals*. pp: 350. Cornell University, Ithaca, USA.

**Dufour, J.J.; Fahmy, M.H. and Minvielle, F. (1984).** Seasonal changes in breeding activity, testicular size, testosterone concentration and seminal characteristics in rams with long or short breeding season. *Journal of Animal Science*, 58, 416-422.

**Duran del Campo, A. (1980).** *Anatomía, Fisiología de la Reproducción e Inseminación artificial en ovinos*. Agropecuaria Hemisferio Sur. Montevideo, Uruguay.

**Dýrmundsson, Ó.R. (1973).** Puberty and early reproductive performance in sheep. II. Rams lambs. *Animal Breeding Abstracts*, 41, 419-430.

**Dýrmundsson, Ó.R. (1987).** Advancement of puberty in male and female sheep. In: *New Techniques in Sheep Production*. pp: 65-71. (Ed. I. Fayez, M. Marai and J.B. Owen). Butterworths. London, UK.

**Dýrmundsson, Ó.R. and Lees, J.L. (1972).** Puberal development of Clun Forest rams lambs in relation to time of birth. *Journal Agricultural Science, Cambridge*, 79, 83-89.

**Edward, O. P.; Borgwardt, R.; Dally, M.R. and Hemsworth, P.H. (1996).** Repeated matings with individual ewes by rams differing in sexual performance. *Journal of Animal Science*, 74, 542-544.

**Edward, O.P.; Hans, E.; Reid, B. and Martin, R.D. (1992).** Measures of libido and their relation to serving capacity in the ram. *Journal of Animal Science*, 70, 3376-3380.

- Fiser, P.S. and Fairfull, R.W. (1986).** The effects of rapid cooling (cold shock) of ram semen, photoperiod, and egg yolk in diluents on the survival of spermatozoa before and after freezing. *Cryobiology*, 23, 518-524.
- Foote, R.H. (1969).** Physiological aspects of artificial insemination In: *Reproduction in Domestic Animals* (2<sup>nd</sup> Edn.). pp: 313-353. (Ed. H.H. Cole and P.T. Cupps). Academic Press. New York, USA.
- Foote, R.H. (1984).** Inseminación artificial. En: *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales* (4<sup>a</sup> Edn.). pp: 497-520. (Ed. E.S.E. Hafez). Interamericana. Mexico D.F., Méjico.
- Foote, R.H.; Hahn, J. and Larson, L.L. (1970).** Testicular measurements as predictors of sperm output and semen quality. In: *Proceedings of III Technical Conference on Artificial Insemination and Reproduction*. pp: 31-35. NAAB. USA.
- Forbes, J.M. (1986).** *The Voluntary Food Intake of Farm Animals*. Butterworths, London, UK.
- Foster, D.L. and Olster, D.H. (1985).** Effect of restricted nutrition on puberty in the lamb: Patterns of tonic Luteinizing hormone (Lh) secretion and competency of the Lh surge system. *Endocrinology*, 16, 375-381.
- Fowler, D.G. (1965).** Semen quality of Merino rams: 2. The effects of seasonal changes in day length on semen quality. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, 5, 247-251.
- Fowler, D.G. (1984).** Reproductive behaviour of rams. In: *Reproduction in sheep*. pp: 39-45. (Ed. D.R. Lindsay and D.T. Pearce). Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- France, J. and Thornley, J.H.M. (1984).** *Mathematical Models in Agriculture*. Butterworths. London, UK.

- Frutos, P. (1993).** *Composición corporal de ovejas adultas de raza Churra: efecto de la condición corporal.* Tesis Doctoral. Universidad de León. León, España.
- Fulkerson, W.J.; Synnott, A.L. and Lindsay, D.R. (1982).** Numbers of spermatozoa required to effect a normal rate of conception in naturally mated Merino ewes. *Journal of Reproduction and Fertility*, 66, 129-132.
- Galloway, D.B. (1973).** Reproduction in the ram. Part. 2. Abnormal reproductive function. *Australian Meat Research Committee. Review*, 10, 1-20.
- Gherardi, P.B.; Lindsay, D.R. and Oldham, C.M. (1980).** Testis size in rams and flock fertility. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 13, 48-50.
- Giráldez, F.J.; Frutos, P.; Lavín, P. and Mantecón, A.R. (1999).** Body composition changes and energy retention in milk-fed lambs undergoing energy restriction. *Small Ruminant Research*, 31, 127-133.
- Goering, M.K. and Van soest, P.J. (1970).** Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). *Agricultural Handbook*, 379, Agric. Res. Serv., USDA. Washington, USA.
- Goffaux, M. (1991).** L'examen approfondi des anomalies morphologiques de la semence du taureau. *Elevage et insémination*, 244, 3-14.
- González, M.E.; Garzón, A.I.; Martínez, J.; Aguado, M.J.; Garde, J. y Montoro, V. (1994).** Características de machos jóvenes de raza ovina Manchega, variedad Negra. En: *Resúmenes VII Jornadas Internacionales de Reproducción Animal*. pp: 119. Murcia, España.
- Gordon, Y. (1997).** *Controlled Reproduction in Sheep and Goats*. C.A.B. International. Wallingford, UK.
- Greenhalgh, J.F.D. and McDonald, I. (1978).** The metabolizable energy system in practice. Predicting feed intake. *Animal Production*, 26, 350.

- Greig, A. (1991).** Ram infertility In: *Diseases of sheep*. (2<sup>nd</sup> Edn.). pp: 34-39. Black well scientific publications. Oxford, UK.
- Hafez, E.S.E. (1996).** *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales* (6<sup>a</sup> Edn.). McGraw-Hill Interamericana. México D.F., Méjico.
- Hahn, J.; Foote, R.H. and Seidel, G.E. (1969a).** Testicular growth and related sperm output in dairy bulls. *Journal of Animal Science*, 29, 41-47.
- Hahn, J.; Foote, R.H. and Cranch, E.T.(1969b).** Tonometer for measuring testicular consistency of bulls to predict semen quality. *Journal of Animal Science*, 29, 483-489.
- Haley, C.S.; Cameron, N.D.; Slee, J. and Land, R.B. (1987).** Indirect selection. In: *New Techniques in Sheep Production*. pp: 113-123. (Ed. I.F.M. Marai and J.B. Owen). Butterworth. London, UK.
- Hassan, S.A. and Bryant, M.J. (1986).** The response of store lambs to dietary supplements of fish meal. 2.Effects of level of feeding. *Animal Production*, 42, 233-240.
- Henderson, D.C. (1991).** The reproductive cycle and its manipulation In: *Diseases of Sheep*. (2<sup>nd</sup> Edn.). pp: 25-34. Black Well Scientific Publications. Oxford, UK.
- Hochereau-de-Reviere, M.T.; Copin, M.; Seck, M.; Monet-Kuntz, C.; Cornu, C.; Fontaine, I.; Perreau, C.; Elsen, J.M. and Boomarov. (1990).** Stimulation of testosterone production by PMSG injection in the ovine male: effect of breed and age and application to males carrying or not carrying the "F" Booroola gene. *Animal Reproduction Science*, 23, 21-32.
- Hochereau-de-Reviere, M.T.; Blanc, M.R.; Colas, G. and Pelletier, J. (1984).** Parameters of male fertility and their genetic variation in sheep. In: *Genetics of*

---

*Reproduction of Sheep*. pp: 301-314. (Ed. R.B. Land and D. W. Robinson). Butterworth. London, UK.

**Hötzel, M.J.; Caraty, A. and Martin, G.B. (1997).** Effects of nutrition on testicular growth in mature Merino rams actively immunized against GnRh. *Journal of Reproduction and Fertility*, 110, 307-313.

**Hötzel, M.J.; Markey, C.M.; Walken-Brown, S.W.; Blackberry, M.A. and Martin, G.B. (1998).** Morphometric and endocrine analyses of the effects of nutrition on the testis mature Merino rams. *Journal of Reproduction and Fertility*, 113, 217-230.

**Hötzel, M.J.; Walkden-Brown, S.W.; Blackberry, M.A. and Martin, G.B. (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.

**Howard, T.H. and Pace, M.M. (1988).** Seminal evaluation and artificial insemination. In: *Fertility and Infertility in Veterinary Practice* (4<sup>th</sup> Edn.). pp: 39-51. (Ed. J.A. Laing, W.J. Brinley Morgan and W.C. Wagner). Baillière Tindall. London, UK.

**Howles, C.M.; Craigon, J. and Haynes, N.B. (1982).** Long-term rhythms of testicular volume and plasma prolactin concentrations in rams reared for 3 years in constant photoperiod. *Journal of Reproduction and Fertility*, 65, 439-446.

**Howles, C.M.; Webster, G.M. and Haynes, N.B. (1980).** The effect of rearing under a long or short photoperiod on testis growth, plasma testosterone and prolactin concentrations, and the development of sexual behaviour in rams. *Journal of Reproduction and Fertility*, 60, 437-447.

**Huang, Y.T. and Johnson, R.K. (1996).** Effect of selection for size of testes in Boars on semen and testis traits. *Journal of Animal Science*, 74, 750-760.

- Hulet, C.V.; Foote, W.C. and Blackwell, R.L. (1964).** Effects of natural and electrical ejaculation on predicting fertility in the ram. *Journal of Animal Science*, 23, 418-424.
- Hulet, C.V; Warren, C.F. and Blackwell, R.L. (1965).** Relationship of semen quality and fertility in the ram to fecundity in the ewe. *Journal of Reproduction and Fertility*, 9, 311-315.
- Ingvartsen, K.L. (1994).** Models of voluntary food intake in cattle. *Livestock Production Science*, 39, 19-38.
- Johnson, I.D. and Hart, I.C. (1985).** Pre-puberal mammogenesis in the sheep. 1. The effects of level of nutrition on growth and mammary development in female lambs. *Animal Production*, 41, 323-332.
- Johnston, L.J.; Ellis, M.; Libal, G.W.; Mayrose, V.B.; Weldon, W.C. and N.R.C-89 Committee on Swine Management (1999).** Effect of room temperature and dietary amino acid concentration on performance lo lactating sows. *Journal of Animal Science*, 77, 1638-1644.
- Jordan, R.M. and Hanke, H.E. (1970).** Protein requirements of young lambs. *Journal of Animal Science*, 31, 593-597.
- Karsch, F.J.; Goodman, R.L. and Legan, S.L. (1980).** Feed-back basis of seasonal breeding: test of an hypothesis. *Journal of Reproduction and Fertility*, 58, 521-535.
- Katz, L.S.; Price, E.D.; Wallach, S.J.R. and Zenchak, J.J. (1988).** Sexual performance of rams reared with or without females after weaning. *Journal of Animal Science*, 66, 1166-1173.
- Ketelaars, J.J.M.H. and Tolkamp, B.J. (1992).** Toward a new theory of feed intake regulation in ruminants. 1.Causes of differences in voluntary feed intake: Critique of current views. *Livestock Production Science*, 30, 269-296.

- Ketut sutama, Y. and Edey, T.N. (1985).** Reproductive development during winter and spring of Merino rams lambs grown at three different rates. *Australian Journal of Agriculture Research*, 36, 461-467.
- Kilgour, R.J. (1984).** Le comportement des béliers en saillie naturelle et sa prediction In: *Proceedings IX Journées de la recherche ovine et caprine*. pp: 240-251. France.
- Kilgour, R.J. and Whale, R.G. (1980).** The relation between mating activity of rams in pens and subsequent flock mating performance. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, 20, 5-8.
- Kilgour, R.J. and Wilkins, J.F. (1980).** The effect of serving capacity of the ram syndicate on flock fertility. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, 20, 662-666.
- Knight, T.W. (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, T.W. (1984).** Testicular growth and size in rams from flocks of different reproductive potential. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 27, 179-187.
- Koenig, J.M.; Boling, J.A. and Bull, L.S. (1980).** Energy and protein metabolism in ewes as influenced by age and dietary protein-calorie ratio. *Journal of Animal Science*, 51, 1011-1021.
- Kyriazakis, I. and Oldham, J.D. (1993).** Diet selection in sheep: the ability of growing lambs to select a diet that meets their crude protein (nitrogen x 6,25) requirements. *British Journal of Nutrition*, 69, 617-629.
- Lafortune, E.; Hochereau-de Reviere, M.T.; Perreau, C.; Blanc, M.R.; Orgeur, P.; Pelletier, J. et Terqui, M. (1982).** Evolutions comparées des teneurs

plasmáticas de Fsh, Lh et la testostérone entre la naissance et la puberté chez l'agneau en fonction de la saison et de la race. In: *III Congrès Français D'endocrinologie*. pp: 124. France.

**Land, R.B. (1970).** The mating behaviour and semen characteristics of Finnish Landrace and Scottish Blackface rams. *Animal Production*, 12, 551-560.

**Land, R.B. (1973).** The expression of female sex-limited characters in the male. *Nature*, 241, 208-209.

**Land, R.B. and Sales, D.I. (1977).** Mating behaviour and testis growth of Finnish Landrace, Tasmanian Merino and crossbred rams. *Animal Production*, 24, 83-90.

**Langford, G.A. and Marcus, G.J. (1982).** Influence of sperm number and seminal plasma on fertility of progestagen-treated sheep in confinement. *Journal of Reproduction and Fertility*, 65, 325-329.

**Lavín, P. (1996).** *Los sistemas de producción ovina en la provincia de León: factores condicionantes de su distribución y estructura*. Tesis Doctoral. Universidad de León. León, España.

**Lawrence, T.L.J. and Fowler, V.R. (1997).** *Growth of Farm Animals*. C.A.B. International. Wallingfor, UK.

**Leathem, J.H. (1975).** Nutritional influences on testicular composition and function in mammals. *Handbook Physiology*, 5, 225-232.

**Lee, V.W.K.; Cumming, I.A.; De Kretser, D.M.; Findlay, J.K.; Hudson, B. and Keogh, E.J. (1976).** Regulation of gonadotrophin secretion in rams from birth to sexual maturity. I. Plasma Lh, Fsh and testostérone levels. *Journal of Reproduction and Fertility*, 46, 1-6.

- Levasseur, M.C. y Thibault, C. (1984).** Ciclos vitales reproductivos. En: *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales* (4ª Edn.). pp: 124-143. (Ed. E.S.E. Hafez). Interamericana. México, D.F., Méjico.
- Levis, D.G.; Ford, J.J. and Christenson, R.K. (1997).** An evaluation of three methods for assessing sexual behaviour in boars. *Journal of Animal Science*, 75, 348-355.
- Lincoln, G.A. (1976).** Seasonal variation in the episodic secretion of luteinizing hormone and testosterone in the ram. *Journal of Endocrinology*, 69, 213-226.
- Lincoln, G.A.; Lincoln, C.E. and Mcneilly, A.S. (1990).** Seasonal cycles in the blood plasma concentration of FSH, inhibin and testosterone and testicular size in rams of wild, feral and domesticated breeds of sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*, 88, 623-633.
- Lindsay, D.B. (1976).** Amino acids as sources of energy. In: *Protein Metabolism and Nutrition*. pp: 183-195. (Ed. D.J.A. Cole, K.N. Boorman, P.J. Buttery, D.Lewis, R.J. Neale and H. Swan). Butterworths. London, UK.
- Lindsay, D.R.; Gherardi, P.B. and Oldham, C.M. (1976).** The effect of feeding a high protein supplement before joining on testicular volume of rams. In: *Proceedings of the International Sheep Breeding Congress*. pp: 294-298. Australia.
- Lindsay, D.R.; Pelletier, J.; Pisselet, C. and Courot, M. (1984).** Changes in photoperiod and nutrition and their effect on testicular growth of rams. *Journal of Reproduction and Fertility*, 71, 351-356.
- Lino, B.F. (1972).** The output of spermatozoa in rams. 2. Relationship to scrotal circumference, testis weight, and the number of spermatozoa in different parts of the urogenital tract. *Australian Journal of Biology Science*, 25, 359-366.

- Liu, S.M.; Lobley, G.E.; MacLeod, N.A.; Kyle, D.J.; Chen, X.B. and Ørskov, E.R. (1995).** Effects of long-term protein excess or deficiency on whole-body protein turnover in sheep nourished by intragastric infusion of nutrients. *British Journal of Nutrition*, 73, 829-839.
- Lobley, G.E.; Alexmary, C.; Milne, E.; Newman, A.M. and Ewing, T.A. (1994).** Protein synthesis in splanchnic tissues of sheep offered two levels of intake. *British Journal of Nutrition*, 71, 3-12.
- Lobley, G.E.; Webster, A.J.F. and Reeds, P.J. (1978).** Protein synthesis in lean and obese Zucker rats. *Proceeding of the Nutrition Society*, 37, 20A.
- López Sebastián, A. (1989).** Mecanismos endocrinos de la reproducción. *Ovis*, 1, 11-73.
- Louda, F.; Doney, J.M.; Stolc, L.; Krizek, J. and Smerha, J. (1981).** The development of sexual activity and semen production in ram lambs of two prolific breeds: Romanov and Finnish Landrace. *Animal Production*, 33, 143-148.
- Louis, G.F.; Lewis, A.J.; Weldon, W.C.; Miller, P.S.; Kittok, R.J. and Stroup, W.W. (1994).** The effect of protein intake on boar libido, semen characteristics, and plasma hormone concentrations. *Journal of Animal Science*, 72, 2038-2050.
- Maloney, S.K. and Mitchell, D.(1996).** Regulation of ram scrotal temperature during heat exposure, cold exposure, fever and exercise. *Journal of Physiology*, 15, 421-430.
- Manso, T. (1994).** *Crecimiento y composición corporal durante el periodo anterior y posterior al destete en corderos de raza churra sometidos a distintas estrategias de alimentación.* Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.

- Manso, T.; Frutos, P.; López, J.; Lavín, P.; Castro, T. y Mantecón, A.R. (1997).** Respuesta de corderos merinos durante la fase de crecimiento-cebo: Sistema intensivo vs pastoreo. *Avances en Alimentación y Mejora Animal*, 37, 9-11.
- Manso, T.; Mantecón, A.R.; Giráldez, F.J.; Lavín, P. and Castro, T. (1998).** Animal performance and chemical body composition of lambs fed diets with different protein supplements. *Small Ruminant Research*, 29, 185-191.
- Martin, G.B. and Walkden-Brown, S.W. (1995).** Nutritional influences on reproduction in mature male sheep and goats. *Journals of Reproduction and Fertility*, 49, 437-449.
- Martin, G.B.; Sutherland, S.R.D. and Lindsay, D.R. (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, G.B.; Tjondronegoro, S. and Adams, N.R. (1989).** Effect of changes in nutritional status on Lh secretion in rams. *Proceedings of the Australian Society of Reproduction Biology*, 21, 6.
- Martin, G.B.; White, C.L.; Markey, C.M. and Blackberry, M.A.(1994a).** Effects of dietary zinc deficiency on the reproductive system of young male sheep: testicular growth and the secretion of inhibin and testosterone. *Journal of Reproduction and Fertility*, 101, 87-96.
- Martin, G.B.; Tjondronegoro, S. and Blackberry, M.A. (1994b).** Effects of nutrition in 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, I.C.A. and Purvis, I.W. (1984).** Toward quantification of procedures for collection of semen rams by electroejaculation. In : *Reproduction in Sheep*. pp: 89-91. (Ed. D.R. Lindsay and D.T.Pearce). Cambridge University Press. Cambridge, UK.

- Martin, I.C.A. and Watson, P.F. (1976).** Artificial insemination of sheep: Effects on fertility of number of spermatozoa inseminated and of diluted semen for up to 18 hours at 5 °C. *Theriogenology*, 5, 29-35.
- Martínez, R.S.; Mantecón, A.R.; Chico, M.D.; Anel, L.; Álvarez, M.M.; Jurado, J.J.; Díaz, C.; Pérez, J. y Aparicio, N. (1999).** Origen y características de la raza Assaf En: *Antecedentes históricos y bases de un programa de mejora genética y selección de la raza Assaf española*. pp: 5-6 (Ed. C.S.I.C). León, España.
- Masters, D.G. and Fels, H.E. (1984).** Seasonal changes in the testicular size of grazing rams. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 15, 444-447.
- Mattner, P.E. and Voglmayr, J.K. (1962).** A comparison of ram semen collected by the artificial vagina and by electroejaculation. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, 2, 78-81.
- Maun, M.E.; Cahill, W.M. and Davis, R.M. (1945).** Morphological studies of rats deprived of essential amino acids. I. Phenylalanine. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 39, 294-300.
- Maun, M.E.; Cahill, W.M. and Davis, R.M. (1946a).** Morphological studies of rats deprived of essential amino acids. II. Leucine. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 40, 173-178.
- Maun, M.E.; Cahill, W.M. and Davis, R.M. (1946b).** Morphological studies of rats deprived of essential amino acids. III. Histidine. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 41, 25-31.
- McManus, W.R.; Reid, J.T. and Donaldson, L.E. (1972).** Studies of compensatory growth in sheep. *Journal of Agriculture Science, Cambridge*, 79, 1-12.

- McNeilly, J.R.; McNeilly, A.S.; Walton, J.S. and Cunningham, F.J.(1976).** Development and application of a heterologous radioimmunoassay for ovine follicle stimulating hormone. *Journal of Endocrinology*, 70, 69-79.
- Mehrez, A.Z. and Ørskov, E.R. (1978).** Protein degradation and optimum urea concentration in cereal-based diets for sheep. *British Journal of Nutrition*, 40, 337-345.
- Mickelson, W.D.; Paisley, L.G. and Dahmen, J.J. (1981b).** The effect of scrotal circumference, sperm motility and morphology in the ram on conception rates and lambing percentage in the ewe. *Theriogenology*, 16, 53-59.
- Mickelson, W.D.; Paisley, L.G. and Dahmen, J.J. (1982).** The relationship of libido and serving capacity test scores in rams on conception rates and lambing percentage in the ewe. *Theriogenology*, 18, 79-86.
- Mickelson, W.D.; Paisley, L.G. and Dahmen, J.S. (1981a).** The effect of season on the scrotal circumference and sperm motility and morphology in rams. *Theriogenology*, 16, 45-51.
- Millar, R. and Fairall, N. (1976).** Hypothalamic, pituitary and gonadal hormone production in relation to nutrition in the male Hyrax (*Procavia capensis*). *Journal of Reproduction and Fertility*, 47, 339-341.
- Morrell, J.M.; Kuderling, I. and Hodges, J.K. (1996).** Influence of semen collection method on ejaculate characteristics in the common marmoset, *Callithrix jacchus*. *Journal of Andrology*, 17, 164-172.
- Munro, H.N. (1964).** General aspects of the regulation of protein metabolism by diet and by hormones. In: *Mammalian Protein Metabolism*. Vol. I. pp: 381-481. (Ed. H.N. Munro and J.B. Allison). Academic Press. New York, USA.

- Murray, P.J.; Rowe, J.B.; Pethick, D.W. and Adams, N.R. (1990).** The effect of nutrition on testicular growth in the Merino ram. *Australian Journal of Agriculture Research*, 41, 185-195.
- Neutze, S.A.; Gooden, J.M. and Oddy, V.H. (1997).** Measurement of protein turnover in the small intestine of lambs. 2. Effects of feed intake. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 128, 233-246.
- Newbold, J.R.; Garnsworthy, P.C.; Buttery, R.J.; Cole, D.J.A. and Haresign, W. (1987).** Protein nutrition of growing cattle: Food intake and growth responses to rumen degradable protein and undegradable protein. *Animal Production*, 45, 383-394.
- Noakes, D.E. (1988).** The normal genital organs. In: *Fertility and Infertility in Veterinary Practice* (4<sup>th</sup> Edn.). pp: 11-38. (Ed. J.A. Laing, W.J. Brinley Morgan and W.C. Wagner). Baillière Tindall. London, UK.
- Nocek, J. (1997).** Bovine Acidosis: Implications on laminitis. *Journal of Dairy Science*, 80, 1005-1028.
- Nocek, J.E. and Kessler, E.M. (1980).** Growth and rumen characteristics of Holstein steers fed pelleted or conventional diets. *Journal of Dairy Science*, 63, 249-254.
- Notter, D.R.; Lucas, J.R. and McClaugherty, F.S. (1981).** Accuracy of estimation of testis weight from in situ testis measures in ram lambs. *Theriogenology*, 15, 227-234.
- Notter, D.R.; Lucas, J.R.; McClaugherty, F.S. and Copenhaver, J.S. (1985).** Breed group differences in testicular growth patterns in spring-born ram lambs. *Journal of Animal Science*, 60, 622-631.

- Nozière, P.; Attaix, D.; Bocquier, F. and Doreau, M. (1999).** Effects of underfeeding and refeeding on weight and cellularity of splanchnic organs in ewes. *Journal of Animal Science*, 77, 2279-2290.
- Okólski, A.; Szuperski, T. and Bielánski, W. (1971).** Sexual behaviour and semen characteristics of rams during severe underfeeding. *Bulletin de L'académie Polonaise des Sciences: Série des Sciences Biologiques*, 19, 701-705.
- Oldham, C.M.; Adams, N.R.; Gherardi, P.B.; Lindsay, D.R. and Mckintosh, J.B. (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.
- Orgeur, P.; Mimouni, P.; Leboeuf, B. et Signoret, J.P. (1988).** Effet de l'expérience sociale au cours du développement sur le comportement sexuel et la production spermatique de jeunes boucs. *Annales de Zootechnie*, 37, 99-110.
- Ørskov, E.R. and McDonald, I. (1979).** The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 92, 499-503.
- Ørskov, E.R.; Davies, P.J.; Dickson, I.A.; Humphries, A.B.; Rutter, W. and Treacher, T.T. (1972).** Protein utilization and performance of early-weaned lambs. *Animal Production*, 15, 183-187.
- Ørskov, E.R.; Fraser, C. and Corse, E.L. (1970).** The effect on protein utilization of feeding different protein supplements via the rumen or via the abomasum in young growing sheep. *British Journal of Nutrition*, 24, 803-809.
- Ørskov, E.R.; McDonald, D.A.; Grubb, D.A. and Pennie, K. (1976).** The nutrition of the early weaned lamb. IV. Effects on growth rate, food utilization and body composition of changing from a low to a high protein diet. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 86, 411-423.

- Ørskov, E.R.; McDonald, I.; Fraser, C. and Corse, E.L. (1971).** The nutrition of the early weaned lamb. III. The effect of ad libitum intake of diets varying in protein concentration on performance and on body composition at different live weights. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 77, 351-361.
- Parker, G.V. and Thwaites, C.J. (1972).** The effects of undernutrition on libido and semen quality in adult Merino rams. *Australian Journal of Agricultural Research*, 23, 109-115.
- Payne, E. and Laws, L. (1978).** Tissue enzyme levels as indices of protein status in sheep. *Journal of Nutrition*, 39, 441-449.
- Pelletier, J. and Almeida, G. (1987).** Short light cycles induce persistent reproductive activity in Ile-de France rams. *Journal of Reproduction and Fertility*, 34, 215-226.
- Pelletier, J.; Garnier, D.H.; de Reviere, M.M.; Terqui, M. and Ortavant, R. (1982).** Seasonal variation in Lh and testosterone release in rams of two breeds. *Journal of Reproduction and Fertility*, 64, 341-346.
- Perez Llano, B. y Mateos Rex, E. (1994).** Desarrollo testicular y producción de testosterona en machos cabríos de las razas verata y malagueña. *Investigación Agraria: Producción y Sanidad Animales*, 9, 13-20.
- Perkins, A. and Fitzgerald, J.A. (1994).** The behavioral component of the ram effect: The influence of ram sexual behavior on the induction of estrus in anovulatory ewes. *Journal of Animal Science*, 72, 51-55.
- Perkins, A.; Fitzgerald, J.A. and Price, E.O. (1992a).** Sexual performance of rams in serving capacity tests predicts success in pen breeding. *Journal of Animal Science*, 70, 2722-2725.

- Perkins, A.; Fitzgerald, J.A. and Price, E.O. (1992b).** Luteinizing hormone and testosterone response of sexually active and inactive rams. *Journal of Animal Science*, 72, 2038-2050.
- Phillips, R.W.; Schott, R.G.; Eaton, N.O. and Simmons, V.L. (1943).** Seasonal variations in the semen of sheep and goats. *Cornell Veterinarian*, 33, 227-235.
- Pomares, C.C.; Galloway, D.B.; Holmes, J.H.G.; Tilbrook, A.J. and Clarke, I.J. (1991).** The effect of lupin and cowpea supplements on reproductive characteristics in rams. *Proceedings of the Australian Society of Reproduction Biology*, 23, 80.
- Porter, R.K. and Andrews, J.F. (1998).** Effects of leptin on mitochondrial 'proton leak' and uncoupling proteins: Implications for mammalian energy metabolism. *Proceedings of the Nutrition Society*, 57, 455-460.
- Price, E.O.; Estep, D.Q.; Wallach, S.J.R. and Dally, M.R. (1991).** Sexual performance of rams as determined by maturation and sexual experience. *Journal of Animal Science*, 69, 1047-1052.
- Purroy, A.; Echaide, H.; Muñoz, F.; Arana, A. and Mendizabal, J.A. (1992).** The effect of protein level and source legume seeds on the growth and fattening of lambs. *Livestock Production Science*, 34, 93-100.
- Purvis, I.W. and Hillard, M. (1997).** Biology and genetics of reproduction. In: *The Genetics of Sheep*. pp: 375-394. (Ed. L. Piper and A. Ruvinsky). C.A.B International. Wallingford, UK.
- Purvis, I.W.; Piper, L.R.; Edey, T.N. and Kilgour, R.J. (1988).** The genetic relationship between ovulation rate and testicular diameter in a random-breeding Merino flock. *Livestock Production Science*, 18, 35-54.
- Purvis, K.; Illius, A.W. and Haynes, N.B. (1974).** Plasma testosterone concentrations in the ram. *Journal of Endocrinology*, 61, 241-253.

- Raadsma, H.W. and Edey, T.N. (1985).** Mating performance of paddock mated rams. I. Changes in mating performance, ejaculate characteristics and testicular size during the joining period. *Animal Reproduction Science*, 8, 79-99.
- Rak, L.P. (1963).** Embryonic mortality in Merino-type sheep. *Animal Breedings*, 31, 370.
- Rathore, A.K. (1968).** Effects of high temperature on sperm morphology and subsequent fertility in Merino sheep. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 7, 270-274.
- Recabarren, S.E.; Jofré, A.; Lobos, A.; Orellana, P. and Parilo, J. (1996).** Effect of arginine and ornithine infusions on luteinizing hormone secretion in prepuberal ewes. *Journal of Animal Science*, 74, 162-166.
- Robertson, J.B. and Van soest, P.J. (1981).** The detergent system of analysis and its application to human foods. In: *The Analysis of Dietary Fiber in Food*. pp: 123-158. ( Ed. W.P.T. James and O. Theander). Marcel Dekker. New York, USA.
- Robison, J.J. (1990).** Nutrition in the reproduction of farm animals. *Nutrition Research Reviews*, 3, 253-276.
- Rompala, R.E. and Hoagland, T.A. (1987).** Effect of level of alimention on visceral organ mass and the morphology and Na, K, adenosinetriphosphatase activity of intestinal mucosa in lambs. *Journal of Animal Science*, 65, 1058-1063.
- Rowe, J.B. and Murray, P.J. (1984).** Production characteristics of rams given supplements containing different levels of protein and metabolisable energy. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 15, 565-568.

- Saacke, R.G. and White, J.M. (1972).** Semen quality test and their relationship to fertility. In: *Proceedings of the IV Technical Conference of Artificial Insemination Reproduction*. pp: 22-27. Virginia, USA.
- Salamon, S. (1964).** The effect of nutritional regimen on the potential semen production of rams. *Australian Journal of Agriculture Research*, 15, 645-656.
- Sanford, L.M.; Palmer, W.M. and Howland, B.E. (1977).** Changes in the profiles of serum Lh, Fsh and testosterone and mating performance and ejaculate volume in the ram during the ovine breeding season. *Journal of Animal Science*, 45, 1382-1391.
- Sanford, L.M.; Palmer, W.M. and Howland, B.E. (1982).** Influence of age and breed on circulating Lh, Fsh and testosterone level in the ram. *Canadian Journal of Animal Science*, 62, 767-776.
- SAS. 1989.** SAS/STAT<sup>®</sup> User's Guide Int. (Version 6, 4<sup>th</sup> Edn.) SAS Institute. Inc., Cary, NC.
- Scales, G.H. and Harrison, A.D. (1920).** Boric acid modification of the kjeldahl method for crop and soils analysis. *Journal of Industrial Engeniering and Chemistry*, 12, 350-354.
- Schanbacher, B.D. (1979).** Increased lamb production with rams exposed to short day lengths during the nonbreeding season. *Journal of Animal Science*, 49, 927-932.
- Schanbacher, B.D.; Gomes, W.R. and VanDemark, N.L. (1974).** Development changes in spermatogenesis, testicular carnitine acetyltransferase activity and serum testosterone in the ram. *Journal of Animal Science*, 39, 85-91.
- Setchell, B.P.(1984).** The functions of the testis and epididymis in rams In: *Reproduction in Sheep*. pp: 62-69. (Ed. D.R. Lindsay and D.T. Pearce). Cambridge University Press. Cambridge, UK.

- Setchell, B.P.; Waites, G.M.H. and Lindner, H.R. (1965).** Effect of undernutrition on testicular blood flow and metabolism and the output of testosterone in the ram. *Journal of Reproduction and Fertility*, 9, 149-162.
- Sharpe, R.M. (1984).** Intratesticular factors controlling testicular function. *Biology of Reproduction*, 30, 29-49.
- Shettles, L.B. (1960).** The relation of dietary deficiencies to male fertility. *Fertility and Sterility*, 11, 88-89.
- Skinner, J.D.; Booth, W.D.; Rowson, L.E.A. and Karg, H. (1968).** The post-natal development of the reproductive tract of the Suffolk ram, and changes in the gonadotrophin content of the pituitary. *Journal of Reproduction and Fertility*, 16, 463-477.
- Smith, J.F. and Murray, G.R. (1996).** Use of bovine oocytes for the evaluation of ram semen. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 56, 304-306.
- Smith, M.F.; Morris, D.L.; Amoss, M.S.; Parish, N.R.; Williams, J.D. and Wiltbank, J.N. (1981).** Relationships among fertility, scrotal circumference, seminal quality, and libido in Santa Gertrudis bulls. *Theriogenology*, 16, 379-397.
- Solomon, G. and Thwaites, C.J. (1997).** Changes in liveweight, body condition and scrotal circumference and their relationships with sexual activity and flock fertility in ethiopian Horro rams over a 3-cycle joining period. *Journal of Agricultural Science*, 128, 117-121.
- Sutherland, S.R.D. and Martin, G.B. (1980).** The effect of a supplement of lupin seed on the testicular size and Lh profiles of Merino and Booroola rams. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 13, 459.

- Tan, P.V. and Bryant, M.J. (1991a).** The effects of dietary supplements of fish meal on the voluntary food intake of store lambs. *Animal Production*, 52, 271-278.
- Tan, P.V. and Bryant, M.J. (1991b).** A note on the response of store lambs to isonitrogenous diets containing rapeseed meal or fish meal. *Animal Production*, 52, 395-399.
- Tayer, S.R. and Bryant, M.J. (1988).** The response of store lambs to dietary supplements of fish meal. 3.Effects of the preceding pattern of growth. *Animal Production*, 47, 393-399.
- Tegegne, A.; Dembarga, Y.; Kassa, T. and Franceschini, R. (1994).** Effect of plane of nutrition and season on body and testicular growth and semen characteristics in Boran and Boran x Friesan bulls in Ethiopia. *Animal Reproduction Science*, 36, 197-209.
- Thompson, J.A.; Buhr, M.M. and Johnson, W.H. (1992).** Scrotal circumference does not accurately predict degree of germinal epithelial loss or semen quality in yearling Hereford and Simmental bulls. *Theriogenology*, 38, 1023-1032.
- Thompson, J.M. and Parks, J.R. (1983).** Food intake growth and mature size in Australian merino and Dorset horn sheep. *Animal Production*, 36, 471-479.
- Thwaites, C.J. (1994).** The effects of feeding supplements containing different amounts and sources of nitrogen on liveweight and the testes of rams during and after mating. *Animal Feed Science and Technology*, 48, 177-184.
- Thwaites, C.J. and Hannan, G.D. (1989).** The effects of frequency of ejaculation and undernutrition on the size and tone of the ram's testes. *Animal Reproduction Science*, 19, 29-35.

- Tilbrook, A.J. and Cameron, A.W.N. (1984).** Ram mating preferences. In: *Reproduction in Sheep*. pp: 53-58. (Ed. D.R. Lindsay and D.T. Pearce). Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- Tilley, J.M. and Terry, R.A. (1963).** A two stage for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of British Grassland Society*, 18, 104-111.
- Tilton, W.A.; Warnick, A.C.; Cunha, T.J.; Loggins, P.E. and Shirley, R.L. (1964).** Effect of low energy and protein intake on growth and reproductive performance of young rams. *Journal of Animal Science*, 23, 645-650.
- Tjondronegoro, S.; Martin, G.B. and Adams, N.R. (1990).** Effect of changes in nutritional status on Fsh secretion in rams. *Proceedings of the Australian Society of Reproduction Biology*, 23, 7.
- Tjondronegoro, S.; Martin, G.B.; Sutherland, S.R.D. and Boukhliq, R. (1996).** Interactions between nutrition, testosterone and inhibin in the control of gonadotrophin secretion in mature rams. *Reproduction, Fertility and Développement*, 8, 855-862.
- Tulley, D. and Burfening, P.J. (1983).** Libido and scrotal circumference of rams as affected by season of the year and altered photoperiod. *Theriogenology*, 20, 435-448.
- Urbaniak, M. (1995b).** Effects of blood meal, fish meal, soyabean meal or casein on growth and body composition in lambs. *Small Ruminant Research*, 18, 213-217.
- Urbanski, H.F.; Koharma, S.G. and Garyfallou, V.T. (1996).** Mechanisms mediating the response of GnRh neurones to excitatory amino acids. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1, 173-181.
- Van Soest, P.J. (1994).** *Nutritional Ecology of the Ruminant*. (2<sup>nd</sup> Edn.). Cornell University. New York, USA..

- Vázquez, I. y Garde, J. (1994).** Reproducción en el morueco de raza Manchega. En: *Ganado Ovino- Raza Manchega*. pp: 91-98. Mundi prensa. Bilbao, España.
- Vijil, E. (1993).** Técnicas de reproducción y planificación de la mejora ovina. En: *I. Jornadas de Reproducción Ovina*. pp: 55-78. (Ed. A.R. Mantecón y Y. Martínez). León, España.
- Waterlow, J.C. (1969).** The assesment of protein nutrition and metabolism in the whole animal, with special reference to man. In: *Mammalian Protein Metabolism* .pp: 1-11 (Ed. H.N. Munro). Academic Press. London, UK.
- Watson, R.H.; Sapsford, C.S. and McCance, I. (1956).** The development of the testis, epididymis and penis in the young Merino ram. *Australian Journal of Agricultural Research*, 7, 574-590.
- Wilkins, J.F. and Kilgour, R.J. (1977).** The repeatability of ram mating performance in pens in consecutive rams. *Theriogenology*, 8, 153.
- Williams, L.M.; Adam, C.L.; Mercer, J.G.; Moar, K.M.; Slater, D.; Hunter, L.; Findlay, P.A. and Hoggard, N. (1999).** Leptin receptor and neuropeptide Y gene expression in the sheep brain. *Journal of Neuroendocrinology*, 11, 165-169.
- Wilson, P.R. and Lapwood, K.R. (1979).** Studies of reproductive development in Rommey rams: I. Basal levels and plasma profiles of Lh, testosterone and prolactin. *Biology of Reproduction*, 20, 965-970.
- Yan, T.; Offer, N.W. and Roberts, D.J. (1996).** The effects of dietary nitrogen sources and levels on rumen fermentation, nutrients degradation and digestion and rumen microbial activity by wether sheep given a high level of molasses. *Animal Science*, 63, 123-131.

- Yilala, K. and Bryant, M.J. (1985).** The effects upon the intake and performance of store lambs of supplementing grass silage with barley, fish meal and rapeseed meal. *Animal Production*, 40, 111-121.
- Zekaria, D.; Landau, S.; Leibovich, H. y Caja, G. (1991).** Sistemas de Producción de Ovino Lechero (I). *Ovis*, 14, 11-91.
- Zhang, B.R.; Larsson, B.; Lundeheim, N. and Rodriguez-Martinez, H. (1998).** Sperm characteristics and zona pellucida binding in relation to field fertility of frozen-thawed semen from dairy AI bulls. *International Journal of Andrology*, 21, 207-216.
- Zhang, J.; Grieve, D.G.; Hacker, R.R. and Burton, J.H. (1995).** Effects of dietary protein percentage and  $\beta$ -agonist administered to prepubertal ewes on mammary gland growth and hormone secretions. *Journal of Animal Science*, 73, 2655-2661.