



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO  
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

Informe de Trabajo Final presentado para optar al  
Grado de Médico Veterinario

Modalidad: Práctica Pre- Profesional

**EFFECTO DE LOS IMPLANTES DE MELATONINA EN LA  
CALIDAD DEL SEMEN OVINO DURANTE EL ANESTRO  
ESTACIONAL**

Estudiante: Carlos Andrés Franco

DNI: 35.627.894.-

Directora: Dra. M.V. M. Isabel Vázquez

Río Cuarto – Córdoba

Noviembre / 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO  
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

**CERTIFICADO DE APROBACION**

Título del Trabajo Final:

*EFECTO DE LOS IMPLANTES DE MELATONINA EN LA CALIDAD DEL  
SEMEN OVINO DURANTE EL ANESTRO ESTACIONAL*

Autor: Carlos Andrés Franco.

DNI: 35.627.894. -

Directora: Dra. M.V. M. Isabel Vázquez

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la Comisión  
Evaluadora:

Dra. M.V. M. Isabel Vázquez \_\_\_\_\_

Mg. M.V. Fernando García Arjona \_\_\_\_\_

Dr. M.V. Pablo Bosch \_\_\_\_\_

Fecha de Presentación:

\_\_\_\_\_  
Secretaria Académica

## **DEDICATORIA**

Dedico mi trabajo final de grado a las personas que son mi sostén, mi motivación y mi ejemplo a seguir cada día de mi vida, mi familia; gracias a ellos he llegado a la meta de uno de mis objetivos. Los amo familia. A mis amigos/hermanos, pilares de mi formación como profesional y como persona, siempre presentes en los momentos lindos y difíciles, dándome la fortaleza necesaria para poder seguir adelante. Y a Dios por ser la guía en mi vida y en toda mi carrera.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Departamento de Reproducción Animal, especialmente a mi directora Dra. Isabel Vázquez y a Martin Chaves, por confiar en mí a la hora de realizar el trabajo, por el aprendizaje brindado en cada momento, por la disponibilidad de su tiempo, por la constante ayuda y motivación que son un ejemplo que hacen superarme cada día.

## INDICE

<b>Introducción.....</b>	<b>5-7</b>
<b>Objetivos</b>	
• <b>Planteados.....</b>	<b>8</b>
• <b>Alcanzados.....</b>	<b>9</b>
<b>Materiales y Métodos.....</b>	<b>10-15</b>
<b>Resultados y Discusión.....</b>	<b>16-18</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>19</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>20-21</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>22</b>

## INTRODUCCIÓN

El ovino es una especie de característica estacional en diversos aspectos reproductivos. La influencia de muchos factores donde se incluyen la nutrición, la genética, la sanidad, la raza y el fotoperiodo, generan variaciones de dichos aspectos, que se traducen en cambios en la eficiencia reproductiva (Senger, 2003).

Por ello, la estacionalidad que presentan los ovinos, es la señal ambiental más importante que regula el inicio de la actividad reproductiva. Se ha descrito que, cuando comienzan a decrecer las horas luz del día (días cortos), los fotorreceptores localizados en la retina ocular captan éste estímulo transmitiendo la información al núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo, que viaja luego hacia el ganglio cervical y por último llega a la glándula pineal, donde la señal recibida se traduce en la producción y la secreción de la melatonina, siendo ésta la principal hormona responsable de la regulación de la estacionalidad (Senger, 2003). A medida que empiezan a incrementarse las horas de luz del día (días largos), se genera una disminución en la secreción de melatonina, llevando a una disminución o cese de la actividad reproductiva, llamado anestro estacional (Aisen, 2004).

Debido a la disminución de los niveles plasmáticos de dicha hormona durante el anestro estacional, se producen variaciones en muchos parámetros reproductivos tanto en la hembra como en el macho, siendo en este último menos marcados (Haresing *et al.*, 1990).

Sin embargo, se sabe que cuando los carneros son expuestos a variaciones estacionales, se generan cambios en el tamaño testicular, observándose un aumento o disminución de los mismos cuando decrecen o incrementan las horas luz del día, respectivamente (Colas, 1980). También dichas variaciones se han observado en algunos estudios realizados sobre la producción espermática, demostrando una disminución en los parámetros seminales cuando el macho es sometido a tratamientos fotoperiódicos de días largos. Esto es debido a la relación que mantienen en ésta etapa los niveles de melatonina con los de testosterona en el plasma seminal y en sangre (Casao *et al.*, 2010). Pero cuando los reproductores fueron expuestos a días cortos con luz artificial (8 hs de luz y 12 hs de oscuridad), generaron cambios en el volumen del eyaculado, no así en la calidad espermática (Boland *et al.*, 1985).

La utilización de implantes subcutáneos de melatonina ha sido aplicada a fin de revertir el efecto que genera la estacionalidad en el macho, produciendo un efecto parecido al que se da

en la estación reproductiva (Haresing *et al.*, 1990), siendo su modo de liberación lenta y manteniendo niveles hormonales altos entre los 40 y los 70 días posteriores a su aplicación, aunque se ha demostrado que puede extenderse hasta los 120 días, encontrándose en altas concentraciones en plasma seminal (Casao *et al.*, 2013).

Con la aplicación de éstos implantes, en carneros, a fines de invierno en el hemisferio sur (anestro estacional), se observó un aumento gradual de la circunferencia escrotal (CE) a los 30 días posteriores al implante, pero no se encontraron diferencias significativas (Bufoni Perazzo, 2013). Sin embargo, en otro estudio realizado en España demostraron un aumento significativo de la CE a los 45 días posteriores al implante, cuando los mismos fueron colocados en primavera y mitad del verano (Palacin *et al.*, 2008).

Con respecto a los parámetros seminales como motilidad en masa, concentración espermática y porcentaje de espermatozoides vivos y muertos, existen resultados contradictorios en la bibliografía revisada. No se observaron diferencias significativas en carneros implantados a fines de invierno (Bufoni Perazzo, 2013); mientras que en estudios realizados en el hemisferio norte donde se administró melatonina en primavera, Garde Lopez- Brea *et al.* (1996) observaron una mejora en el número total de espermatozoides por eyaculado y en el porcentaje de acrosomas intactos, no encontrando variaciones en otros parámetros de la calidad espermática. Otro trabajo indica que no hubo variaciones significativas en éstos parámetros siguiendo el mismo protocolo, aunque si se observaron mejoras cuando los carneros estuvieron expuestos a horas crecientes de luz o fueron sometidos a luz artificial previo a los implantes de melatonina (Rosa *et al.*, 2012).

Por otro lado, la posibilidad de aplicar las biotecnologías reproductivas en la producción animal, permite contar con una herramienta complementaria para facilitar el manejo extensivo e intensivo de las majadas, a fin de eficientizar la producción ovina en el país.

Al respecto, la obtención de semen en los reproductores es una técnica de muy amplia utilización en las diferentes especies. En la especie ovina, uno de los métodos más difundido y de elección, es la vagina artificial (VA), debido a que dentro de sus ventajas incluye la de ser un método que se asemeja a la monta natural, permitiendo obtener una muestra representativa de semen. Dicho eyaculado, una vez obtenido, debe ser evaluado para verificar si reúne las condiciones mínimas necesarias para su posterior utilización y/o procesamiento en el laboratorio (Aisen, 2004).

La evaluación de semen se basa en medir parámetros cuantitativos y cualitativos que permiten caracterizar el eyaculado obtenido de cada reproductor. Dicho proceso consiste en realizar una evaluación macroscópica y una microscópica del semen obtenido (Evans and Maxwell, 1990; Aisen, 2004; Abecia and Forcada Miranda, 2010).

Por todo lo expresado, la hipótesis del presente trabajo es que la utilización de melatonina exógena mejoraría la calidad seminal en los carneros durante el anestro estacional.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVOS PLANTEADOS**

#### **Objetivo de la Práctica Pre-profesional**

Adquirir la metodología y experiencia necesaria en la obtención y evaluación de semen ovino, para lograr un adecuado desenvolvimiento profesional en el campo laboral.

#### **Objetivo General**

Determinar el efecto de los implantes subcutáneos de melatonina en la calidad del semen obtenido de carneros durante el anestro estacional (primavera).

#### **Objetivos Específicos**

- 1- Adquirir experiencia y destreza en la realización de la técnica de obtención de semen con vagina artificial en el ovino.
- 2- Adquirir experiencia y destreza en la realización de la evaluación clínico-reproductiva de los ovinos.
- 3- Aprender la metodología de trabajo necesaria para realizar una correcta evaluación de semen ovino.
- 4- Desarrollar protocolos de trabajo referidos a la actividad implementada.
- 5- Adquirir experiencia en la interpretación de los resultados obtenidos, logrando discutir los mismos con la información precedente del tema.
- 6- Adquirir los conocimientos necesarios para poder determinar si los reproductores evaluados son aptos para su posterior utilización.
- 7- Desarrollar experiencia en la redacción adecuada de un Informe Final.



## **OBJETIVOS ALCANZADOS**

El objetivo planteado de la práctica pre-profesional ha sido logrado de forma efectiva. El trabajo se realizó en las instalaciones del Dpto. Reproducción Animal, permitiendo adquirir experiencia en la realización independiente de las actividades prácticas programadas, así como también en la metodología necesaria para realizar las actividades de manera ordenada y sistemática, lo que será necesario para la inserción laboral futura.

Con respecto al objetivo general y los objetivos específicos del trabajo realizado, se logró concretar todo lo pautado en el proyecto del trabajo.

De esta manera, considero que he logrado adquirir la formación adecuada para la realización de una correcta evaluación clínica-reproductiva de reproductores machos, para la ejecución de trabajos relacionados con la obtención y evaluación de semen ovino, lo cual me beneficiará en la futura práctica a campo. También he logrado adquirir la formación necesaria para la presentación escrita adecuada de protocolos de trabajo, de plan de trabajo específico de las actividades y del presente Informe final.

Durante el desarrollo de la práctica pre-profesional, fui invitado a colaborar activamente en el dictado del curso de capacitación en Inseminación Artificial con semen fresco en ovinos, coordinado por la Dra. M. Isabel Vázquez y el Sr. Martín Chaves, organizado en el mes de junio del presente año por el Dpto. de Reproducción Animal, FAV. Esta experiencia me brindó la oportunidad de adquirir experiencia en docencia y dictados de cursos específicos.

Adicionalmente, el presente trabajo de tesis fue presentado en agosto del corriente año, para su consideración en el concurso de trabajos de investigación en Ciencias Agropecuarias y Ciencias afines a la Producción Animal, realizados por estudiantes universitarios avanzados, organizado por la Asociación Argentina de Producción Animal.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en las instalaciones del Departamento de Reproducción Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC), en Río Cuarto, Córdoba, Argentina (30° 8' S, 64° 20'O); entre los meses de octubre a diciembre del año 2016 (anestro estacional).

Se utilizaron dos (2) carneros adultos de la raza Corriedale, de  $95 \pm 0,25$  kg de peso vivo (PV) promedio y de  $3,5 \pm 0,22$  puntos de condición corporal (escala 1-5), estabulados y entrenados para la obtención de semen con vagina artificial (VA). Ambos animales, se encontraban consumiendo una dieta de mantenimiento (según NRC, 2007), a base de heno de alfalfa y maíz.

Una vez por semana, se procedió a realizar la obtención y evaluación del semen. Para ello, se obtuvo un (1) eyaculado a cada reproductor, por cada día de obtención de semen. Una semana después de iniciado el trabajo (Día -7), se colocaron tres (3) implantes subcutáneos de melatonina (Melovine®, CEVA, España) a cada carnero, en la base de la oreja (Día 0). Tras 29 días desde la colocación de los implantes, se procedió nuevamente a la obtención y evaluación de los eyaculados, una vez por semana, durante 5 semanas consecutivas (entre los meses de octubre y noviembre).

El día de la obtención del eyaculado, previo a la misma, se realizó la higiene de la región prepucial de los carneros, la medición de la circunferencia escrotal (CE) y se evaluó el tono testicular (TT). Luego de realizar la higiene prepucial, los carneros fueron colocados en un corral limpio de piso de cemento, hasta el momento de realizar la obtención del eyaculado.

La CE se determinó con el animal sentado, descendiendo correctamente ambos testículos a la base del escroto, midiendo la zona de mayor circunferencia escrotal, con un escrotímetro autoajustable (Aisen, 2004). Los datos registrados se expresaron en centímetros (cm). Posteriormente se procedió a determinar el TT, mediante la palpación de ambos testículos, desde el polo superior al inferior, aplicando cierto grado de presión con el dedo pulgar, a fin de evaluar la elasticidad y la firmeza de cada uno de los testículos. Se utilizó la escala descrita por Witt (1989) (Tabla 1). Se registró también el tiempo de latencia a la eyaculación (Lat.), definido como el período de tiempo desde la exposición del macho a la hembra hasta el momento de la eyaculación (Delgadillo *et al*, 1999). Los datos se expresaron en segundos (seg.).

**Tabla 1.** Grados de clasificación para la evaluación del tono testicular (TT)  
(Witt, 1989).

<b>Grados</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
Firmeza	Muy firme	Firme	Moderada	Blanda
Elasticidad	Muy elástico	Elástico	Moderada	Baja

Dichas determinaciones de CE, TT y Latencia a la eyaculación, fueron registradas en la planilla diseñada para tomar los datos correspondientes a la obtención de semen (Anexos, planilla 1).

#### ***A- OBTENCIÓN DE SEMEN***

Se realizó la obtención de semen en los corrales ovinos pertenecientes al Dpto. de Reproducción Animal (FAV, UNRC). Para ello, se usó una vagina artificial, con una temperatura interna entre 42-45°C. Se utilizó una hembra ovina encepada como estímulo para la monta.

La muestra fue obtenida en un tubo de vidrio graduado de 3 ml, y protegido con un protector aislante atemperado. Una vez obtenido el eyaculado, fue trasladado hacia el laboratorio, en un termo de transporte con agua atemperada (36°C), y a su llegada, el mismo se colocó en un baño maría termostatzado a 36°C, a fin de proceder a la correspondiente evaluación.

Los datos relevados en la obtención de semen fueron registrados en una planilla formulada para tal actividad (Anexos, planilla 1).

#### ***B- EVALUACIÓN DE SEMEN***

La valoración de la calidad del semen se realizó en el laboratorio de semen perteneciente al Dpto. de Reproducción Animal (FAV, UNRC). El mismo cuenta con el equipamiento mínimo necesario para realizar dicha evaluación seminal: un baño maría termostatzado y regulado a 34-36°C, un microscopio óptico con objetivos de 5x, 10x y 40x, una platina térmica grande para atemperar el material de vidrio, una platina térmica individual-adaptada al microscopio óptico, unas pipetas automáticas tipo Gilson y todo el material de vidrio y/o descartable para realizar el adecuado procesamiento del semen.

A la llegada del semen al laboratorio, cada eyaculado obtenido fue evaluado macroscópica y microscópicamente, según los criteriosos que se detallan a continuación.

### 1- Evaluación Macroscópica

**Volumen**, se determinó por observación directa del tubo de vidrio graduado que contenía el semen y fue expresado en mililitros (ml), según lo descrito por Aisen (2004).

**pH**, se determinó utilizando una cinta reactiva (Neutralit®, MERCK, Alemania), (Aisen, 2004).

**Aspecto**, se determinó por observación directa, utilizando una escala que varía desde cremoso denso a lechoso (Evans and Maxwell, 1990).

**Color**, se determinó por observación directa, utilizando la escala descrita por Abecia and Forcada Miranda (2010).

**Olor**, se determinó mediante olfacción directa en el tubo de vidrio (Aisen, 2004).

**Materiales extraños**, se determinó por observación directa de la superficie, el contenido y el fondo del tubo graduado o en el microscopio al realizar la evaluación de motilidad en masa. Se consideró positivo (presencia) o negativo (ausencia).

### 2- Evaluación Microscópica

**Motilidad en masa (MM)**, se realizó colocando una gota de 13µl de semen sin diluir (puro) sobre un portaobjeto atemperado (36°C), se observó al microscopio óptico con objetivo 5x y sobre la periferia de la gota, se evaluó la presencia de movimiento en remolinos de los espermatozoides. Se utilizó la escala del 0 a 5, en donde cada número representaba una descripción (Evans and Maxwell, 1990) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Clasificación de la motilidad en masa (MM) del semen fresco ovino (Evans and Maxwell, 1990).

<b>Clasificación</b>		<b>Parámetros</b>
<b>5</b>	<i>Muy buena</i>	Densa, ondas de movimiento muy rápidas. No se pueden observar las células individuales. El 90% o más de los espermatozoides son activos.
<b>4</b>	<i>Buena</i>	Movimiento vigoroso, pero las ondas y los remolinos no son rápidos como los de valor 5. Alrededor de 70-85% de celular activas.
<b>3</b>	<i>Regular</i>	Solo aparecen ondas de movimiento lento. Se pueden ver espermatozoides aislados. El 45-65% de las células son activas.
<b>2</b>	<i>Pobre</i>	No aparecen ondas aunque se observan movimiento de espermatozoides. Solo viven el 20-40% de las células espermáticas y su motilidad es pobre.
<b>1</b>	<i>Muy pobre</i>	Muy pocos espermatozoides (alrededor del 10%) presentan signos de vida, pero con movimientos débiles.
<b>0</b>	<i>Muertos</i>	Ningún espermatozoide presenta movimiento.

**Motilidad individual (MI)**, se realizó una dilución 1:200 del semen puro con diluyente comercial (Andromed®, Minitube, Alemania). Luego se colocó una gota del semen diluido en un portaobjeto con cubreobjeto (ambos atemperados), sobre la platina térmica del microscopio (36°C) y se procedió a observar primero con objetivo 10x y luego con 40x, la proporción de espermatozoides que presentaban movimiento progresivo, rectilíneo y uniforme (MPRU). Se clasificó cada eyaculado según el porcentaje (%) de células con MPRU, según lo descrito por Barth (1994) (Tabla 3).

**Tabla 3.** Clasificación de la Motilidad individual (MI) del semen fresco ovino (Barth, 1994).

<b>Espermatozoides con MPRU %</b>	<b>Clasificación</b>
90 - 100%	<i>Excelente</i>
70-80%	<i>Muy buena</i>
50- 60%	<i>Buena</i>
40- 50%	<i>Regular</i>
menos del 40%	<i>Pobre</i>
Sin movimiento	<i>Malo</i>

**Vigor espermático (VE)**, en el mismo portaobjeto utilizado para evaluar MI, se evaluó la fuerza y la trayectoria con que se desplazaba el espermatozoide al realizar el MPRU. Se utilizó una escala del 0-5 (Aisen, 2004) (Tabla 4).

**Tabla 4.** Clasificación del Vigor espermático del semen fresco ovino (Aisen, 2004).

<b>Clasificación</b>	<b>Parámetros</b>
<b>5</b>	Espermatozoides con MPRU energético
<b>4</b>	Espermatozoides con MPRU muy rápido
<b>3</b>	Espermatozoides con MPRU lento y sinuoso.
<b>2</b>	Espermatozoides con movimiento lento, anormal o eventualmente progresivo
<b>1</b>	Espermatozoides sin MPRU, girando sobre sí mismos
<b>0</b>	Espermatozoides inmóviles o muertos

**Porcentaje de vivos/muertos (% V/M)**, se colocó una gota del semen diluido, atemperado, en un extremo del portaobjeto junto con una gota de colorante eosina/nigrosina atemperado, se

homogeneizaron suavemente ambas gotas y se procedió a realizar un extendido de la mezcla. Posteriormente se dejó secar sobre la platina térmica (36°C), luego de lo cual se procedió a realizar el conteo de 200 células en microscopio óptico a 40x de aumento. Se clasificaron como espermatozoides vivos aquellos que se visualizaron transparentes y como espermatozoides muertos los que se observaron de color rosado (Aisen, 2004).

**Morfología espermática (ME)**, con el extendido preparado como se detalló previamente, se realizó el conteo de un mínimo de 200 células, en las cuales se observó la morfología de los espermatozoides, valorando normales y presencia de patologías en las diferentes porciones del espermatozoide (cola, cabeza, acrosoma y/o presencia de gotas citoplasmáticas). El resultado fue expresado en porcentaje de: espermatozoides normales (%N), patologías espermáticas totales (PET), patologías de cabeza, patologías de cola y gotas citoplasmáticas (proximal-GCP y distal-GCD) (Evans and Maxwell, 1990).

**Concentración espermática (Conc. E)**, para realizar ésta valoración, se utilizó una cámara de Neubauer (recomendado por la OMS). Se realizó una dilución 1:600 del semen puro en solución fisiológica formolada atemperada. Luego se cargaron ambas hemicámaras con ésta dilución. Se dejó reposar 5 minutos y se procedió a contar las cabezas de los espermatozoides, utilizando el microscopio óptico con un aumento 40x. El cálculo final de la Conc. E se obtuvo de la siguiente fórmula: la sumatoria de los espermatozoides contados en cada hemicámara multiplicado por un factor de corrección y multiplicado por la dilución utilizada. Se calculó un promedio de la Conc. E obtenida entre ambas hemicámaras y el resultado final fue expresado en millones de espermatozoides/ml de semen (Abecia and Forcada Miranda, 2010).

Todos los datos obtenidos durante la evaluación de semen fueron registrados en la planilla correspondiente a la actividad realizada (Anexos, planilla 2).

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

La CC y los parámetros de la evaluación seminal (volumen, aspecto, MM, MI y VE) se analizaron con un test de ANOVA (SAS Institute, NC, USA; 1999). Los datos de circunferencia escrotal, tono testicular, latencia a la eyaculación y calidad seminal se evaluaron por análisis de varianza utilizando un modelo proc. genmod (SAS Institute, NC, USA; 1999), que incluyó el implante de melatonina (presencia o ausencia) como efecto. Los valores expresados como

porcentajes fueron comparados con la prueba de Chi cuadrado. El nivel de significancia se estableció en  $p < 0,05$ . Todos los resultados se expresan como medias  $\pm$  EE.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de los implantes subcutáneos de melatonina en la calidad del semen obtenido de carneros durante el anestro estacional.

Al respecto, se observó que la circunferencia escrotal fue aumentando, tras 29 días desde la colocación de los implantes de melatonina y hasta el final del experimento. Particularmente se observó un aumento significativo entre las mediciones del día 29 y de los días 50 y 57 ( $p < 0,001$ ) (Tabla 5).

Éstos resultados están en coincidencia con el estudio realizado por Egerszegi *et al.* (2014), en donde los investigadores observaron un aumento significativo de la CE entre los 30-60 días después de la aplicación de la melatonina ( $p < 0,05$ ). En nuestro trabajo, tras 36 días después de la colocación de los implantes con melatonina, la medida de CE fue incrementándose con el transcurso de las semanas ( $p < 0,04$ ). También Buffoni Perazzo (2013), observó que la CE aumentó de forma paulatina en los machos que fueron implantados con melatonina en septiembre; concordando con los resultados publicados por Palacín *et al.* (2008). Sin embargo, en otro trabajo en donde se administró la melatonina a fines de la primavera, el aumento del tamaño testicular no fue significativo (Rosa *et al.*, 2012).

Por otro lado, no se observaron diferencias significativas en la evaluación del TT durante el transcurso del trabajo (Tabla 5). Tampoco se observaron diferencias al evaluar el tiempo de latencia a la eyaculación durante la obtención de semen, antes o después de la colocación de los implantes (Tabla 5).

En nuestro trabajo, no se observó la existencia de un efecto de la hormona sobre los parámetros macroscópicos evaluados en el semen (volumen, aspecto, color y pH) (Tabla 6). Así como tampoco en los parámetros microscópicos de: MM, MI, Vigor y concentración espermática (Tabla 7). Esto quizás, podría ser comprobado en estudios posteriores que incluyan un mayor número de reproductores, ya que Garde López-Brea *et al.* (1996), describen en su trabajo un efecto positivo del tratamiento con melatonina sobre la MM y la concentración espermática, que perduró durante un periodo de 7 semanas. Sin embargo, en coincidencia con nuestros resultados, Egerszegi *et al.* (2014), no encontraron diferencias significativas en la motilidad progresiva (% de los espermatozoides con MRPU) ni en el porcentaje de motilidad total, entre los carneros del grupo MEL (implantados con melatonina) y los controles.



Coincidiendo con los resultados del estudio realizado por Buffoni Perazzo (2013), quien tampoco encontró diferencias significativas para MI, Vigor y relación Vivo/Muerto.

**Tabla 5.** Efecto de la melatonina exógena sobre la circunferencia escrotal (CE), el tono testicular (TT) y el tiempo de latencia a la eyaculación (Lat.) en los reproductores ovinos, en los días previos y posteriores a la colocación de los implantes de la hormona (Día 0= colocación implantes con melatonina) (+ MEL= periodo de tiempo desde la colocación de los implantes de melatonina).

Días	Efecto	CE (cm)	TT (1- 4)	Lat. (seg)
-7	Sin MEL	31,5±0,4 <sup>a</sup>	2	107
0	Sin MEL	30,75±0,5 <sup>a</sup>	2	129
29	+ MEL	31,25±0,3 <sup>a</sup>	2	99
36	+ MEL	32 <sup>b</sup>	2	132
43	+ MEL	33,25±0,3 <sup>b</sup>	1,5±0,4	153
50	+ MEL	35,25±0,5 <sup>b</sup>	1	144
57	+ MEL	35,75±0,4 <sup>b</sup>	1	116

**Nota:** Diferentes superíndices (a, b) indican  $p < 0,05$ .

Por otro lado, al observar la calidad seminal, se encontró un efecto positivo de la utilización de melatonina exógena sobre la calidad espermática, aumentando el porcentaje de espermatozoides normales (%N) ( $p < 0,001$ ), y en consecuencia, disminuyendo el % PET a lo largo de las semanas de estudio ( $p < 0,05$ ) (Tabla 7). Estas diferencias también se observaron en el estudio realizado por Kaya *et al.* (2000), quienes compararon el efecto de la melatonina sobre la calidad seminal, en estación reproductiva y no reproductiva, encontrando diferencias significativas a favor de los animales tratados con melatonina durante el anestro estacional, en los parámetros de morfología espermática y motilidad individual.

**Tabla 6.** Características macroscópicas de la evaluación del semen ovino, en los días previos y posteriores a la colocación de los implantes de melatonina (Día 0= Colocación de implantes).

Días	Vol.(ml)	Aspecto	Color	pH
-7	1,15±0,3	2,5±0,4	3	6,9±0,2
0	1,65±0,2	3	3	6,9±0,2
29	0,95±0,1	3	3	6,9±0,2
36	0,8±0,2	3	3,5±0,4	6,75±0,3
43	1,1±0,2	2,5±0,4	3,5±0,4	6,75±0,3
50	1,3±0,2	2	3	6,75±0,3
57	1,25±0,35	3	3	7

**Tabla 7.** Características microscópicas de la evaluación del semen ovino, en los días previos y posteriores a la colocación de los implantes de melatonina (Día 0= Colocación de implantes).

Días	MM	MI	Vigor	C. Esp.	% N
-7	4,25±0,3	3,75±0,3	3,25±0,3	4852,5±13,3	58±0,6 <sup>a</sup>
0	3,25±0,3	3,25±0,3	3±0,4	3957,5±12,4	60±0,8 <sup>a</sup>
29	4,75±0,3	4,5±0,4	3,75±0,3	3750±12	58,5±0,4 <sup>a</sup>
36	3,75±0,3	4,25±0,3	4,25±0,3	3502,5±9	67,5±1,3 <sup>b</sup>
43	4,25±0,3	4,25±0,3	4,25±0,3	3532,5±13,5	75,5±0,4 <sup>b</sup>
50	4,5	4,75±0,3	4,25±0,3	3180±5,1	81±0,6 <sup>b</sup>
57	4,75±0,3	4,25±0,3	4,25±0,3	3665±7,75	83,5±0,4 <sup>b</sup>

**Nota:** Diferentes superíndices (a, b) indican  $p < 0,05$ .

## **CONCLUSIÓN DEL TRABAJO**

En las condiciones de nuestro trabajo, podemos concluir que la utilización de melatonina exógena en los carneros, aumentó la circunferencia escrotal y el porcentaje de espermatozoides normales a lo largo del periodo experimental, lo cual redundó en una mejor calidad del semen obtenido durante el anestro estacional (primavera).

Sin embargo, sería interesante realizar nuevos estudios a fin de comprobar los efectos de la utilización de dichos implantes sobre la fertilidad de los reproductores ovinos.

## **CONCLUSION DE LA PRÁCTICA PRE-PROFESIONAL**

La práctica pre-profesional me permitió aprender a utilizar las herramientas detalladas en los protocolos de trabajo, aplicar las técnicas específicas de obtención y evaluación del semen ovino, y de esta manera también adquirir los conocimientos necesarios para la utilización de éstas a campo, así como la metodología y la dinámica de trabajo junto a los colaboradores.

La guía y la relación con las personas que me asistieron y colaboraron activamente durante mi trabajo, me permitieron resolver todo tipo de inquietudes que fueron apareciendo a lo largo de la realización de todo el trabajo. También, la revisión bibliográfica y la lectura de los trabajos relacionados al tema, me permitió iniciar el aprendizaje de la discusión de los resultados obtenidos, que trabajados en conjunto con las personas que me guiaron, fue un aspecto muy enriquecedor para ampliar mi punto de vista del tema y que me permitió arribar a la conclusión final.

La interacción y confianza que se generó en el lugar de trabajo, me permitió trabajar dentro de un ambiente tranquilo, permitiéndome aplicar con facilidad las actividades planteadas.

## BIBLIOGRAFIA

1. Abecia Martínez, A. and Forcada Miranda, F. 2010. Manejo reproductivo en ganado ovino. Ed. Servet. Zaragoza, España, 195 p.
2. Aisen, E. y Venturino, A. 2004. Reproducción ovina y caprina. Primera ed. Inter-Médica S.A.I.C.I. Buenos Aires, Argentina, 206 p.
3. Barth, A.D. 1994. Evaluación de la capacidad reproductiva del toro. Manual de los Cursos de Evaluación de Semen organizados por el Instituto de Reproducción Animal de Córdoba (IRAC), Argentina, pág. 67-73.
4. Boland, M.P., Al-Kamali, A.A., Crosby, T.F., Haynes, N.B., Howles, C.M., Kelleher, D.L and Gordon, I. 1985. The influence of breed, season and photoperiod on semen characteristics, testicular size, libido and plasma hormone concentration in rams. *Animal Reproduction Science* 9; 241-252.
5. Buffoni Perazzo, A. 2013. Tesis doctoral, “Efecto de los implantes de melatonina sobre los rendimientos en la obtención de embriones in vivo, la calidad seminal y la actividad reproductiva de ovinos en la región patagónica argentina”. Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Zaragoza, España, 163p.
6. Casao, A., Cebrian, I., Asumpcao, M., Perez-Pe, R., Abecia, J., Forcada, F., Cebrian-Perez, J., Muino-Blanco, T. 2010. Seasonal variations of melatonin in ram seminal plasma are correlated to those of testosterone and antioxidant enzymes. *Reproductive Biology and Endocrinology* 8; 59.
7. Casao, A., Pérez-Pé, R., Abecia, J.A., Forcada, F., Muiño-Blanco, T and Cebrián-Pérez, J.A. 2013. The effect of exogenous melatonin during the non-reproductive season on the seminal plasma hormonal profile and the antioxidant defense system of Rasa Aragonesa rams. *Animal Reproduction Science* 138; 168-174.
8. Colas, G. 1980. Seasonal-variations of semen quality in adult Île-de-France rams .Study of cell morphology and massal motility of sperm. *Reproduction Nutrition Development* 20; 1789-1799.
9. Delgadillo, J.A., Canedo, G.A., Chemineau, P., Guillaume, D and Malpoux, B. 1999. Evidence for an anual reproductive rhythm independent of food availability in male Creole goats in subtropical northern Mexico. *Theriogenology* 52; 727-737.
10. Egerszegi, I., Sarlós, P., Rátky, J., Solti, L., Faigl, V., Kulcsár, M., & Cseh, S. 2014. Effect of melatonin treatment on semen parameters and endocrine function in Black Racka rams out of the breeding season. *Small Ruminant Research*, 116(2); 192-198.

11. Evans, G. and Maxwell, W.M.C. 1990. Salamon's Inseminación artificial de ovejas y cabras. Edición en lengua española, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España, 192 p.
12. Garde López-Brea, J.J., Pérez-Guzmán Palomares, M.D., Pérez Garnelo, S.S., Garzón Sigler, A. and Montoro Angulo, V. 1996. Sperm characteristics of Manchega ram lambs treated by melatonin implants. *Archivos de Zootecnia* 45; 395-401.
13. Haresign, W., Peters, A.R., Staples, L.D. 1990. The effect of melatonin implants on breeding activity and litter size in commercial sheep flocks in the UK. *Animal Production* 50; 111–121.
14. Kaya, A., Baspinar, N., Yildiz, C., Kurtoglu, F., Ataman, M.B., Haliloglu, S. 2000. Influence of melatonin implantation on sperm quality, biochemical composition of the seminal plasma and plasma testosterone levels in rams. *Revue Méd. Vét* 151; 1143–1146.
15. NRC. 2007. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids. National Academy Press. USA, 362 p.
16. Palacín, I., Abecia, J.A., Forcada, F., Casao, A., Cebrian, J.A., Muino, T., Palacios, C. Pontes, J.M. 2008. Effects of exogenous melatonin treatment on out-of-season ram fertility. *Italian Journal of Animal Science*, Vol.7, No.2, pp. 199-206, 1594-4077
17. Rosa, H.J.J., Silva, C.C and Bryant, M.J. 2012. The effect of melatonin treatment in rams on seasonal variation of testicular size and semen production parameters. *Small Ruminant Research* 102; 197-201.
18. Senger, P.L. 2003. Pathways to pregnancy and parturition. Current Conceptions, Inc. USA, 371 p.
19. Witt, A.C. 1989. Evaluación de la capacidad reproductiva del toro. Sitio Argentino de Producción Animal.

## ANEXOS

**Planilla 1.** Modelo de planilla diseñada y utilizada para la realización de la obtención de semen ovino con vagina artificial.

ID	Fecha	Lat. (seg)	Hora	CE (cm)	TT (1-4)	N° salto	N° montas falsas	T° de la VA	Operario	Muestra de semen		Observaciones
										Volumen (ml)	Aspec./color	

**Nota. Lat.:** Tiempo de Latencia a la eyaculación (expresada en segundos); **CE:** Circunferencia escrotal.; **TT:** Tono testicular.

**Planilla 2.** Modelo de planilla diseñada y utilizada para la evaluación del semen fresco ovino.

ID	Fecha	Hora Inicio- final	EVALUACION MACROSCOPICA				EVALUACION MICROSCOPICA								Observaciones			
			Vol. (ml)	Aspec./ color	pH	Cpos. Extr.	MM (0-5)	MI (%)	Vigor (0-5)	Conc. E (spz x 10 <sup>6</sup> )	Relac V/M (%)	N (%)	Patologías (%)					
													PET	Cab		Cola	GC	

**Nota. GC:** Gotas citoplasmáticas.; **ID:** Identificación.; **MI:** Motilidad individual.; **MM:** Motilidad en masa.; **PET:** Patologías espermáticas total