



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA CULIACÁN
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL FUERTE
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL CARRIZO

En la Ciudad de Culiacán Rosales, Sinaloa, el día 20 de enero del año 2020, la que suscribe María Candelaria López Caro, alumna del Programa de Maestría en Ciencias Agropecuarias, con número de cuenta #####, de la Unidad Académica Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la UAS, manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr Javier Alonso Romo Rubio y cede los derechos del trabajo titulado “RESPUESTA AL CONSUMO ADICIONAL DE DIFERENTES NIVELES DE ZINC ORGÁNICO EN LA CALIDAD SEMINAL DE OVINOS DE PELO”, a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa, para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales, todo esto en apego al artículo 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ATENTAMENTE

Dr. Miguel Angel Rodriguez Gaxiola

CORREO ELECTRÓNICO: m_angel@uas.edu.mx

CURP: **ROGM850520HSLDXG09**

Respuesta al consumo adicional de diferentes niveles de Zinc orgánico en la calidad seminal de ovinos de pelo.

Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola

Resumen. El presente estudio se realizó con el objetivo de evaluar la respuesta al consumo adicional de diferentes niveles de zinc orgánico en la calidad seminal de ovinos de pelo. El trabajo se llevó a cabo entre los meses de julio de 2009 a abril de 2010. Se utilizaron 9 borregos de pelo, prepúberes (entre los 3 ½ a 4 ½ meses de edad) con un peso promedio de 13 kg, los cuales fueron asignados a uno de tres tratamientos en un diseño experimental completamente al azar. Los tratamientos consistieron: 1) Testigo (T; n = 3); los borregos recibieron una dieta a base de maíz-soya-forraje, sin adición de zinc; 2) ZnMet35; dieta similar al testigo con adición de 35 ppm de Zn a partir de metionina de zinc (^{MR}Zipro Corporation); y 3) ZnMet70; dieta similar al testigo con adición de 70 ppm de Zn a partir de metionina de zinc. El consumo de dietas adicionadas con 70 ppm de zinc elevó ($P < 0.05$) el volumen del eyaculado (0.9696 vs. 0.7773 y 0.6864 mL) y la cantidad total de espermatozoides por eyaculado (1955.9 vs. 1463 y 1301.1 millones), mejoró ($P < 0.05$) el porcentaje de espermatozoides con morfología normal (92.870 vs. 89.045 y 86.818%) y elevó ($P=0.09$) la concentración plasmática de testosterona (403.87 vs. 332.12 y 264.59 ng/dL), respecto de los borregos que consumieron dietas adicionadas con 35 ppm de zinc orgánico y los del grupo testigo, respectivamente. Sin embargo, los tratamientos no modificaron ($P>0.45$) la concentración espermática, la motilidad masal e individual, la viabilidad espermática, ni la circunferencia escrotal. Los resultados del presente estudio muestran que el consumo de dietas adicionadas con 70 ppm de zinc orgánico eleva el volumen y la producción total de espermatozoides por eyaculado, disminuye la proporción de espermatozoides con anomalías morfológicas y eleva la concentración plasmática de testosterona en ovinos de pelo criados en condiciones subtropicales.

Palabras claves: Zinc, calidad seminal, borregos

Response to the additional intake of different levels of organic Zinc on the seminal quality of hair lambs.

Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola

Abstract. The present study was realized with the objective of evaluate the response at additional intake of different levels of organic zinc on the seminal quality of hair lamb. The investigation was carried between the months of July 2009 to April 2010. Were utilized nine prepuberal hair lambs (between 3.5 to 4.5 months of age) with an average weight of 13 kg, and were assigned to one of three treatments in an experimental design completely randomized. The treatments consisted of: 1) Control (T; n = 3); the lambs received a diet from corn-soybean meal-forage, without addition of organic zinc; 2) ZnMet35, similar diet to control but with the addition of 35 ppm zinc from zinc methionine (^{MR}Zipro Corporation); and 3) ZnMet70, similar diet to control but with the addition of 70 ppm zinc from zinc methionine. Consume of the diet supplemented with 70 ppm organic zinc raised (P<0.05) the seminal volume (0.9696 vs. 0.7773 y 0.6864 mL), and the total spermatozoa for ejaculated (1955.9 vs. 1463 and 1301.1 millions), improved (P<0.05) the percentage of spermatozoa with normal morphology (92.870 vs. 89.045 and 86.818%), and raise (P<0.09) the plasmatic concentration of testosterone (403.87 vs. 332.12 and 264.59 ng/dL), respect of the treatments that received a diet supplemented with 35 ppm of organic zinc and the control group, respectability. However, the treatments not modified (P>0.45) the spermatic concentration, the masal an individual motility, and the scrotal circumference. Results of the present study show that consumption of diet supplemented with 70 ppm of organic zinc raise the ejaculated volume and the total production of spermatozoa, diminish the proportion of spermatozoa with morphologic abnormality and raise the plasmatic concentration of testosterone in hair lambs breeding in the subtropical zone.

Key Word: Zinc, seminal quality, lamb

I. Introducción

El zinc es un elemento traza esencial, requerido para la acción de más de 200 metaloenzimas (Smith y Akinbamizo, 2000); presenta características antioxidantes, contrarrestando la oxidación, al menos, mediante dos mecanismos, por la unión en el grupo sulfhidrilo de las proteínas y por la ocupación del sitio de unión del hierro y cobre en los lípidos, proteínas y ADN (Bray y Bettger, 1990; Zago y Oteiza, 2001). Así, el zinc es un limpiador de los radicales libres de oxígeno, protegiendo al esperma, al igual que a otras células, contra el daño oxidativo y la oxidación de lípidos, inhibiendo la fosfolipasa (Eggert *et al.*, 2002), mejorando la calidad espermática (Rolf y Cooper, 1999). La producción de espermatozoides pasa por muchas divisiones celulares y esto requiere grandes cantidades de zinc, ya que está involucrado en el metabolismo del ácido nucleico y de las proteínas, y es por lo tanto, esencial en la diferenciación y replicación celular (Underwood, 1981). En los túbulos seminíferos activa y mantiene el epitelio germinativo (Wong *et al.*, 2002). Ayuda a codificar los factores de transcripción involucrados en la espermatogénesis (Bedwal y Bahuguna, 1994). En la motilidad espermática controla la utilización de la energía por el sistema del ATP, esto a través de las reservas de energía de los fosfolípidos y mejorando la absorción de oxígeno (El-Masry *et al.*, 1994). Es esencial en la producción de muchas hormonas sexuales, incluyendo la testosterona, gonadotropinas y hormonas relacionadas (Hambidge *et al.*, 1986; Wong *et al.*, 2002), actuando, ya sea, como cofactor enzimático o bien mediante la unión a hormonas peptídicas para lograr su conformación espacial activa o modificando la conformación de los receptores de estas hormonas (Sandstead, 1998). Se ha observado que los corderos alimentados con dietas conteniendo 2.4 ppm de zinc muestran defectos en el crecimiento testicular y un completo cese de la espermatogénesis en un periodo de 20-24 meses, en tanto que en los corderos que reciben dietas adicionadas con 17.4 y 32.4 ppm de zinc a partir de sulfato de zinc, el crecimiento testicular y la producción espermática se reduce marcadamente; sugiriendo, que la adición de 17.4 ppm de Zn en la dieta es adecuado para el crecimiento de los corderos pero

es inadecuado para el desarrollo y función normal de los testículos (Underwood y Somers, 1969). Kumar *et al.* (2006), en un estudio realizado para evaluar diferentes niveles y fuentes de adición de Zn: 0, 35 y 70 ppm de zinc a partir de sulfato de zinc y 35 ppm de propionato de zinc, en las características seminales y concentración sérica de testosterona en toros cruzados, observaron, después de 6 meses, que conforme se incrementó el nivel de adición de zinc se obtuvo mayor volumen del eyaculado en comparación con el control. Además, la concentración espermática (millones/ml); porcentaje de espermatozoides vivos, motilidad individual, espermias anormales, acrosoma intacto y la concentración de testosterona ng/ml^{-1} , fue mayor en los grupos que recibieron dietas adicionadas con Zn en comparación con el grupo control; indicándose que la fuente de Zn orgánico (propionato) tuvo mejor respuesta que la inorgánica (sulfato). El requerimiento de Zn en la dieta para el desarrollo es de 20-33 mg/kg de materia seca; sin embargo, los niveles requeridos para un desarrollo testicular máximo y una adecuada espermatogénesis, son de 32.4 mg/kg de materia seca (Underwood y Somers, 1969), niveles que están por encima del aporte de Zn de una dieta a base de maíz-pasta de soya-forraje, que regularmente se ofrece a los borregos durante la etapa de actividad reproductiva. Por lo que, el objetivo del presente estudio fue evaluar el consumo adicional de diferentes niveles de zinc orgánico en la calidad seminal de ovinos de pelo.

II. Revisión de literatura.

2.1 Situación de la producción ovina en México.

La producción ovina de México tiene características regionales, como consecuencia de los diferentes tipos raciales predominantes en las distintas zonas geográficas del país. La región norteña se caracteriza por la producción de lana (Álvarez, 1995); con el 11% del inventario nacional, donde las razas predominantes son Rambouillet y cruza con ovinos de pelo (Arteaga, 2007). En la zona centro predomina la producción de carne con base en la cría y engorda de ganado criollo cruzado con razas de lana productoras de carne (Suffolk, Hampshire, Rambouillet y Dorset; Álvarez, 1995; Arteaga, 2007); contando con el 52% del inventario nacional (Arteaga, 2007). El 23% de la población ovina está localizado en la zona sur, predominando las razas de pelo (cruzas de Pelibuey, Black Belly, Katahdin y Dorper) y en la región occidente se encuentra el 14%, con rebaños de razas de pelo cruzadas con lanadas (Arteaga, 2007). En las áreas tropicales, la producción se lleva a cabo con razas de pelo (Tabasco o Pelibuey, y la Blackbelly o Panza Negra) debido a su capacidad de adaptación a estas regiones del país (Álvarez, 1995).

En México, en el año de 1999 existía una población ovina de 5 948 764 cabezas, para el 2008 había un inventario de 7 757 267 ovinos, según datos oficiales (Cifra preliminar al 2008, SIAP, SAGARPA). Este dato indica que en 9 años la población de ovinos aumentó en 1 808 503 cabezas, lo que representó un incremento del 30.4 % (SIAP, 2009).

En la última década el tipo de ovino en México ha cambiado, predominado el ganado de pelo. Cerca del 80% de los ovinos que se registran en la Asociación Mexicana de Criadores de Ovinos (AMCO) son razas de pelo (Arteaga, 2007). Lo que indica que la ovinocultura mexicana tenderá a crecer en las zonas de pastizales, en donde el costo de producción sea barato (Arteaga, 2002).

Así mismo, la producción de carne ovina en 1999 fue de 30, 785 toneladas, y para el 2008 cerró con una producción de 51, 275 toneladas, con un aumento en la

producción de 20, 490 toneladas, un 66.6% más con respecto al año de 1999 (SIAP, 2009). A pesar del incremento observado, México sigue siendo deficitario en carne de ovino, recurriendo a las importaciones para satisfacer las necesidades de consumo nacional. Sin embargo, con el incremento de la producción nacional se ha reducido la entrada de carne en los últimos años. En el año 2000 se importaron 53 556 toneladas, lo que representó el 61.6% del consumo nacional, para el año 2006 las importaciones se redujeron a 35 mil toneladas, el 42.4% del consumo nacional (SIAP, 2009), lo que representa un área de oportunidad para la producción ovina nacional.

2.2 Situación ovina en Sinaloa

El estado Sinaloa ha tenido un importante incremento en la población ovina en los últimos años; de contar con una población de 69, 280 cabezas en 1999, pasó a 150, 894 en el año 2008, teniendo un incremento de 81, 614 cabezas en el lapso de nueve años, lo que representó un incremento 117.8%. En ese mismo periodo, el aumento a nivel nacional fue de 30.4% aproximadamente.

En producción cárnica ovina, Sinaloa ocupa el octavo lugar a nivel nacional, con una producción aproximada de 4, 040 toneladas (SIAP, 2009). Esto se puede deber a la alta demanda de la carne, así como también por el precio atractivo que presenta este insumo (Arteaga, 2007); ello ha permitido el desarrollo de la ovinocultura y el incremento de la utilización de razas de pelo, principalmente Pelibuey y Blackbelly, razas caracterizadas por su rusticidad y su eficiencia reproductiva (Notter, 2000).

2.3 Fisiología reproductiva de los ovinos.

La pubertad es un término difícil de definirlo en los animales, ya que se inició como palabra aplicada a los humanos, sin embargo, se menciona que es la etapa en la que se da inicio a la madurez, tanto morfológica como fisiológica, y se acepta, que la pubertad en ovinos se manifiesta con la primera monta con eyaculación, la separación del pene del prepucio, una eyaculación conteniendo 50×10^6 espermatozoides con un 10% de motilidad progresiva (Trejo *et al.*, 2007).

También, la manifestación de la conducta sexual ha sido utilizada para establecer la pubertad (Dyrmundsson, 1973; Trejo *et al.*, 1996; Walkden y Bocquier, 2000).

La edad a la pubertad en los ovinos varía entre estudios, debido a las diferentes metodologías y criterios aplicados para determinarla, las cuales pueden ser: la presencia de espermatozoides con movimiento progresivo en el eyaculado (Valencia *et al.*, 1977); la edad en que ocurre el desprendimiento completo de las adherencias prepuciales (Souza *et al.*, 2000); edad con un eyaculado con concentración de 50×10^6 espermatozoides (Wheaton y Godfrey, 2003); edad con un eyaculado con concentración de 50×10^6 espermatozoides con al menos 10% de motilidad progresiva (Rodríguez, 2001); edad con un eyaculado con al menos 50×10^6 espermatozoides, junto con una motilidad masal mínima de 1 y un máximo de 30% de espermatozoides anormales y que además el cordero sea capaz de completar al menos un servicio con una oveja en celo (Pijoan, 1987); edad en que el cordero es capaz de reproducirse, con una producción mínima de 50×10^7 espermatozoides/mL de semen y con una motilidad progresiva de 60% (Kumi, 1985).

Estudios realizados por Valencia *et al.* (2005) y Galina y Valencia (2008) en México, determinaron la edad a la pubertad de ovinos pelibuey, utilizando como criterios, cuando se obtuvo un eyaculado con al menos 50×10^6 espermatozoides/mL y 50% de motilidad, reportando que los borregos llegan a la pubertad a los 144.07 días de edad y con un peso promedio de 32.60 kg; por su parte indicaron

Al acercarse la pubertad, las espermatogonias empiezan a dividirse aceleradamente por mitosis, mientras en el espacio intersticial las células mesenquimales también comienzan a diferenciarse para dar origen a las células de Leyding. La población de células de Sertoli se define durante la última fase de la gestación y después del nacimiento, siendo controlada principalmente por los niveles de FSH (Galina y Valencia, 2008).

La testosterona, es una hormona esteroide producida por las células de Leyding. Es esencial para el mantenimiento y la restauración de la espermatogénesis, y para desarrollar y mantener las características secundarias masculinas. La acción

de la FSH está más enfocada en las fases gestacional, prepuberal y puberal. En animales adultos los niveles basales de FSH son suficientes para mantener la función espermatogénica normal. La FSH interactúa con los receptores de las células de Sertoli estimulando la producción de Proteínas Vinculantes de Andrógenos (ABP o PVA) e inhibina, y también la división de las células germinales. La inhibina actúa bloqueando la liberación de FSH y estimulando la liberación de LH (Gorndon, 2004).

La hormona LH actúa en el testículo estimulando la secreción de andrógenos por las células de Leyding, y por ende estimulando la proliferación del epitelio seminífero, ya que existen receptores para estos esteroides en las células germinales (Galina y Valencia, 2008).

Aunque la FSH aumenta la viabilidad del epitelio seminífero y la proliferación de las espermatogonias, y los andrógenos sean esenciales para la diferenciación del aparato reproductivo masculino, no son suficientes para el desarrollo normal de la espermatogénesis. El desarrollo de la función testicular requiere también una producción de factores locales y una interacción de célula a célula que regula el crecimiento y la diferenciación del tejido (Gorndon, 2004).

Los factores locales envueltos en las interacciones entre células de Sertoli, de Leyding y germinativas incluyen factor de crecimiento similar a insulina (IGF-1), inhibina, factor β de transformación del crecimiento (TGF- β), oxitocina, vasopresina, opioides, esteroides, citocinas (interleuquinas 1 y 6, y el factor inhibidor de migración de macrófagos-MIF). Estas citocinas son producidas por las células de Sertoli, células germinativas, macrófagos y células de Leyding, y actúan en la modulación de la espermatogénesis (Gorndon, 2004).

2.4 Características reproductivas de los ovinos.

Los sistemas de producción ovina demandan cada vez más una mayor eficacia productiva (Hunter, 1968). Para ello es necesario lograr incrementar la eficiencia reproductiva, ya que a través de esta se puede obtener un mayor número de corderos nacidos, redituando en una mayor producción de carne, lana y leche (Martínez *et al.*, 1992). Pero, para alcanzar esta eficiencia es importante que los

machos ovinos se encuentre en buenas condiciones, ya que de éste depende la proporción de ovejas servidas (Mattiner, 1971) y por ende la cantidad de corderos obtenidos. Para considerar a un ovino como apto para la reproducción, asumiendo que es un animal clínicamente sano, debe cumplir con tres requisitos básicos: buena libido, buen estado clínico reproductivo y buena calidad espermática. La evaluación del semen es un punto importante para la certificación de la aptitud reproductiva en un semental (Gómez y Migliorisi).

Los eyaculados de los ovinos varían en cuanto a cantidad y calidad. El número de espermatozoides por eyaculado depende del volumen y concentración del semen. Las características de calidad incluyen motilidad y morfología de los espermatozoides. Estas características, así como el color y olor del semen, deben ser evaluadas lo más pronto posible después de recogido el semen. La valoración macro y microscópica del material seminal permite determinar la calidad, viabilidad y fertilidad de los espermatozoides. No se dispone de una prueba única para determinar con exactitud la fertilidad de los eyaculados. Pero cuando se combinan cuidadosamente varias de ellas, se puede seleccionar los eyaculados de mejor calidad (Evans y Maxwell, 1990; Aisen, 2004).

2.4.1 Volumen. El volumen puede medirse directamente en el tubo de colección, si está calibrado, o bien con una pipeta calibrada (Evans y Maxwell, 1990; Aisen, 2004). Los animales jóvenes o en condiciones precarias, presentan por lo general eyaculados menos voluminosos. El volumen disminuye con la frecuencia de recogida, ya sea en recogidas en el mismo día, o, a lo largo de varias fechas (Aisen, 2004). El volumen del eyaculado de un carnero depende de la raza, edad, estado general, destreza del operador y la frecuencia de la recogida, pudiendo variar desde 0.3- 1.5 mL (Evans y Maxwell, 1990; Aisen, 2004)).

2.4.2. Concentración. La concentración espermática (número de células espermáticas por unidad de volumen) se suele expresar en espermatozoides/mL. La concentración se puede determinar en forma subjetiva (a través de la apariencia/color del eyaculado), o en forma objetiva, por medio de cámara de recuento microscópico, con fotocolorímetro o turbidímetro. Pudiendo variar desde 1, 200- 7, 000 millones de espermatozoides por mL (Evans y Maxwell, 1990;

Aisen, 2004; Kumar *et al.*, 2010; Clair y Terrill, 1940; Pimental *et al.*, 2005; Wulster *et al.*, 2001).

2.4.3. Motilidad en masa. La cantidad y calidad del movimiento espermático ha sido una manera común de evaluación seminal. El semen del carnero presenta ondas características a la observación microscópica, que se valoran subjetivamente de 0 a 5 puntos, su determinación es rápida y puede ser útil a la hora de establecer si un eyaculado es inicialmente apto; se puede considerar como aceptable de 3 a 5 puntos. Para determinar la motilidad en masa, se coloca una gota de semen sobre un porta objeto limpio, seco y templado a 37°C. Se observan las ondas características con poco aumento (40x o 100x), en el borde de la gota (Evans y Maxwell. 1990; Aisen, 2004). Las muestras con muy buena o buena motilidad (5-4) se pueden utilizar para inseminación artificial (IA). Las muestras con valor 3 o menos, pueden dar una fertilidad menor por lo que se aconseja desecharlas (Evans y Maxwell, 1990; Aisen, 2004). En trabajos de investigación reproductiva con ovinos, se han reportado valores promedios de 4.56 a 4.79 puntos (Kumar *et al.*, 2010; Clair, 1940).

2.4.4 Motilidad individual. Es uno de los parámetros más utilizados en la valoración de semen. Sin embargo, no pronostica en forma ajustada la capacidad fecundante del espermatozoide. Es una estimación del porcentaje de espermatozoides con movilidad. Para determinar la motilidad individual se deposita una gota de semen sobre un portaobjeto limpio, seco y templado a 37°C, y una gota de diluyente isotónico, se homogenizan ambas gotas y se cubren con un cubre objetos. Se observan varios campos con un aumento de 100x a 400x, y se determina el porcentaje de espermatozoide móviles (Evans y Maxwell, 1990; Aisen, 2004). Se considera una muestra con una movilidad correcta, aquellas que oscilan entre 60-90% (Evans y Maxwell, 1990; Aisen, 2004). Se han reportado porcentajes de movilidades en diferentes razas de ovinos, tal es el caso de la Merino con 73.55 ± 1.75 (Kumar *et al.*, 2010), Malpura 76.59 ± 1.75 (Kumar *et al.*, 2010), lanar de Chiapas 63.4 ± 9.7 (Pimental *et al.*, 2005), Rambouillet 84 (Clair, 1940) y Criollo USA con 62.5 (Wulster *et al.*, 2001).

2.4.5 Morfología. El examen morfológico es una prueba de control de calidad. Cada eyaculado contiene una serie de espermatozoides anormales, pero, si su proporción es muy alta, entonces se considera un semen de baja fertilidad. Los espermatozoides anormales se pueden detectar en frotis de semen teñido. Para el examen rutinario de la morfología de los espermatozoides se puede utilizar la tinción de eosina-nigrosina; esta tinción también permite determinar los espermatozoides vivos y muertos. Se observa al microscopio con aumento de por lo menor 400x, se deben observar 100-200 espermatozoides de distintos campos, expresando el dato en porcentaje. Las anomalías se consideran primarias (aquellas que se originan durante la espermatogénesis), secundarias (durante el paso por el epidídimo) y terciarias (posteriores a la eyaculación). Un semen de buena calidad es aquel que presenta un porcentaje de 80-95% de células espermáticas normales (Aisen, 2004; Hafez y Hafez, 2000).

2.4.6 Viabilidad. La determinación del porcentaje de espermatozoides vivos puede realizarse por medio de colorantes que tiñen a los espermatozoides dañados (muertos) y deja incoloros a los íntegros (vivos), tal como la tinción de eosina-negrocina. Se puede aceptar una muestra seminal como normal con un porcentaje de 70-90% de espermatozoides vivos (Aisen, 2004).

2.5 Importancia del zinc en el funcionamiento del organismo y la función reproductiva.

El Zn se caracteriza por ser un elemento ampliamente distribuido en la naturaleza, pero no es abundante, ya que representa sólo el 0.012% de la corteza terrestre (Robert, 1997; González *et al.*, 1998). En los suelos su concentración media es de 50 mg/kg (Barceloux, 1999). Posee una serie de propiedades químicas que lo hacen único y muy útil en varios sistemas biológicos y, por lo tanto, participe de un gran número de procesos metabólicos (Williams, 1989).

En la ganadería ovina bajo sistemas extensivos de pastoreo, pueden verse mermados los parámetros reproductivos, debido a la disponibilidad de nutrientes presentes en el agostadero, sobre todo por el contenido de minerales. Los elementos trazas pueden tener tanto efectos benéficos o perjudiciales,

dependiendo de su equilibrio, sobre la función reproductiva de los ovinos (Vázquez-Armijo *et al.*, 2011).

2.5.1 Características del zinc como micro elemento y su importancia en la función orgánica. El zinc es un elemento químico esencial de número atómico 30 y símbolo Zn situado en el grupo 12 de la tabla periódica de los elementos. Se encuentra en la totalidad de las células, pero existe con mayor abundancia en el músculo esquelético y el hueso, los que contienen el 90% del zinc total del organismo. En el músculo, el encéfalo, los pulmones y el corazón las concentraciones son relativamente estables y no responden a las variaciones del contenido del mineral en la dieta. En otros tejidos como el hueso, los testículos, el pelo y la sangre, la concentración tiende a reflejar la ingesta dietética del mismo (Cousins, 1999). La ubicua distribución del zinc en las células, y el hecho de que es el oligoelemento intracelular más abundante, indica que sus funciones son muy básicas (Torres y Bahr, 2004).

El zinc es un elemento traza esencial requerido para la acción de más de 200 metaloenzimas (Smith y Akinbamizo, 2000); presenta características antioxidantes, contrarrestando la oxidación, al menos, mediante dos mecanismos, por la unión en el grupo sulfhidrilo de las proteínas y por la ocupación del sitio de unión del hierro y cobre en los lípidos, proteínas y ADN (Bray y Bettger, 1990; Zago y Oteiza, 2001). Así, el zinc es un limpiador de los radicales libres de oxígeno, protegiendo al esperma, al igual que a otras células, contra el daño oxidativo y la oxidación de lípidos inhibiendo la fosfolipasa (Eggert *et al.*, 2002), mejorando la calidad espermática (Rolf y Cooper, 1999); también, impide la apoptosis inhibiendo las proteasas implicadas en la muerte celular programada o suprimiendo las endonucleasas dependientes de calcio y magnesio, que causan la apoptosis por fragmentación del DNA (Perry *et al.*, 1997; Chai *et al.*, 1999; Truong *et al.*, 2000; Chimienti *et al.*, 2003).

2.5.2 Función del zinc en la reproducción animal. El uso de carneros con semen de alta calidad es más importante de lo que una vez fue pensado para la obtención de un mayor número de corderos (Alonso, 1978). Estudios han

demostrado que cuando el número de ovejas en calor aumenta en el hato, el número de montas por macho aumenta, aunque el número de montas por hembras disminuye (Hulet *et al.*, 1962; Bryant *et al.*, 1973). Bajo condiciones de confinamiento un carnero que es genéticamente inferior o infértil, puede reducir el número de corderos logrados, extender la época del empadre y lograr una progenie inferior (Hulet *et al.*, 1962; Bryant *et al.*, 1973).

La nutrición es uno de los factores ambientales que ha demostrado ser de gran importancia sobre la reproducción, por lo cual es posible que la aplicación de prácticas que han funcionado con verdadero éxito en ovinos permita mejorar sustancialmente la eficiencia reproductiva (Arbiza, 1986). En tal sentido, se ha observado que el zinc interviene en la diferenciación gonadal, el crecimiento testicular, el desarrollo de los túbulos seminíferos, la espermatogénesis, la esteroidogénesis testicular, el metabolismo de andrógenos y su interacción con los receptores (Prasad, 1984). Es esencial en la producción de muchas hormonas sexuales, incluyendo la testosterona, gonadotropinas y hormonas relacionadas (Hambidge *et al.*, 1986; Wong *et al.*, 2002) actuando, ya sea, como cofactor enzimático o bien mediante la unión a hormonas peptídicas para lograr su conformación espacial activa o modificando la conformación de los receptores de estas hormonas (Sandstead, 1998).

El zinc es esencial para el adecuado funcionamiento del receptor nuclear de la testosterona, al igual que el de todas las hormonas esteroides (Sandstead, 1998). Bajos niveles de zinc sérico se han relacionado con bajas concentraciones de dihidrotestosterona (DHT) en hombres infértiles, y la suplementación con zinc incrementa los niveles de testosterona, DHT y el recuento de espermatozoides (Favier, 1992). También, participa en la síntesis de las hormonas luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH; Prasad, 1984). Om y Chung en 1996, demostraron que el hipogonadismo es causado por la deficiente actividad de las células de Leydig. Además, la disminución de los niveles de LH y testosterona circulantes a causa de la deficiencia de zinc, afecta negativamente la actividad de las células de Leydig siendo esta la causa del hipogonadismo (Om y Chung, 1996).

La producción de espermatozoides pasa por muchas divisiones celulares y esto requiere grandes cantidades de zinc, ya que está involucrado en el metabolismo del ácido nucleico y de las proteínas, y es por lo tanto, esencial en la diferenciación y replicación celular (Underwood, 1981). En los túbulos seminíferos activa y mantiene el epitelio germinativo (Wong *et al.*, 2002); ayuda a codificar los factores de transcripción involucrados en la espermatogénesis (Bedwal y Bahuguna, 1994). Es esencial para la producción de un componente antibacteriano liberado por la glándula de la próstata dentro del semen (Saaranen *et al.*, 1987). En la motilidad espermática controla la utilización de la energía por el sistema del ATP, esto a través de las reservas de energía de los fosfolípidos y mejorando la absorción de oxígeno (El-Masry *et al.*, 1994).

También, se ha observado que el crecimiento testicular se ve dañado y la espermatogénesis se interrumpe en ratas con deficiencia de zinc (Root *et al.*, 1979). En los testículos de ratas con deficiencia de zinc se incrementa significativamente la actividad de la ribonucleasa, la cual hidroliza al ARN, lo que provoca la disminución de la concentración de RNA, DNA y proteínas (Underwood y Somers, 1969). Por su parte, Quinn en 1968 demostró que al incorporar zinc al plasma seminal de borrego, reduce la actividad de la DNase, (Quinn, 1968). La DNase del semen de borregos es particularmente sensible a la inhibición por zinc (Laskowski, 1961).

Se ha observado que los corderos alimentados con dietas conteniendo 2.4 ppm de zinc muestran defectos en el crecimiento testicular y un completo cese de la espermatogénesis en un periodo de 20-24 meses, en tanto que en los corderos que reciben dietas adicionadas con 17.4 y 32.4 ppm de zinc a partir de sulfato de zinc, el crecimiento testicular y la producción espermática fue marcadamente mejor, sin embargo, se indica que la adición de 17.4 ppm de Zn en la dieta es adecuado para el crecimiento de los corderos pero es inadecuado para el desarrollo y función normal de los testículos (Underwood y Somers, 1969).

Kumar *et al.* (2006), en un estudio realizado para evaluar diferentes niveles y fuentes de adición de Zn: 0, 35 y 70 ppm de zinc a partir de sulfato de zinc y 35 ppm de propionato de zinc, en las características seminales y concentración sérica

de testosterona en toros cruzados, observaron después de 6 meses, que conforme se incrementó el nivel de adición de zinc se obtuvo mayor volumen del eyaculado en comparación con el control. Además, la concentración espermática (millones/ml), porcentaje de espermatozoides vivos, motilidad individual, espermias anormales, acrosoma intacto y la concentración de testosterona ng/ml^{-1} , fue mayor en los grupos que recibieron dietas adicionadas con Zn en comparación con el grupo control; indicándose que la fuente de Zn orgánico (propionato) tuvo mejor respuesta que la inorgánica (sulfato). Por su parte, Arthington *et al.* (2002), realizaron un estudio con 325 toros Angus, para evaluar diferentes niveles y fuentes de zinc, utilizando tres diferentes tratamientos: 1) 40 ppm (sulfato de zinc); 2) 40 ppm (66.66% de sulfato de Zinc + 33.33% de proteína de Zinc) y 3) 60 ppm (Zinc sulfato). La suplementación fue por un periodo de 126 días, y se midió la respuesta en morfología, motilidad, anormalidades espermáticas, así como circunferencia escrotal, encontrando una mejor respuesta a la adición de 40 ppm en la que se utilizó la proteína de zinc, indicando de nuevo, que el zinc orgánico promueve una mejor respuesta que el inorgánico. Luque *et al.* (2009), evaluaron el efecto de cuatro niveles de metionina de zinc en 12 ovinos, los cuales fueron divididos en 4 grupos que constituyeron los tratamientos: 0, 15, 30 y 45 ppm de zinc. El estudio se realizó durante 6 meses; no encontrando diferencia entre los tratamientos.

III. Planeamiento del problema

Las dietas, a base de maíz-soya-forraje, que regularmente se utilizan en borregos durante la etapa de crecimiento, contienen aproximadamente 20 mg de Zn/kg de materia seca (MS), cantidad que no cubre los requerimientos de Zn para borregos con peso vivo entre 40 y 50 kg, que es de 47 mg de Zn/día. Dado que un borrego con estos pesos consume entre 1.4 y 1.51 kg de MS/día, el consumo de Zn sería de 28 a 30.2 mg/kg de MS, existiendo una deficiencia promedio de 17 mg de Zn/día. Las deficiencias de Zn en la dieta afectan negativamente la calidad seminal de los borregos en actividad reproductiva, sobre todo cuando los animales están expuestos a factores estresantes. Las altas temperaturas y humedades relativas son algunos de estos factores a los que los borregos en actividad reproductiva están expuestos, dado que, en el Estado de Sinaloa, particularmente en el municipio de Culiacán, la temperatura ambiental promedio durante el año es de 26°C. Durante los meses de Mayo a Octubre se presentan las temperaturas más altas, teniendo en Julio un promedio de 30.4°C, llegando a presentarse temperaturas por arriba de los 40°C y humedades relativas superiores al 80%, lo que contribuye a reducir el desempeño reproductivo de los hatos ovinos en el Estado.

IV. Justificación

En el Estado de Sinaloa se ha incrementado la ovinocultura en la última década, ocupando el octavo lugar en producción de carne ovina, utilizando razas de pelo en esta actividad. De las más utilizadas son la Pelibuey o Tabasco, Black Belly y Kathadin, así como la cruce de éstas, debido a que son animales muy rústicos, prolíficos, sexualmente precoces y no estacionales. La eficiencia reproductiva de los hatos ovinos depende en gran medida del semental, dado que la relación en trabajo reproductivo es de un semental/30 hembras. El sistema de reproducción que más se utiliza en la región es la monta directa, por lo que es importante mantener una óptima calidad seminal en los sementales, para asegurar una elevada tasa de fertilidad en las explotaciones ovinas. Dado que la calidad seminal del borrego, al igual que en otras especies domésticas, se ve afectada por el consumo de dietas deficientes en Zn y por factores estresantes que demandan un mayor requerimiento de este micro mineral para mantener el adecuado funcionamiento del organismo, se plantea que la adición de Zn orgánico a partir de metionina de Zn puede contribuir a mejorar los indicadores reproductivos de las explotaciones ovinas en el estado de Sinaloa.

V. Hipótesis

El consumo adicional de Zn orgánico mejora la calidad seminal del semental ovino.

VI. Objetivo General

Evaluar el efecto del consumo adicional de Zn orgánico a partir de metionina de zinc en la calidad espermática del semental ovino.

6.1. Objetivos específicos:

- 1) Medir el efecto del consumo adicional de Zn orgánico en el volumen del eyaculado
- 2) Medir el efecto del consumo adicional de Zn orgánico en la concentración espermática
- 3) Medir el efecto del consumo adicional de Zn orgánico en la motilidad espermática
- 4) Medir el efecto del consumo adicional de Zn orgánico en la viabilidad espermática
- 5) Medir el efecto del consumo adicional de Zn orgánico en la concentración plasmática de testosterona
- 6) Medir el efecto del consumo adicional de Zn orgánico en el desarrollo testicular.

VII. Material y métodos.

El trabajo se realizó en la Unidad de Ovinos y Caprinos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ubicada en el municipio de Culiacán, Sinaloa, con coordenadas geográficas: 24° 49' 38' latitud Norte, -107° 22' 47' longitud Oeste, con una altitud de 60 msnm; el clima se clasifica como semiseco muy cálido (BS1(h')), con temperatura media anual de 24.9°C con máximas de 45°C en los meses de julio y agosto y mínimas de 7°C en diciembre y enero, la precipitación pluvial es de 671.4 mm con precipitaciones máximas en los meses de julio, agosto y septiembre (UAS, 2009)

7.1 Diseño experimental. Se utilizaron 9 machos ovinos de pelo, prepúberes (entre los 3 ½ a 4 ½ mese de edad) y un peso promedio de 13 kg, los que fueron asignados a uno de 3 tratamientos en un diseño experimental completamente al azar. Los tratamientos consistirán en: 1) Testigo (T; n = 3); los borregos recibieron una dieta a base de maíz-soya-forraje (Cuadro 1) sin adición de zinc; 2) ZnMet35 (n = 3); dieta similar al testigo con adición de 35 ppm de Zn a partir de metionina de zinc (^{MR}Zipro Corporation); y 3) ZnMet70 (n = 3); dieta similar al testigo con adición de 70 ppm de Zn a partir de metionina de zinc.

7.2 Manejo de los animales. Los animales se alojaron en tres corrales totalmente techados, cada corral alojó a 3 animales, los grupos se formaron con animales de peso y edad similar, antes de asignarles el tratamiento. Los animales tuvieron acceso permanente a agua de bebida. El alimento se dio en dos porciones (mañana y tarde).

A la llegada de los animales se tomaron muestras de sangre y de excremento para determinar la presencia o no de hemoparásitos y parásitos gastrointestinales. Los animales recibieron tratamiento farmacológico, con Albendazol (0.075 gr/animal) y Doramectina (5 mg/animal) como tratamiento contra parásitos; fueron vacunados contra *Clostridium* y *Haemophilus*. Se les aplicó vitamina ADE (.5 ml/animal, 250 000 UI de vitamina A, 37 000 UI de vitamina D3 y 25 UI de vitamina E) y minerales

y aminoácidos esenciales (5ml/animal). Tuvieron un periodo de adaptación de 15 días.

Cuadro 1. Composición de dieta (BH) proporcionada a los borregos durante el experimento.

Ingredientes	Inclusión en base humedad (Kg)	
	Base húmeda	Base seca
Rastrojo de maíz	15.0	15.14
Maíz	59.2	59.72
Pasta de soya	18.5	18.67
Melaza de caña	6.0	5.05
Acid- Phos ¹	0.5	0.53
Piedra caliza	0.8	0.89
Total	100 %	100%
Análisis Calculado (en base seca)²		
Proteína cruda %	13.66	
Energía neta de mantenimiento. Mcal/Kg.	1.907	
Calcio %	0.50	
Fósforo %	0.34	
Zinc mg/Kg	19.66	

1. Acid-Phos^{MR} (Técnica Mineral Pecuaria, S.A. de C.V.) Premezcla preventiva para problemas de uriolitiasis.

2. Calculado en base a valores publicados (NRC, 2007).

7.3 Mediciones: Después del periodo de adaptación, los animales recibieron la dieta alimenticia, de acuerdo al tratamiento asignado. En el día 1 (inicio) del experimento se midió la circunferencia escrotal, posteriormente esta medición se realizó cada mes. Al inicio del estudio, también se tomó una muestra sanguínea a cada animal de los diferentes tratamientos para medir los niveles de testosterona y posteriormente se tomaron cada 30 días. Las muestras de sangre se realizaron por punción en la yugular.

El entrenamiento de los borregos para la eyaculación en vagina artificial, se comenzó al inicio de la pubertad, alrededor de los 5 meses de edad, de acuerdo a lo recomendado por Valencia *et al.* (2005).

Entre los meses de marzo y abril, se tomaron muestras seminales cada semana a cada uno de los borregos en estudio. En el semen recolectado se midieron los siguientes parámetros: Volumen del eyaculado, concentración espermática, motilidad espermática, viabilidad espermática y morfología.

7.4 Recolección seminal. La técnica utilizada para la recolección seminal fue por medio de vagina artificial tipo francesa, la cual en su interior permaneció a una temperatura de 40-42°C; el semen se contuvo en un tubo graduado de 10 ml (I.M.V. technology). Inmediatamente después de tener la muestra se coloca en una plantilla caliente a 37 ° C (minitube^R).

7.5 Evaluación seminal

7.5.1 Volumen. El volumen del eyaculado se midió directamente en el tubo de recogida, de acuerdo a lo propuesto por Aisen (2004).

7.5.2 Motilidad masal. Se colocó una gota de semen en una lámina portaobjeto (Pearl 25.4 x 76.2 mm) limpio y temperada a 37°C; se observó con un aumento de 40x, de acuerdo con Mellishon y Gallegos (2006). Se hizo un estimado subjetivo de la motilidad basándose en el vigor de las ondas y su actividad; se cuantificó en niveles de 0 a 5, según lo propuesto por Evans y Maxwell (1990).

7.5.3 Motilidad individual. Se colocó una gota del diluyente y una pequeña gota de semen fresco en un portaobjeto a una temperatura de 37°C, se homogenizaron ambas gotas; se cubrió con un cubreobjeto y se observó con un aumento de 100x. Se observaron varios campos sobre la lámina y se determinó el porcentaje de espermatozoides que mostraron movimiento rectilíneo progresivo. Los espermatozoides que giraron en círculo o avanzaron en forma oscilatoria, fueron considerados con movimientos anormales (Mellishon y Gallegos, 2006).

7.5.4 Concentración espermática. Se realizó el conteo espermático por medio del método fotocolorímetro, utilizando un fotómetro marca spermacue.

7.5.5 Viabilidad y morfología. Para determinar el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos, así como la morfología, se realizó utilizando la técnica de tinción eosina-nigrosina. El procedimiento realizado fue el siguiente:

1. Se colocó, en lugares separados, 1-2 gotas de colorante y una pequeña gota de semen sobre el extremo de un portaobjetos temperado a 37°C, antes de mezclarlas se dejó que las gotas alcanzaran la misma temperatura.
2. Se mezcló el semen y el colorante y se extendió sobre el portaobjeto con la ayuda del borde de otro portaobjetos, de tal manera que se formara una delgada película sobre el portaobjeto.
3. Se dejó secar la muestra y posteriormente se observó al microscopio con un aumento de 100x.
4. Se examinaron 100 espermatozoides de diferentes campos, se anotaron el número de espermatozoides vivos y muertos, así como las diferentes anomalías: sin cola, cabeza agrandada, cabeza pequeña, cola retorcida, cabeza adelgazada, rotura de cuello y rotura de pieza intermedia (Evans y Maxwell, 1990).

7.6. Toma de muestra sanguínea. La muestra sanguínea se tomó por punción yugular, utilizando tubos estériles sin anticoagulantes (Tyco healthcare group), y agujas para sistema bacutainer de roscado (Venojet, 0.8 x 40 mm). Ya tomadas se procedió a separar el plasma, para lo cual se centrifugó (centrifuga C-600, SOL-BAT S.A.), por 15 minutos a 1500 rpm; separado el plasma se pusieron en micro tubos, y se mantuvieron congeladas hasta su análisis.

7.6.1. Determinación de la concentración plasmática de testosterona.

Las muestras de plasma fueron enviadas al laboratorio de reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, donde se determinó la concentración plasmática de testosterona utilizando la técnica de radio-inmuno-análisis en fase sólida, con un kit comercial (TKTT-2).

7.7. Medición de la circunferencia escrotal.

La circunferencia escrotal se midió cada mes, utilizando una cinta métrica en la región de mayor circunferencia de ambos testículos (Méndez *et al.*, 2005); cada una de las mediciones fue registrada.

7.8 Análisis estadístico. A los datos numéricos se les aplicó un análisis de varianza para un diseño completamente al azar (Steel y Torrie, 1985), utilizando el módulo de análisis de Varianza/covarianza del procedimiento para Modelos Lineales Generales de la Versión 8, del Paquete Estadístico Statistix®, se fijó un alfa máximo de 0.05 para aceptar diferencia estadística y se consideró a cada borrego como la unidad experimental.

El modelo matemático es el siguiente:

$$Y_{ijk} = M_i + T_j + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = variable de respuesta

M_i = media general de la característica estudiada.

T_j = Efecto de los diferentes niveles de zinc.

ϵ_{ijk} = error experimental o aleatorio.

VIII. Resultados

El consumo de dietas adicionadas con 70 ppm de zinc elevó ($P < 0.05$) el volumen del eyaculado (0.9696 vs. 0.7773 y 0.6864 mL) y la cantidad total de espermatozoides por eyaculado (1955.9 vs. 1463 y 1301.1 millones), mejoró ($P < 0.05$) el porcentaje de espermatozoides con morfología normal (92.870 vs. 89.045 y 86.818%) y elevó ($P = 0.09$) la concentración plasmática de testosterona (403.87 vs. 332.12 y 264.59 ng/dL), respecto de los borregos que consumieron dietas adicionadas con 35 ppm de zinc orgánico y los del grupo testigo, respectivamente. La información resumida se presenta en el Cuadro 2.

Cuadro 1. Efecto del consumo adicional de diferentes niveles de zinc a partir de metionina de zinc la calidad seminal, concentración sérica de testosterona y desarrollo testicular en ovinos de pelo.

Variable	Tratamientos			EEM ¹	Valor de P
	I Testigo	II 35 ppm ZnMet	III 70 ppm ZnMet		
Semental, n	3	3	3		
Muestra seminal, n	22	22	23		
Volumen, mL	0.6864 ^b	0.7773 ^b	0.9696 ^a	0.0399	0.05
Espermatozoides totales por colección, mill.	1301.1 ^b	1463.0 ^{ab}	1955.9 ^a	131.49	0.05
Concentración, millones/mL	1997.5	1777.5	1932.8	99.322	0.66
Motilidad individual, %	75.909	76.636	79.087	1.8699	0.77
Motilidad masal, escala de 0-5	3.6591	3.5909	3.7174	0.1408	0.93
Viabilidad, %	79.00	81.500	85.609	2.1560	0.45
Morfología normal, %	86.818 ^b	89.045 ^{ab}	92.870 ^a	1.1545	0.05
Circunferencia escrotal inicial, cm	17.167	16.667	17.5	0.9497	0.95
Circunferencia escrotal final, cm	28.667	27.333	28.333	0.7536	0.80
Concentración de testosterona sérica, ng/dL	264.59 ^b	332.12 ^{ab}	403.87 ^a	33.681	0.09

^{a,b} Literales diferentes en el mismo renglón indican diferencias estadísticas significativas

¹ Error Estándar de la Media.

IX. Discusión

La respuesta observada por el consumo adicional de diferentes niveles de Zinc orgánico durante un periodo de 9 meses, indican que el consumo de dietas adicionadas con 70 ppm de zinc a partir de metionina de zinc elevan el volumen del eyaculado ($P < 0.05$) y la concentración sérica de testosterona ($P < 0.09$); estos resultados son similares a los reportados por Kumar *et al.* (2006), quienes al utilizar dietas adicionadas con 0, 35 y 70 ppm de zinc a partir de sulfato de zinc y 35 ppm de propionato de zinc, observaron que a medida que se incremento el nivel de adición de zinc a las dietas ofrecidas a toros cruzados se obtuvo un mayor volumen del eyaculado y concentración sérica de testosterona en comparación con el control. También, Saleh *et al.* (1992), observaron un incremento en el volumen del eyaculado cuando se suplementó con sulfato de zinc en la dieta de caprinos. Sin embargo estos resultados no concuerdan con los encontrados por Luque *et al.* (2009), quienes al suplementar metionina de zinc durante 5 meses a ovinos previos a la evaluación seminal, bajo condiciones climáticas similares a las de este estudio, no observaron modificaciones en el eyaculado. El volumen seminal está constituido principalmente por secreciones de los testículos, epidídimo y glándulas sexuales accesorias, especialmente la glándula prostática, por lo tanto el incremento en el volumen del eyaculado se puede explicar por una mayor actividad en dichos órganos. En tal sentido, se ha reportado que el zinc estimula el crecimiento y el desarrollo de órganos sexuales primarios, secundarios y accesorios en borregos y se ha observado atrofia de estos órganos cuando los borregos son alimentado con dietas deficientes en zinc (Martin *et al.*, 1994). La principal fuente de zinc en el semen es la próstata donde hay altas concentraciones de este micromineral, y es el principal indicador de la función prostática (Elzanaty *et al.*, 2004; Nagamine *et al.*, 1990).

El total de espermatozoides por eyaculado fue modificado ($P < 0.05$) por los tratamientos, observándose que los borregos que recibieron alimento adicionado con 70 ppm de zinc a partir de metionina de zinc, tuvieron una mayor producción espermática por eyaculado, lo que indica una respuesta positiva a la adición del zinc en la espermatogénesis; lo que concuerda a lo observado en hombres (Wong

et al., 2002), borregos (Kendall *et al.*, 2000), toros (kumar *et al.*, 2006), ciervos (Saleh *et al.*, 1992) y conejos (Tharwat, 1998), cuando recibieron dietas adicionadas con zinc. Sin embargo, estos resultados son diferentes a los observados por Luque *et al.* (2009), quienes proporcionaron dietas adicionadas con Zn a niveles máximos de 45 ppm; esta diferencia, puede ser atribuida a los niveles de adición de Zn en las dietas utilizadas en ambos experimentos, ya que en el presente trabajo no se observó una respuesta favorable en la calidad seminal al consumir dietas adicionadas con 30 ppm. La respuesta obtenida con niveles de adicción de 70 ppm, se pudo deber a la mayor cantidad de Zn disponible en el organismo, dado que la producción de espermatozoides pasa por muchas divisiones celulares y esto requiere grandes cantidades de zinc, ya que está involucrado en el metabolismo del ácido nucléico y de las proteínas, y es por lo tanto, esencial en la diferenciación y replicación celular (Underwood, 1981). También, se ha observado que en los túbulos seminíferos activa y mantiene el epitelio germinativo (Wong *et al.*, 2002); ayuda a codificar los factores de transcripción involucrados en la espermatogénesis (Bedwal y Bahuguna, 1994). Además, las enzimas sorbitol deshidrogenasa y lactato deshidrogenasa son metalo enzimas dependientes del zinc, las cuales están involucradas en la espermatogénesis (Eggert *et al.*, 2002). Todo ello puede explicar el incremento en el número de espermatozoides por eyaculado.

El porcentaje de espermatozoide con morfología anormal se redujo ($P < 0.05$) en los borregos que recibieron la dieta adicionada con 70 ppm de zinc a partir de metionina de Zn; estos resultados concuerdan con los reportados por Arthington *et al.* (2002), quienes al proporcionar a toros alimento adicionado con diferentes niveles y fuentes de zinc, por un periodo de 126 días, encontraron una disminución en el porcentaje de anormalidades. Sin embargo estos resultados no concuerdan con los reportado por Kumar *et al.* (2006), Saleh *et al.* (1992) y Luque *et al.* (2009), quienes no observaron una respuesta favorable del consumo adicional de zinc en la reducción de anormalidades espermáticas en toros, cabras y borregos, respectivamente.

Las anomalías espermáticas se deben a fallas en la espermatogénesis (Barth y Oko, 1989; Barrio, 2002) relacionadas con los cambios cualitativos y cuantitativos del material nuclear y de los órganos de origen citoplasmático, (De Serrano *et al.*, 1989) así como por perturbaciones bioquímicas del plasma seminal, debido a procesos inflamatorios del testículo y de las glándulas sexuales accesorias, el aumento o disminución de la temperatura en el testículo y por manipulaciones del semen durante su procesamiento. (De Serrano *et al.*, 1989) Como ya se mencionó los espermatozoides pasan por diversas divisiones celulares (Underwood, 1981), por lo que al contar con una adecuada cantidad de zinc, la espermatogénesis pudiera llevarse a cabo con menores fallas. De esta manera disminuyendo las anomalías espermáticas. Los resultados de Kumar *et al.* (2006), Saleh *et al.* (1992) y Luque *et al.* (2009), puede ser que no concuerden con los reportados en este trabajo, posiblemente que contaban con los niveles de zinc óptimos para una espermatogénesis adecuada. Underwood y Somers (1969) reportan que la suplementación con zinc a borregos, aumenta la producción diaria de espermias y reduce la proporción de anomalías espermáticas, concordando con lo encontrado en este trabajo.

Los borregos que recibieron alimento adicionado con 70 ppm de zinc, tuvieron niveles plasmáticos de testosterona más elevados ($P=0.09$), en comparación con los otros tratamientos (403.87 vs. 332.12 y 264.59 ng/dL). Estos resultados concuerdan con los reportados en toros (Kumar *et al.*, 2006; Xin *et al.*, 2007), en humanos (Hartoma *et al.*, 1977) y en conejos (El-Masry *et al.*, 1994). Sin embargo, estos resultados son diferentes a los observados por Luque *et al.* (2009). El aumento de los niveles plasmáticos de testosterona, se puede atribuir al importante papel del zinc en la esteroidogénesis testicular, ya que activa el sistema adenil ciclasa, que estimula la síntesis de testosterona (El-Masry *et al.*, 1994), además, es un componente de las proteínas involucradas en las síntesis y secreción de testosterona (Kumar *et al.*, 2006), se sabe que estimula las células de Leyding y aumenta la producción de testosterona (Fang y Furushasi, 1978).

La concentración espermática, motilidad masal, motilidad individual y circunferencia escrotal no fueron modificadas ($P > 0.45$) por los tratamientos. Estos

resultados son similares a los observados por Luque *et al.* (2009) y Arthington *et al.* (2002).

Los resultados obtenidos en los diferentes estudios indican que la mejora de la calidad seminal en las distintas especies animales está relacionada con los niveles y fuentes de Zn adicionado a la dieta, por lo que es necesario seguir investigando los niveles de adición en los que se obtenga una mejor respuesta en la calidad seminal de los borregos, dado que la cantidad de estudios es limitada en esta especie animal y en especial en animales criados bajo condiciones de trópico seco.

X. Conclusiones

El consumo de dietas adicionadas con 70 ppm de zinc orgánico a partir de metionina de zinc eleva el volumen y la producción total de espermatozoides por eyaculado, disminuye la proporción de espermatozoides con anomalías morfológicas y eleva la concentración plasmática de testosterona en ovinos de pelo criados en condiciones subtropicales.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo económico brindado por el Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI) y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por el apoyo económico y las facilidades brindadas para la realización del este trabajo.

XI. Bibliografía.

- Aisen E. G. 2004. Reproducción ovina y caprina. INTER-médica. Pags. 206.
- Alonso J. I. 1978. Lamb and wool production from targhee and crossbred targhee range ewes. Tesis de maestría, Departamento de Ciencias Animal. Utah State University, Utah, EUA.
- Álvarez L. J. A. 1995. Oferta y demanda de ovinos en México(Estadísticas). Memorias del curso; Experiencia en la Producción de ovinos de pelo en el CEIEGT. Universidad Nacional Autónoma de México. México. pp 1-7, 1995.
- Arbiza A. S. I. 1986. Producción de caprinos. A .G . T. Editor, S.A. México, D.F. 194- 217, 246-247, 564.
- Arteaga C. J. 2002. Situación actual y perspectivas de la industria ovina en México. Revista del Borrego.Numero especial. Julio-Octubre 2002. Disponible: http://www.borrego.com.mx/archivo/nespecial/fe_perspe.php.
- Arteaga C. J. 2007. Diagnóstico actual de la situación de los ovinos en México. Revista del Borrego. Numero 46 mayo-junio 2007. Disponible: <http://www.borrego.com.mx/archivo/n46/f46diagnostico.php>.
- Arthington J. D, K. R. Johnson, R. L. Corah, C. L. Willms and D. A. Hill. 2002. The effects of dietary Zinc concentration and source on yearling bull growth and fertility. The Professional Animal Scientist 18: 282-285.
- Barceloux D. G. 1999. Zinc. J Toxicol Clin Toxicol 1999; 37(2):279-292.
- Barrio A. D. 2002. Evaluación de la calidad y capacidad fecundante de espermatozoides de la cola del epidídimo de toros post-morten. XI Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal. Valera 22 al 26 de Octubre. ULA-Trujillo.
- Barth A. D and R. J. Oko. 1989. Abnormal morphology of bovine spermatozoa. Iowa State University. Press/Ames. 285 pgs.
- Bedwal R. S and A. Bahuguna. 1994. Zinc, copper and selenium in reproduction. Experientia. 50: 625–640.
- Bray T. M. and W. J. Bettger. 1990. The physiological role of zinc as an antioxidant. Free Radic Biol Med 8,281–291.
- Bryant M. J. and T. Tompkins. 1973. Sexual behavior of sheep. Vet. Rec. Sep. 1.

- Chai F., A. Q. Truong-Tran, L. H. Ho and P. D. Zalewski. 1999. Regulation of caspase activation and apoptosis by cellular zinc fluxes and zinc deprivation: a review. *Immunol Cell Biol* 77,272–278.
- Chimienti F., M. Aouffen, A. Favier and M. Seve. 2003. Zinc homeostasisregulating proteins: new drug targets for triggering cell fate. *Curr Drug Targets* 4,323–338.
- Clair E. T. 1940. Comparison of ram semen collection obtained by three different methods for artificial insemination. *J Anim Sci.* 1940:201-207.
- Cousins R. J. 1999. Cinc. En: Ziegler EE, Filer LJ. Conocimientos actuales sobre nutrición. Séptima Educación. Washington: International Life Sviences Institute, 1999:312-27.
- Dyrmundsson O. R. 1973. Puberty and early reproductive performance in sheep. II.- Ram lambs. *Anim. Breed. Abstr.* 41: 419-430.
- De Serrano G. L, A. Fuentes, A. Valle y C. Regueiro. 1989. Estudio de las anormalidades espermática de los verracos en relación con raza y época. *Zootecnia Tropical*, 7(1-2):93-117.
- Eggert K. W., E. M. Zwick, K. Batschulat, G. Rohr, F. P. Armbruster, D. Petzoldt and T. Strowitzki. 2002. Are zinc level in seminal plasma associated with seminal leukocyte and other determinant of semen quality. *Fertil Steril.* 7: 260–269.
- El-Masry K., A. S. Anasr and T. H. Kamal. 1994. Influences of season and dietary supplementation with selenium and vitamin E or zinc on some blood constituents and semen quality of New Zealand White rabbit males. *World Rabbit Sci.* 2: 79–86.
- Elzanaty S., J. Malm and A. Jiwerzman. 2004. Viscoelasticity of seminal fluid in relation to the epidymal and accessory sex gland function and its impact on sperm motility. *Int J Androl* 2004, 27: 94–100.
- Evans G. and W. M. C. Maxwell. 1990. Salamon's artificial insemination of sheep and goats. Butterworths. Sydney. p. 185.
- Fang V. S. and N. Furushasi. 1978. Partial alleviation of the antitesticular effect of pipercolinomethylhydroxy indane by zinc in rats. *J Endocrinol* 1978, 79: 151.

- Favier A. E. 1992. The role of zinc in reproduction. Hormonal mechanisms. *Biol Trace Elem Res.* 32:363-8.
- Galina C. y J. Valencia. 2008. Reproducción de animales domésticos. Tercera edición. Editorial LIMUSA. Pags. 582.
- Gómez M. V y A. L. Migliorisi. Protocolo para la evaluación de semen en rumiantes. Cátedra Reproducción Animal Facultad de Cs. Veterinarias – UNLP.
Disponible:<http://www.fcv.unlp.edu.ar/sitioscatedras/8/material/ProtocoloEvaI.Semen.pdf>.
- González R. E., R. A. Martínez, and F. F. Santolaria. 1998. Relative and combined effects of ethanol and protein deficiency on zinc, iron, koper, and manganese contents in different organs and urinary and fetal excretion. *Alcohol* 1998; 16: 7-12.
- Gorndon I. 2004. Controlled Reproduction in sheep and goats. Volumen 2. Editorial CAB INTERNATIONAL. Pags. 450.
- Hafez E. S. E y B. Hafez. 2002. Reproducción e inseminación artificial en animales. séptima edición. Editorial Mc Graw Hill. USA.
- Hambidge K. M., C. E. Casey and N. F. Krebs. 1986. Zinc. In: Mertz, W.D. Ed. Trace Elements in Human and Animal Nutrition 2. Academic Press, Orlando, FL. pp. 1–138.
- Hartoma T. R., K. Nahoul and A. Netter. 1977. Zinc, androgen and male sterility. *Lancet* 1977, 2: 1125–1126.
- Hunter G. L. 1968. Increasing the frequency of pregnancy in sheep. I. Some factors affecting rebreeding during the post–partum period. *Anim Breed Abstr* 1968; 36: 347– 378.
- Hulet V. V., R. L. Blackwell, S. K. Encanbreak and L. O. Wilson. 1962. Mating behavior in the ewe. *J. Anim. Sci.* 21_870-874.
- Kendall N. R., S. McMullen, A. Green and R. G. Rodway. 2000. The effect of a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus on trace elements status and semen quality of ram lambs. *Anim. Reprod. Sci.*, 62: 277-283.

- Kumar D, A. Joshi and S. M. K. Naqvi. 2010. Comparative Semen Evaluation of Malpura and Bharat Merino Rams by Computer-aided Sperm Analysis Technique Under Semi-Arid Tropical Environment. *International Journal of Animal and Veterinary Advance* 2(1): 26-30, 2010 ISSN: 2041-2908.
- Kumar N., R. P. Verma, L. P. Singh, V. P. Varshney and R. S Dass. 2006. Effect of different levels and sources of zinc supplementation on quantitative semen. attributes and serum testosterone level in crossbred cattle (*Bos indicus* X *Bos Taurus*) bulls. *Reprod. Nutr. Dev.* 46: 663-675.
- Kumi D. J., F. T. K. Djang, V. O. Sekoni and D. Ogwu. 1985. Effect of Different husbandry systems on the reproductive development of post-weaning ram lambs under tropical conditions. *Theriogenol.*, 23: 583-591.
- Laskowski M. 1961. Deoxyribonucleases. Page 123 in *The enzymes*. Vol. 5. P. D. Boyer H., Lardy, and K. Myrback, ed. Academic Press, New York, NY.
- Luque A. M., M. I. Mendoza, G. D García, V. I. Almeida, L. M Valdez y M. J. Rodríguez. 2009. Efecto de la adición de zinc en la dieta sobre las características cualitativas y cuantitativas del semen de ovinos. XIV Congreso latinoamericano de BUIATRIA. Del 15-17 de Sep. Lima, Perú.
- Martin G. B., C. L. White, C. M. Markey and M. A. Blackberry. 1994. Effect of dietary zinc deficiency on the reproductive system of young male sheep: testicular growth and the secretion of inhibin and testosterone. *J Reprod Fertil* 1994, 101: 87–96.
- Martínez M. M., M. J. Urrutia y R. L. Martínez. 1992. Efecto de la época de empadre sobre la eficiencia reproductiva en borregas Corriedale. *Técnica Pecuaria en México*. 1(30):45-50 (1992).
- Mattiner P. E., A. W. H. Braden and J. M. George. 1971. Studies in flock mating of sheep. 4. The relation of libido test to subsequent service activity of young rams. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*. 11:473-477. (1971).
- Mellishon E. y A. Gallegos. 2006. Manual de laboratorio de reproducción animal. <http://tarwi.lamolina.edu.pe/~emellisho/reproduccion/Pract05.pdf>.

- Méndez J. V., T. M. Quiroga, E. Martínez, A. J. Ledezma y B. J. Villalobos. 2005. Pubertad en corderos Pelibuey nacidos de ovejas con reproducción estacional o continua. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XV, N° 5*, 437 – 442.
- Nagamine C. M., K. Chan, L. Hake and Y. F. C. Lau. 1990. The two-candidate testis determining Y genes (Zfy-1 and Zfy-2) are differentially expressed in fetal and adult mouse tissues. *Genes Dev* 1990, 4: 63–74.
- Notter D. R. 2002. Potential for Hair Sheep in the United States. *J Anim Sci* 2000. 77:1-8.
- NRC. Committee on the Nutrient Requirements of Small Ruminants, National Research Council. 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids*. ISBN: 978-0-309-10213-1, 384 pages.
- Om A. S and K. W. Chung. 1996. Dietary zinc deficiency alters 5 α -reduction and aromatization of testosterone and androgen and estrogen receptors in rat liver. *J Nutr.* 126:842-48.
- Perry D. K., M. J. Smyth, H. R. Stennicke, G. S. Salvesen, P. Luriez, G. G. Poirier and Y. A. Hannun. 1997. Zinc is a potent inhibitor of the apoptotic protease, caspase-3. A novel target for zinc in the inhibition of apoptosis. *J Biol Chem* 272,18530–18533.
- Pijoan A. P. J., A. A. García y T. J. De Lucas. 1987. Determinación de la pubertad en corderos y corderas Suffolk nacidos en dos épocas, bajo las condiciones del altiplano mexicano. *Tec. Pec. Méx.* 25: 302-308.
- Pimental G. J., G. R. Perezgrovas, M. L. Zaragoza y G. G. Rodríguez. 2005. Caracterización reproductiva integral del morueco en el ganado lanar de Chiapas. *Archivo de zootecnia* vol. 54, núm. 206-207, p. 558.
- Prasad A. S. 1984. Discovery and Importance of Zinc in Human Nutrition. *Fed Proc* 43:2829-2834.
- Quinn P. J. 1968. Deoxyribonuclease activity in semen. *J Reprod. Fend*, 17, 35-39.
- Robert M. 1997. Dégradation de la qualité des sols: risques pour la santé et l'environnement. *Bull Acad Natle Med* 1997; 181:21-42.

- Rodríguez U. M, B. N. Madrid y S. C. González. 2001. Peso corporal, circunferencia escrotal y características seminales a la pubertad en ovinos West African y West African x Bergamasca suplementados en una zona tropical. ITEA. Extra., 22: 841-843.
- Rolf C. y T. Cooper. 1999. Antioxidant treatment of patients with asthenozoospermia or moderate oligoasthenozoospermia with high-dose vitamin C and vitamin E. Hum Reprod 14,1028–1033.
- Root A. W., G. Duckett, M. Sweetland, and E. O. Reiter. 1979. Effects of zinc deficiency upon pituitary function in sexually mature and immature male rats. J. Nutr. 1979. 109:958.
- Saaranen M., U. Suistomaa, M. Kantola, S. Saarikoski and P. T. Vanha. 1987. Lead, magnesium, selenium and zinc in human seminal fluid-comparison with semen parameters and fertility. Hum. Reprod. 2: 475–479.
- Saleh A. M. I. and R. M. Yousri. 1992 The effect of dietary zinc, season and breed on semen quality and body weight in goat. Int. J Anim Sci 1992, 7: 5–12.
- Sandstead H. H., J. G. Penland, N. W. Alcock, H. H. Dayal, X. C. Chen, J. S. Li, F. Zhao and J. J Yang. 1998. Effects of zinc repletion with zinc and other micronutrients on neuropsychological performance and growth of chinese children. Am J Clin Nutr. 68(Suppl):470s-75s.
- SIAP. 2009. Sistema Integral de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/>. SIAP. 2009. Sistema Integral de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/>.
- Smith O. B. and O. O. Akinbamizo. 2000. Micronutrients and reproduction in farm animals. Anim Reprod Sci. 60-61: 549–560.
- Souza C. A., A. A. Moura, A. C. B. De Lima e A. L. Ciriaco. 2000. Desenvolvimento testicular, idade á puberdade e características seminais em carneiros da raza Santa Inês no estado do Ceará. Escola do Veterinaria. Universidade Estadual do Ceará. Fortaleza. Brasil. Anais da 37° Reunião Anual da Sociedade Brasileira da Zootecnia. Viçosa, MG. www.ovinocultura.com.br/Pesquisa/pesq01.htm.

- Steel G. D y J. H. Torrie. 1985. Bioestadística: Principios y Procedimientos (2da. Ed.) McGraw-Hill, México, D. F.
- Tharwat E. E. 1998. The use of ZnSO₄ to improve semen characteristics and fertility of New Zealand White rabbit buck during hot season. *Ann Agric Sc, Cairo* 1998 (Special issue) 3: 750–770.
- Torres A. R. y V. P. Bahr. 2004. El zinc: la chispa de la vida. *Rev. Cuba. Pediatr.* 2004, 76(4).
- Trejo G. A., S. A. Arenas, R. Y. Pérez y S. C. Dueñas. 2007. Efecto de la suplementación de minerales sobre la producción hormonal y las características seminales en cabritos Criollos. APPA - ALPA - Cusco, Perú.
- Trejo G. A., G. R. Soto, R. A. Graef, M. M. D. Márquez y P. H. Sánchez. 1996. Características e inducción de la pubertad en cabritos. Premio CANIFARMA. Industria Farmacéutica Veterinaria. Memorias. Vol. 3 No.3. 32-64.
- Truong T. A. Q., L. H. Ho, F. Chai and P. D. Zalewski. 2000. Cellular zinc fluxes and the regulation of apoptosis/gene-directed cell death. *J Nutr.* 130,1459S–1466S.
- Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS). 2009. Disponible en: <http://www.uasnet.mx/>.
- Underwood E. J. and M. Somers. 1969. Studies of zinc nutrition in sheep: 1. the relation of zinc to growth, testicular development, and spermatogenesis in young rams. *Aust. J Agric. Res.* 2: 889–897.
- Underwood E. J. 1981. The mineral nutrition of livestock. *Commonw. Agric. Bur.*, London.
- Valencia J., C. Barrón y B. S. Fernández. 1977. Pubertad en corderos Tabasco X Dorset. *Vet. Méx.* 8:127-130.
- Valencia J. M., Q. M. Trujillo, M. M. Espinosa, L. J. Arroyo y V. J. Berruecos. 2005. Pubertad en corderos pelibuey nacidos de ovejas con reproducción estacional o continua. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XV, Nº 5, 437 – 442.*

- Vázquez-Armijo J. F. R., R. Rojo, D. López, J. L. Tinoco, A. González, N. Pescador and I. A. Domínguez-Vara. 2011. Trace elements in sheep and goats reproduction: A review. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14 (2011): 1 – 13.
- Walkden B. S. W. and F. Bocquier. 2000. Nutritional regulation of reproduction in goats. 7th International Conference on Goats, France, 15 – 21 May. 389-395.
- Wheaton R. L. and R. W. Godfrey. 2003. Plasma LH, FSH, testosterone and age at puberty in ram lambs actively immunized against an inhibin –subunit peptide. *Theriogenol.*, 60:933-941.
- Williams R. J. P. 1989. An introduction to the biochemistry of zinc. En: Mills DF, ed. *Zinc in human biology*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1989: 15-31.
- Wong W. Y., H. M. Merkus, C. M. Thomas, R. Menkveld, G. A. Zielhuis and T. R. P. Steegers. 2002. Effect of folic acid and zinc sulphate on male factor sub fertility, a double blind, randomized placed controlled trial. *Fertil Steril*. 77: 491–498.
- Wulster R. M. C., M. A. Williams, J. N. Stellflug and G. S. Lewis. 2001. Technical note: Artificial vagina vs a vaginal collection vial for collecting semen from rams. *J Anim Sci* 2001. 79:2964-2967.
- Xin F., M. Hou, W. Li, Y. Li, L. Wang, J. Song and J. Zhong. 2007. Effect of Different Levels of Zinc on Blood Physiological and Biochemical Parameters in Stud Holstein Bulls. *Chinese Journal of Animal Nutrition* 2007, 19(5).
- Zago M. P. and P. I. Oteiza. 2001. The antioxidant properties of zinc: interactions with iron and antioxidants. *Free Radic Biol Med* 31,266–27.