



UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN ANIMAL

**“EFECTO DE LOS MICROELEMENTOS SELENIO Y CROMO
ORGANICOS EN EL CRECIMIENTO TESTICULAR Y CALIDAD DEL
SEMEN DE OVINOS JÓVENES”**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO
DE MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:
PMVZ. FERNANDO DÍAZ DÍAZ

ASESORES:
Dr. en C. IGNACIO A. DOMINGUEZ VARA
M. en C. ARTURO GARCÍA ÁLVAREZ



Toluca, Estado de México; diciembre de 2020.

INDICE

INDICE DE CUADROS	iv
RESUMEN.....	v
1. INTRODUCCIÓN..	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Factores externos que afectan la fertilidad en el carnero.....	4
2.1.1. Fotoperiodo.....	4
2.1.2. Temperatura.....	5
2.1.3. Rangos de temperatura crítica.....	6
2.1.4. Causas que producen un aumento en la temperatura corporal	7
2.1.5. Humedad...	7
2.2. Factores internos que afectan la fertilidad en el carnero...	8
2.2.1. Espermatogénesis	8
2.2.2. Edad.....	9
2.2.3. Pubertad.....	10
2.2.4. Raza.....	12
2.2.5. Nutrición.....	12
2.2.6. Acción de los minerales traza selenio y cromo sobre la fertilidad	12
2.2.6.1. Selenio.....	13
2.2.6.2. Cromo.....	15
3. JUSTIFICACIÓN.....	21
4. HIPÓTESIS	23
5. OBJETIVOS.....	24

6. MATERIAL Y METODOS	25
7. LIMITE DE ESPACIO	32
8. LIMITE DE TIEMPO	33
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
10. CONCLUSIONES	41
11. LITERARATURA CITADA	42

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Composición en (% BS) de las dietas experimentales.....	26
Cuadro 2. Concentración de semen de carnero valorada por su consistencia	28
Cuadro 3. Efecto de los minerales selenio y cromo orgánicos en el diámetro y perímetro testicular promedio de ovinos medido <i>in vivo</i> con vernier y cinta.	34
Cuadro 4. Efecto de los minerales selenio y cromo orgánicos en el peso (g) y medidas testiculares (cm) de ovinos faenados al final de la engorda.....	35
Cuadro 5. Efecto de los minerales selenio y cromo orgánicos en la consistencia (escala 0-5), volumen (mL), movilidad masal (escala 1-5) y concentración de células espermáticas (células/mL) en eyaculado de ovinos muestreados en dos períodos	38
Cuadro 6. Efecto de los minerales selenio y cromo orgánicos en la presencia de anomalías en células espermáticas en semen eyaculado de ovinos en dos períodos.....	40

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de complementar los minerales Selenio y Cromo orgánicos, (Sel-plex) y (Bio-Cromo), sobre el crecimiento testicular y la calidad macroscópica del semen eyaculado en 36 ovinos $\frac{3}{4}$ encastados de la raza Rambouillet (PVinicio=27.0±4.83 kg y PVfinal=39.3±6.08 kg), alojados en corrales individuales en la fase de crecimiento-finalización,. La fase de respuesta productiva se realizó en la unidad de enseñanza e investigación en producción animal de la FMVZ de la UAEM durante 95 días en el período de abril a julio del año 2000. El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial 2x3, (Se: 0 y 0.3 ppm; Cr: 0, 0.250 y 0.350 ppm) de tratamientos. Los datos se analizaron con el procedimiento MIXTO de SAS, se realizaron contrastes ortogonales y la prueba de Tukey para comparar las medias ($P \leq 0.05$). En el día 30 y 60 de iniciado el estudio de evaluación del crecimiento, se midió el diámetro y perímetro testicular, y, mediante electro eyaculador y vagina artificial, se colectó y evaluó la calidad macroscópica del semen eyaculado por los ovinos en términos de consistencia, volumen, concentración y morfometría de las células espermáticas; asimismo, una vez concluida la engorda, los ovinos fueron faenados para evaluar las canales, los testículos fueron separados para medir *in situ* el peso, diámetro y longitud. Respecto a las evaluaciones *in vivo*, en el diámetro testicular, hubo efecto del Se (contraste 1; $P \leq 0.07$), y del nivel cero Cr vs tratados con ambos niveles de Cr, sin Se (contraste 2; $P \leq 0.08$); en el perímetro testicular, hubo efecto del Se (contraste 1; $P \leq 0.06$), y del Cr sin Se (contraste 2; $P \leq 0.05$). Respecto a la calidad del semen, en la consistencia, en ambos días de evaluación, hubo efecto de Se, de Cr sin Se, del nivel de Cr sin Se y de Cr con Se ($P \leq 0.05$); los valores de consistencia fueron mayores ($P \leq 0.05$) al día 60. El volumen de semen eyaculado fue afectado por el período; al día 60 hubo efecto del nivel de Cr sin Se y del nivel cero de Cr comparado con ambos niveles de Cr con Se ($P \leq 0.05$). La movilidad masal y concentración de células espermáticas fueron afectadas por el período de evaluación ($P \leq 0.05$) y, hubo efecto en todos los contrastes probados ($P \leq 0.05$), por lo tanto, el Cr, a diferente concentración, con y sin Se, mejoró la calidad del semen, aumentando la movilidad y total de células espermáticas del semen de los ovinos. En la evaluación morfológica, en los días 30 y 60, ambos minerales, Se y Cr en sus diferentes dosis con y sin Se, redujeron las anomalías de los espermatozoides. Se concluye que los minerales Se y Cr orgánicos, solos o combinados, pueden aumentar el crecimiento de los testículos y mejorar la calidad macroscópica del semen eyaculado de ovinos.

Palabras clave: Ovinos, selenio, cromo, testículos, semen, calidad.

1. INTRODUCCIÓN

En el Estado de México la ovinocultura es una actividad pecuaria muy importante, entre otros, hay factores que la favorecen como la presencia de zonas agrícolas aptas para su producción, pero otros de tipo económico, social y técnico, limitan su desarrollo, sobre todo porque la producción se sigue llevando a cabo bajo un sistema tradicional (de tipo extensivo, caracterizada por pastoreo extensivo o en campos agrícolas en descanso), presentando una estructura de manejos genético y nutricional tradicionales, donde la suplementación de los rebaños es escasa o nula, caracterizándose por una pobre eficiencia reproductiva (De Lucas, 1994; Huerta 1987).

El organismo ovino requiere nutrientes para el mantenimiento de los procesos metabólicos corporales, de producción y reproducción. Los alimentos para animales de granja se conforman, en su mayor parte, de los componentes de origen orgánico como los glúcidos, las proteínas y los lípidos, y una cantidad mínima la compone la materia mineral, que son los elementos inorgánicos indispensables para numerosas y diversas actividades del organismo animal (Shimada, 1997).

En particular, los minerales requieren especial atención y cuidado como nutrientes esenciales en la alimentación de los ovinos, debido a la participación en numerosas actividades metabólicas y como cofactores necesarios para mantener el equilibrio corporal y el metabolismo basal de diferentes nutrientes (Cunningham *et al.*, 1979; Underwood y Suttle, 1999).

Las deficiencias de minerales en las dietas para animales determinan la presencia de trastornos que se manifiestan clínica o sub clínicamente, dependiendo de su severidad, bajo condiciones de pastoreo, estas deficiencias se manifiestan en la disponibilidad de los elementos minerales en los pastos durante las diferentes épocas del año, afectando tanto a los ovinos adultos como a los jóvenes, siendo principalmente los corderos donde ocurre la presentación de índices significativos (Underwood, 1977; Domínguez-Vara y Huerta-Bravo, 2008).

Considerando la importancia que tiene la producción ovina en el Estado de México; así como su finalidad, ya sea como ahorro o subsistencia, tomando en cuenta que más del 50% del rebaño ovino se encuentra en manos de productores de bajos recursos, es de vital importancia

la suplementación alimenticia y, de forma específica, la complementación mineral, para reducir la alta mortalidad de animales jóvenes y adultos, así como mejorar la reproducción, evitando así gran parte de las pérdidas económicas de los productores (Ramírez *et al.*, 2004).

Los minerales traza son llamados así porque cantidades muy pequeñas son requeridas en la dieta y su medición en el organismo vivo es difícil. Sin embargo, biológicamente debido a sus múltiples funciones bioquímicas y fisiológicas son muy importantes. Los requerimientos de minerales traza para funciones reproductivas son muy pequeños, en relación a las necesidades para mantenimiento, crecimiento o producción de leche, de tal manera que los kilogramos de premezcla de minerales traza adicionada a la dieta normalmente varía de 0.250 a 0.500 kg por tonelada de alimento. En general, los minerales traza son muy densos, y las materias primas como fuente de los minerales traza son altamente concentradas. Lo antes mencionado, ha ocasionado que a estos micro minerales se les de poca importancia dentro de todos los elementos involucrados en la producción animal, de forma específica en la nutrición y alimentación. Además, hay una alta variación de estos elementos en los alimentos, por lo tanto, no se recomienda incluirlos al momento de balancear las dietas para las especies pecuarias, porque hay una alta probabilidad de incurrir en deficiencias y desbalances minerales (Huerta, 1987).

Hay poca información publicada sobre el efecto de micro minerales en la fertilidad de sementales ovinos. Se ha demostrado que al suplementar Se y Zn en humanos, por su función intrínseca de ambos en la espermatogénesis y en el estado oxidativo, sugieren una función importante de estos en la reproducción del macho ovino (Irvine, 1996; Vezima *et al.*, 1996). Algunos hombres sub fértiles han mostrado deficiencias de Se, lo cual estuvo asociado con una menor movilidad de los espermatozoides (Scott *et al.*, 1998).

En los carneros el selenio suministrado en bolos de cristal soluble aumentó su concentración en sangre, con efectos positivos en la movilidad, en el porcentaje de espermatozoides vivos y en la repuesta a la integridad de la membrana de la célula espermática (Kendall *et al.*, 1999; 2001). En carneros de las razas Hampshire y Suffolk, localizados en el valle de Toluca, México, durante la época reproductiva el Se suministrado en bolos de cristal soluble aumentó ($p < 0.05$) la actividad de GSH-Px, la movilidad y número de los espermatozoides vivos y normales; en el mismo estudio se observó que la calidad del eyaculado fue mayor ($p < 0.05$) en volumen, densidad, concentración y viabilidad para los sementales de la raza Suffolk

(Carrillo-Nieto *et al.*, 2018). El suministro de Cr orgánico aumentó la calidad del semen con efectos en las variables de volumen, concentración y espermatozoides normales, y también aumentó la ganancia de peso de sementales ovinos adultos localizados en el valle de Toluca, México (Domínguez *et al.*, 2004).

En México se han diagnosticado carencias de minerales traza como selenio, zinc y cobre, entre otros, en rebaños ovinos (Díaz, 1993; Ramírez *et al.*, 2004; Domínguez y Huerta, 2008); sin embargo no se han establecido programas de suministro de minerales para corregir las deficiencias y evaluar el desempeño animal en términos de sus respuestas productiva y reproductiva.

El objetivo del presente estudio comprende evaluar, en ovinos $\frac{3}{4}$ encastados de la raza Rambouillet, en la fase de crecimiento-finalización, el efecto de complementar los elementos traza Selenio y Cromo, de fuentes orgánicas, (Sel-plex) y (Bio-Cromo), a diferentes dosis, sobre el crecimiento testicular y la calidad macroscópica del semen.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Factores externos que afectan la fertilidad en el carnero

2.1.1. Fotoperiodo

El fotoperiodo es el principal factor del medio ambiente que afecta el ciclo reproductivo de los carneros domésticos. Es uno de los factores físicos más importantes debido a que influye en el funcionamiento de todos sus órganos; la luminosidad (duración e intensidad de la luz) es el único factor ambiental constante a través del año que influye sobre los fenómenos fisiológicos que regulan la vida estimulando o inhibiendo los procesos fisiológicos, como el del crecimiento o el de las funciones reproductivas al actuar sobre el eje hipotálamo hipofisiario y controlar la liberación de gonadotropina (Hernández, 1982).

Generalmente se admite que aunque el carnero produce semen a lo largo de todo el año, su actividad sexual alcanza su máximo en otoño y su mínimo en primavera pudiendo reducirse la fertilidad en el período de días decrecientes (Daza, 1997).

Los días largos (aumento del fotoperiodo), se da en la primavera y principio del verano y los días cortos en otoño e invierno (disminución del foto período), estas últimas son consideradas las estaciones de mayor actividad sexual, influidas, conforme las latitudes son más septentrionales (por arriba de los 30° de latitud), por lo que en estas zonas el pico de la actividad reproductiva se da en el otoño y la inhibición en la primavera, esto bajo condiciones naturales, al darse los cambios estacionales del foto período en el medio ambiente, es por lo anterior que el foto período juega un papel binario en la influencia del ciclo estacional sexual del carnero estimulando o suprimiendo la actividad de acuerdo a la estación del año (Hernández, 1982).

Las experiencias realizadas con distintas razas, han demostrado que durante los días largos, las concentraciones plasmáticas de FSH, LH y testosterona son más bajas que durante los días cortos, determinando una regresión del tamaño testicular, una disminución del diámetro de los tubos seminíferos y como consecuencia una menor producción diaria de espermatozoides (Daza, 1997).

En razas estacionales, el efecto de fotoperiodo requiere de aproximadamente dos a tres meses de luz decreciente para que se alcance el máximo desarrollo del eje hipotálamo- hipofisario gonadal. Este fenómeno contribuye a explicar el hecho de que moruecos manchegos alcancen el máximo y mínimo diámetro testicular a fines de verano e invierno respectivamente, en carneros Karakul se reportan resultados similares. Asimismo el efecto del fotoperiodo explica la mayor libido, medida por el parámetro tiempo de reacción, observada en los carneros en otoño-invierno (Daza, 1997). Aunque el fotoperiodo es un factor decisivo en las variaciones estacionales del tamaño testicular, de la libido y de las características seminales se ha demostrado que las variaciones térmicas, las temperaturas elevadas y la humedad relativa disminuye el rendimiento productivo del carnero (Daza, 1997).

Hasta aquí se ha hecho mención que de acuerdo a los cambios en el fotoperiodo se presentan variaciones en las características del semen, de los testículos y de la secreción hormonal en general, sin embargo, se considera importante hacer una pequeña descripción de los principales cambios en las características del semen.

2.1.2 .Temperatura

De los factores ambientales que afectan la fertilidad, no solo en el carnero sino en el rebaño de cría, sean las altas temperaturas; debido a sus efectos adversos sobre la espermatogénesis (Fayez, 1994).

Los testículos del carnero mantienen una temperatura de 5 a 7 °C por debajo de la temperatura corporal, los testículos para poder conservar esta temperatura cuenta con diferentes sistemas básicos de regulación; el primero y más sencillo consiste en la contracción o relajación del escroto según sea la temperatura; descendiendo o ascendiendo los testículos por medio del músculo cremaster, con lo cual permite una mayor o menor superficie de enfriamiento. El segundo mecanismo es por el tipo de circulación testicular, ya que la sangre no entra directamente al testículo, sino que la arteria espermática se entrelaza con la vena espermática, formando un plexo que se conoce como pampiniforme, este contacto estrecho entre los vasos que sale y que entran provoca un intercambio de temperatura muy importante; una vez pasado este plexo, el vaso se dirige por la superficie para penetrar posteriormente al parénquima testicular ya con una temperatura inferior (Hafez, 1987).

2.1.3. Rangos de temperatura crítica

Existen ciertas temperaturas arriba de las cuales la espermatogénesis se verá afectada, este rango oscila entre los 29° y 32° C cuando existe una humedad del 50-60 %; por otro lado las bajas temperaturas pueden provocar una disminución del peso testicular y de la concentración sérica de testosterona, debido a lesiones en las células de Leyding y degeneración de los túbulos seminíferos (Hafez, 1987; Haresing, 1989).

Las altas temperaturas asociadas con humedad, producen un estrés en los animales, que se refleja en una infertilidad con duraciones que pueden ir de 4 ó más semanas, dependiendo de la intensidad y tiempo de exposición al calor (Daza, 1997).

El incremento de la temperatura a nivel testicular provoca cambios importantes tanto a nivel de esperma como a nivel de tejido; en el esperma se puede observar:

- ❑ Disminución de la concentración seminal.
- ❑ Baja de la motilidad.
- ❑ Presentación de anomalías (células piriformes, fallas en la pieza media, en la cola o en el acrosoma).
- ❑ Aumento de las células muertas.
- ❑ Alteración del volumen del eyaculado.

Las variaciones estacionales y los factores que los componen como son el fotoperíodo, la disponibilidad del alimento, la temperatura y la lluvia ejercen un efecto global sobre los animales; así tenemos que los incrementos del fotoperíodo van acompañados generalmente de aumentos de temperatura y también pueden detener completamente la actividad espermatogénica durante los meses de verano; llamándosele esterilidad del verano; por lo contrario la calidad del semen es mejor en otoño, debido a que aparte de ser una época fresca la temperatura se encuentra descendiente y además el fotoperíodo está disminuyendo (Fayez, 1994).

Aunque está bien comprobado el efecto perjudicial de las temperaturas elevadas sobre el rendimiento reproductivo del carnero, no parecen existir pruebas que la temperatura afecte a la pubertad en los corderos. Sin embargo, la posibilidad de dicha relación no debe descartarse, quizás por su relación con el ritmo de crecimiento (Fayez, 1994).

En cuanto al frío parece tener un menor efecto sobre las características del semen y la fertilidad del carnero. Se requieren temperaturas extremadamente bajas, para que se presenten alteraciones en el semen. En épocas en que la temperatura es fresca mejora las características del semen y la libido (Hernández, 1982).

2.1.4. Causas que producen un aumento en la temperatura corporal

Contribuyen a un aumento en la temperatura corporal, el clima cálido en algunos lugares o determinadas época del año, esto al combinarse con el esfuerzo físico requerido para el apareamiento y las propiedades aislantes del cuerpo en un animal gordo y la lana, resulta una elevación de la temperatura testicular propiciando una baja fertilidad (Portolano, 1990).

También aumenta la temperatura corporal, el arreo de los carneros en el tiempo de calor o las fiebres causadas por septicemias o miasis. En estos casos la fertilidad se recupera cerca de 6 semanas después de que la temperatura corporal y escrotal alcancen la normalidad (Fayez, 1994).

2.1.5. Humedad

Sobre la influencia de este factor en la fertilidad no existe mucha información ya que la forma en como la humedad afecta se considera asociada a la temperatura. Niveles de humedad del 50-60 % unidos a altas temperaturas producen un estrés en los carneros reduciendo la viabilidad de su espermatozoide. En carneros que están en confinamiento con una humedad relativa del 50-60 % a 38 °C se incrementa la producción de espermatozoides morfológicamente anormales, disminuyendo su motilidad y se incrementa el pH del semen. A una humedad del 45% y a una temperatura de 40.5 °C hay cambios en la motilidad, en la morfología y en porcentaje de espermatozoides vivos. Al incrementarse el tiempo en que los testículos estuvieron expuestos a estos rangos, disminuyó la fertilidad de los animales del 60 al 10 % (Daza; 1997; Hernández, 1982).

En carneros sometidos por más días a 40 °C con 45 % de humedad relativa la densidad del semen disminuyó, al igual que la concentración de espermatozoides; mostrándose a un más las anomalías y tardando más días (aproximadamente 33-34) en volver hacer normales (Portolano, 1990).

Por lo tanto se está de acuerdo en que las mejores características seminales como son la concentración el volumen, la motilidad y la sobrevivencia espermática, se dan durante los meses de otoño e invierno es decir bajo condiciones de luz decreciente, por lo tanto pareciera que el incremento de las horas luz afecta produciendo cambios en estas características, así como la aparición de espermatozoides anormales y una disminución de la fertilidad temporal (Daza, 1997).

La concentración también parece verse afectada por la estación y el fotoperiodo en estudios realizados por (Hernández, 1982) encontraron que esta era mejor durante los meses de otoño e invierno, trabajos realizados en clima tropical también le confiere a la estación de otoño como la de mejor concentración.

Por ultimo con relación a los espermatozoides vivos y a la presentación de anomalías también parecen ser mejores en general las estaciones de otoño e invierno (Hernández, 1982).

En general aunque aquí se ha mostrado que se pueden presentar diferencias en las características del semen de acuerdo al fotoperiodo y a la estación, existe una coincidencia entre los autores citados de que las características del semen y su capacidad fertilizadora son buenas independientemente de estos factores.

2.2. Factores internos que afectan la fertilidad en el carnero

2.2.1. Espermatogénesis

Al inicio de la pubertad, los gonocitos se trasladan a la periferia de los túbulos y se diferencian hasta convertirse en espermatogonias; las células de sostén producen células de Sertoli. Estos cambios ocurren al manifestarse la elevación de gonadotropinas en el animal prepuber las células de Sertoli estarán presentes durante toda la vida sexual y su cantidad constituye un factor limitante en la espermatogénesis (Hafez, 1987).

La manipulación de ciertos factores en el periodo prepuberal reduce aún más el tiempo en que se inicia la pubertad o aumente el crecimiento testicular. Los gonocitos se forman al azar en todo el testículo hasta convertirse en espermatogonias A definitivas junto con la formación

de células de Sertoli, estos hechos marcan el final del periodo prepuberal y el inicio de la espermatogénesis (Hafez, 1987; McDonald, 1983).

A partir del gonocito se diferencian dos tipos de espermatogonias: células madre de reserva (Ao) y células madre (As). Por lo general, las células As dan lugar a nuevas células madre y aun grupo de espermatogonias, espermatoцитos y espermátides. El mantenimiento de la célula madre representa la base de la producción continua de espermatozoides. Las células Ao contribuyen a incrementar la población de células As en el periodo circunscrito por la pubertad y la edad adulta, y permite que la población de As se remueva en caso de daño testicular (irradiaciones, fármacos, enfermedad) (Hafez, 1987).

Durante los periodos fetal y neonatal, el testículo crece con lentitud, principalmente por alargamiento de los cordones seminíferos. La diferenciación de las espermatogonias y la formación de los primeros grupos espermatógenos marca el inicio de un rápido crecimiento testicular. Después de lograrse una actividad espermatogena completa se mantiene el crecimiento lento durante algunos meses en el carnero, en respuesta al incremento continuo de la población de las células madre (Hafez, 1987; McDonald, 1983).

La concentración de la motilidad progresiva de los espermatozoides la concentración de proteína seminal y el porcentaje de espermatozoides con cabeza, cola, y acrosomas de morfología normal, se incrementa hasta las 16 semanas después de haber iniciado la pubertad (Hafez, 1987).

Los rápidos incrementos en el porcentaje de espermatozoides que muestran una morfología normal de la cabeza incluyendo los acrosomas y una movilidad progresiva se atribuyen a la rápida disminución en el porcentaje de espermatozoides con goteo citoplásmico proximal (McDonald, 1983).

2.2.2. Edad

En ovinos, como en la mayoría de las especies, la calidad del semen está directamente afectada por la edad del animal. Muchos estudios han demostrado que el eyaculado inicial tiene una gran cantidad de células anormales pero existen grandes diferencias entre razas. Estas anomalías consisten, en su mayor parte, en malformaciones en la cabeza y gotitas

en el citoplasma proximal que indican una actividad espermatogénica incompleta y una maduración incompleta en el epidídimo. La calidad mejora rápidamente a medida que avanza la edad (Heriessign, 1989).

2.2.3. Pubertad

La pubertad en el carnero puede definirse como el momento a partir del cual es capaz de reproducirse. Fenómeno que acontece a una edad variable comprendida entre tres y cinco meses de edad (Carbo, 1996).

La aparición de la pubertad implica que hayan descendido los testículos al interior del escroto y que el glande, adherido al prepucio en el cordero inmaduro, se haya soltado totalmente y el pene pueda moverse libremente. Si a estos cambios anatómicos se unen la producción y liberación de espermatozoides maduros y viables y la actitud del cordero de montar a ovejas en celo, podemos decir que el futuro reproductor ha alcanzado su pubertad fisiológica. La pubertad en otras palabras determina el inicio de la actividad sexual (Daza, 1997; Hernández, 1987).

Los factores que influyen en la pubertad tenemos el tipo genético, la velocidad de crecimiento, durante el período de desarrollo, el peso, la alimentación, la época del nacimiento, a través de algunos componentes estacionales, y el ambiente social del cordero antes de la pubertad (Carbo, 1996).

Tipo genético, es evidente que la aparición de la pubertad está controlada por factores genéticos, puesto que presentan variaciones entre y dentro de razas; por ejemplo, en un grupo de 14 carneros con experiencias idénticas de crecimiento, durante la crianza mostraron diferencias significativas entre individuos en el peso testicular, además de variaciones en sus edades y en sus pesos corporales, al alcanzar la pubertad (Heriessign, 1989).

El peso, generalmente la pubertad aparece cuando los corderos consiguen el 35%-40% de su peso adulto iniciándose posteriormente su actividad copulatoria cuando alcanza un peso próximo al 50 % del adulto (Daza, 1997).

El peso corporal, guarda una estrecha relación con el crecimiento de los órganos reproductores y por ende el desarrollo sexual, (liberación de andrógenos y espermatogénesis). Se ha observado que cuando los machos alcanzan el 65 % del peso corporal adulto; tiene el 85 % del peso y madurez testicular y el 65 % del peso y madurez de las glándulas accesorias (Portolano, 1990).

La aparición de la pubertad está más estrechamente relacionada con el peso que con la edad cronológica, aunque pueda estar influyendo en forma considerable, la nutrición el fotoperiodo y la temperatura (Carbo, 1996).

La pubertad parece estar más relacionada con la velocidad de crecimiento y con el peso que con la edad cronológica, ya que diversos parámetros del desarrollo anatómico del testículo tales como diámetro y volumen de los tubos seminíferos, volumen y peso de los testículos están más estrechamente correlacionados con el peso del animal que con su edad, aunque se ha sugerido la existencia de una edad mínima necesaria para llegar a la pubertad (Daza, 1997).

En el cordero macho el crecimiento testicular es lento en el 2° y 3° mes después de nacer, pero se acelera al comenzar la espermatogénesis (4-5 meses de edad) y después de alcanzar la pubertad, se hace lento otra vez, inmediatamente de la estación en que nació. El desarrollo testicular (peso, volumen, y diámetro de los túbulos seminífero. Está relacionado con la edad y peso del animal, ya que la espermatogénesis se relaciona más con la edad fisiológica que con la edad cronológica. Al nacer los túbulos seminíferos ocupan el 50 % del volumen testicular y tienden a incrementarse al 80% en la pubertad, resultando en un incremento en lo largo y en el diámetro de los túbulos seminíferos; el peso del epidídimo, está correlacionado con el peso testicular y con el peso corporal y aumento de la edad. En general el desarrollo histológico de los testículos va de la 6ª a la 24ª semana de edad; a las 10 semanas de edad empiezan aparecer las espermatogonia y maduración de los espermatozoides (Heriessign, 1989; Hafez, 1987; Carbo, 1996).

Se ha estudiado la influencia del ambiente social vivido por el cordero durante su desarrollo sobre su comportamiento sexual inicial. En este sentido, cuando después del destete se separan los machos de las hembras se provoca un retraso de la actividad sexual en los

corderos ante la presencia de ovejas en celo imposibilitando la recolección de semen para inseminación artificial (Daza,1997; Portolano, 1990; Heriesign, 1989).

2.2.4. Raza

El inicio de la actividad sexual también se ve influenciada por la raza, quizás el efecto sea más reducido en las hembras que en los machos; el factor raza puede o va más ligado al efecto ambiental sobre todo a la relación nutrición con el peso vivo. Una de las diferencias más comunes entre raza, es el diámetro testicular en animales de la misma edad pero de raza diferente, por ejemplo el merino comparado con el Finnish Landrace tuvo un crecimiento testicular de un 80% en la primera estación de cría al igual que los animales cruzados, mientras que los merinos permanecieron aun 40% de su tamaño lo que muestra una madurez sexual más rápida en los Finnish Landrace y en los animales cruza; los genes que controlan el desarrollo sexual son independientes a las respuestas del organismo a los cambios estacionales en el fotoperiodo, los genes que controlan la pubertad pueden o no están relacionados con la respuesta a los cambios estacionales sobre el medio ambiente (Carbo, 1996).

2.2.5. Nutrición

Una reducción drástica del nivel de alimentación en los carneros origina una regresión del tamaño testicular y una disminución de la libido y de producción de espermatogénesis. Fenómeno que tiene lugar algunas semanas después de la restricción energética (Daza, 1997).

2.2.6. Acción de los minerales traza selenio y cromo sobre la fertilidad

La falla reproductiva puede ser inducida por deficiencia simple o combinada de elementos traza o por que no estén combinados en la ración, ya que estos elementos traza pueden funcionar como cofactores estabilizadores de enzimas o estabilizadores secundarios de la estructura molecular. Este es el problema más común ya que una elevación general de los minerales contenidos en las dietas tiene un efecto benéfico en la fertilidad; una mala nutrición en elementos traza afecta la función del aparato reproductor puesto que las funciones enzimáticas y algunas actividades hormonales se correlacionan con los elementos traza (Beorlegui, 1996).

2.2.6.1. Selenio

Función

La función más importante del selenio es la de ser un potente antioxidante biológico como se describe posteriormente. Sin embargo, aunque de menor importancia, también realiza otras funciones, entre las cuales se puede considerar las siguientes (Denis, 1990; Underwood y Suttle, 1999).

-Participa en la síntesis de algunos aminoácidos. En este sentido se sabe que la micro población ruminal puede tomar selenio de los alimento y producir seleno aminoácidos, tales como la metionina.

-Es necesario para la absorción de lípidos en el tracto gastrointestinal y para facilitar la transferencia de lípidos a través de las membranas celulares.

-Participa en las reacciones de oxidación-reducción, aunque no afecta directamente a la fosforilación oxidativa ni interviene en la síntesis de hemoproteína en las mitocondrias.

-Interviene en el metabolismo de los compuestos sulfhidrilo.

-Participa en los ciclos oxidativos del ciclo tricarboxílico.

-Tiene una gran tendencia a formar complejos con los metales pesados y ejerce un efecto protector frente a las intoxicaciones por cadmio y mercurio.

-Como anteriormente se mencionó, la función más importante del selenio es como antioxidante, papel que comparte con la vitamina E. El selenio está presente en la glutatión peroxidasa (GSH-Px), enzima que se encuentra en los eritrocitos, y la actividad de esta enzima en estos elementos formes guarda relación directa con la concentración sanguínea de selenio en los ovinos. El selenio incorporado no es intercambiable ni dializable (Denis, 1990).

La glutatión peroxidasa cataliza la reducción del agua oxigenada y de los hidroxí peróxidos formados a partir de los ácidos grasos y otras sustancias. En este sentido, ejerce un importante papel protector de los tejidos contra las lesiones oxidativas. La vitamina E también es un potente antioxidante biológico, capaz de realizar la protección de los tejidos en el mismo sentido (Underwood y Suttle, 1999).

La relación que existe entre el selenio y la vitamina E sólo se conoce parcialmente pero se asegura que la vitamina E es un antioxidante liposoluble específico en la membrana y el

selenio actúa como un componente de la glutatión peroxidasa cistólica que reduce los peróxidos. Por lo tanto, mientras que la enzima actúa destruyendo los peróxidos antes de que puedan atacar a la membrana celular, la vitamina E actúa en propia membrana previniendo la reacción de auto-oxidación en cadena de los lípidos de la propia membrana. Esta función protectora de membranas de la vitamina E la ejerce con mayor intensidad en aquellas particularmente ricas en lípidos insaturados, como las de las mitocondrias y del retículo endoplásmico (Underwood y Suttle, 1999; Denis 1990).

Absorción. La absorción del Se se ha estudiado mediante la administración de selenio unido al óxido crómico como marcador (Denis, 1990). La absorción de Se en rumiantes es baja, aproximadamente 19 % en ovejas (Amerman y Miller, 1975). Esto se atribuye a que en rumen el Se es transformado a formas poco asimilables. Los rumiantes parecen ser más sensibles al padecimiento de deficiencia que los monogástricos, en particular parece ser más grave para los pequeños rumiantes, ovinos y caprinos (Ramírez *et al.*, 2004). Esta mayor susceptibilidad se atribuye al ambiente del retículo y rumen, que genera formas no solubles en particular seleniuros (Harrison *et al.*, 1984; Carbajal *et al.*, 2013). Lo anterior explica la menor absorción de Se en rumiantes que en los animales monogástricos, 29-35 % en rumiantes y de 77 a 85 % en monogástricos, cuando es administrado como selenito por vía oral; el principal sitio de absorción del elemento es el duodeno (Sarabia-Martínez, 2004). Cuando el Selenio se administra en forma de selenato, se absorbe principalmente en el duodeno, entra al organismo y se reduce a selenito, uniéndose a las proteínas del plasma; así es llevado por la corriente sanguínea al hígado y al bazo, en donde es reducido a Selenio elemental, por la glucosa, que lo lleva a todos los tejidos excepto a los grasos. La pérdida ocurre por medio de los pulmones, orina y excremento, la eliminación es considerable y se ejecuta de manera relativamente rápida, a pesar de todo, cuando el consumo es alto, tiende a acumularse y causa lesiones en los tejidos (Carbajal *et al.*, 2013).

Excreción. La principal excreción del selenio se realiza a través de la orina y de las heces. La ruta de excreción de este micro mineral en el organismo varía dependiendo de la forma administrada. Así, cuando se ingiere por vía oral, la mayor parte se excreta a través de las heces, aunque en esta excreción influye la edad de los animales. Se indica que 50% del selenio excretado por las heces penetra en el tracto digestivo por vía biliar (Redondo, 1991). Por otra parte, cuando este micro nutriente se administra por vía subcutánea o intravenosa, la mayor excreción se produce por la vía renal a través de la orina (Underwood y Suttle, 1999).

Efecto en la fertilidad

La deficiencia de Se afecta la salud y producción del rebaño ovino, puede causar mortalidad alta de corderos durante la lactancia y crecimiento, reduce la ganancia de peso de ovinos en crecimiento y ocasiona problemas reproductivos como retención de placenta de las ovejas y menor calidad del eyaculado en los sementales (Allen *et al.*, 1986; Kendall *et al.*, 2000).

La deficiencia de Se produce un detrimento en la fertilidad óptima del carnero. Por otro lado, el suministro de Se, antes del apareamiento, aumenta la tasas de concepción de las ovejas; la deficiencia también puede causar desórdenes en la reproducción, debido a que produce la enfermedad del músculo blanco en borregos en crecimiento. También se ha indicado la posible función del Se en la capacidad de fertilización del semen, asociada a la mejora en el grado de motilidad del espermatozoide, sobre todo cuando hay deficiencia de Se y las células espermáticas muestran ruptura cerca de la pieza central. Asimismo, se informó sobre la presencia de una selenoproteína con funciones protectoras relevantes en la cápsula mitocondrial del espermatozoide (Ahsan *et al.*, 2014); en sementales ovinos, el Se y la vitamina E mejoran la calidad del semen, asociado a una mayor concentración de testosterona y mayor actividad de la enzima GSH-Px en suero sanguíneo (Mahmoud *et al.*, 2013). En sementales caprinos, el Se orgánico, mejora el estado anti oxidativo y los niveles de testosterona y T3 en plasma seminal y suero sanguíneo, lo cual confiere mayor protección a los espermatozoides contra el daño oxidativo, aspecto importante en la producción de semen de buena calidad (Kumar *et al.*, 2013).

Por otro lado, está comprobado que hay una relación estrecha entre el tamaño de los testículos y la producción de semen; así, sementales ovinos con testículos pequeños pueden no producir suficiente espermatozoide durante el período de empadre para lograr buena tasa de fertilidad (Mahmoud, 2013).

2.2.6.2. Cromo

La nutrición con cromo en las especies pecuarias es una nueva área de investigación y se lleva a cabo después de muchos años de estudios nutricionales en animales de laboratorio y humanos. Los beneficios potenciales de la alimentación con Cr que se generaron con estos estudios, ahora se están estudiando en el ganado. El enfoque de los estudios con Cr ha sido el

alivio del estrés y la mejora del estado inmunológico, la mejora de la eficiencia alimenticia, el estado metabólico y la calidad de los alimentos (NRC, 1997).

Función

El papel del cromo en el metabolismo es como un nutriente esencial en humanos y animales de laboratorio (Mertz, 1992; 1993). El Cr participa en la estructura del factor de tolerancia a la glucosa (FTG) (Anderson *et al.*, 1978; Toepfer *et al.*, 1977) y la cromodulina (Vincent, 2000; Yomamoto *et al.*, 1988). Se cree que el papel de Cr en el metabolismo es a través de estos compuestos organometálicos (Mertz, 1992; Mertz, 1993; Vincent, 2000). El efecto trófico de Cr es mejorar la comunicación entre la insulina y sus receptores ubicados en la membrana celular de los tejidos sensibles a la insulina (es decir, los tejidos adiposo y muscular) al aumentar la fluidez de la membrana y la tasa de internalización de la insulina (Evans y Bowman, 1992). El FTG amplifica la acción de la insulina en sujetos con deficiencia de Cr, mientras que la cromodulina mejora la acción de la insulina en sujetos con suficiente Cr (Yomamoto *et al.*, 1988).

Factor de tolerancia a la glucosa y su significado biológico. El primer concepto de Cr como un elemento indispensable para el metabolismo normal de carbohidratos y lípidos se desarrolló a principios de los años cincuenta. Schwarz (1951) observó un retraso en la tasa de desaparición de la glucosa en plasma en ratas alimentadas con 300 g de levadura torula como única fuente de proteína. Más tarde, en un estudio comparativo, Mertz y Schwarz (1957) evaluaron la relación entre la tasa de desaparición de la glucosa plasmática y el tipo de levadura e informaron que la tasa de desaparición de la glucosa plasmática aumentó de 2.6 a 4.5% por minuto, cuando las ratas fueron cambiadas de una dieta con inclusión de levadura torula a levadura de cerveza. En un experimento siguiente, Schwarz y Mertz (1959) demostraron que la inyección de levadura de cerveza en ratas dio como resultado un aumento en la tasa de oxidación de la glucosa a dióxido de carbono, la utilización de la glucosa para la lipogénesis, la captación de glucosa por la lente óptica y el transporte de galactosa. Dos años más tarde, los mismos investigadores (Schwarz y Mertz, 1959) aislaron el compuesto que mejoró la tasa de desaparición de la glucosa plasmática en ratas alimentadas con levaduras de cerveza y riñón de cerdo; llamando a este compuesto como FTG.

La cromodulina y su significado biológico. El cromo también existe como parte de varias sustancias de unión al cromo de bajo peso molecular en diversos tejidos de mamíferos, incluidos el riñón, el hígado y el calostro (Vincent, 2000; Yomamoto *et al.*, 1988). Entre estas sustancias, solo la cromodulina tiene una actividad biológica. La cromodulina, un polipéptido de unión a cromo, consiste en ácido aspártico, ácido glutámico, glicina y cisteína en una proporción de 5: 4: 2: 1 (Yomamoto *et al.*, 1988).

El peso molecular de la cromodulina es de aproximadamente 1500 Da (Vincent, 2000). La importancia biológica de la cromodulina se ha investigado en solo unos pocos estudios. Similar al FTG, la cromodulina tiene la capacidad de mejorar las acciones de la insulina. Vincent (2000) comparó las funciones reguladoras del FTG y la cromodulina en la acción de la insulina. La adición de cromodulina a los adipocitos de ratas deficientes en Cr aumentó la conversión de glucosa a dióxido de carbono sin afectar la concentración de insulina media máxima (Vincent, 2000).

Esto sugiere que el papel intrínseco de la cromodulina en la acción de la insulina no ocurre a nivel del receptor, pero posiblemente modula la acción de la insulina en el nivel posterior al receptor. En presencia de insulina, la cantidad creciente de Cr (0, 0.04, 0.08 y 0.12 ng) en forma de FTG aumentó linealmente la actividad biológica del Cr en los adipocitos obtenidos de ratas deficientes en Cr (Vincent, 2000). Cuando se corrigió el gráfico de la actividad biológica frente a la concentración de insulina según el fondo, la adición del FTG disminuyó linealmente la actividad biológica. Estos resultados pueden sugerir que, a diferencia de la cromodulina, el FTG mejora la acción de la insulina en sujetos con deficiencia de Cr, pero no en sujetos adecuados en Cr. Más tarde, Vincent (2000) propuso un mecanismo por el cual la cromodulina potencia la acción de la insulina.

La forma inactiva del receptor de insulina se convierte en la forma activa mediante la unión de insulina. Esto provoca la liberación de Cr a partir de Cr-transferrina, una forma circulante de Cr, que conduce a la formación de holocromodulina (Cr₄-cromodulina) a partir de apocromodulina, una forma de almacenamiento de Cr en el citosol. La holocromodulina activa la actividad de la tirosina quinasa, especialmente cuando la concentración de insulina es baja (Vincent, 2000). La activación de la fosfotirosina fosfatasa de membrana (Davis *et al.*, 1996) es un efecto relativamente menor de la cromodulina, en comparación con la estimulación de la actividad de la tirosina quinasa (Davis *et al.*, 1997).

Absorción

Absorción. La capacidad de absorción de Cr en el ganado es en gran parte desconocida porque los estudios se han realizado principalmente en animales de laboratorio y en seres humanos. El cromo se absorbe mal en el tracto gastrointestinal. La absorción de cromo es un proceso no saturable y es regulada por difusión pasiva (Dowling *et al.*, 1989). En una proporción del consumo, el principal sitio de absorción de Cr es el yeyuno (0.8 a 2.1%), seguido del íleon (0.7 a 1.8%) y el duodeno (0.8 a 1.5%) (Chen *et al.*, 1973). La baja absorción podría deberse a la formación de cromato o la unión a proteínas no digeridas después de la ingestión (Stoecker, 1996). Numerosos factores influyen en la absorción de Cr, que incluye las características químicas de Cr (orgánico *versus* inorgánico y el estado de valencia), la presencia de agentes quelantes, el estado fisiológico de los individuos, la cantidad de consumo de Cr y otros metabolitos y fármacos (NRC, 1997). La suplementación de vitamina C, niacina (Wang *et al.*, 1985) y aminoácidos (Urberg *et al.*, 1986) aumenta la biodisponibilidad de Cr hasta en un 25%.

En general, el Cr en formas orgánicas se absorbe más fácilmente que el Cr en formas inorgánicas (Anderson *et al.*, 1993). Anderson y Kozlovsky (1985) informaron que el Cr en la levadura era ocho veces más absorbible que el Cr en el cloruro de Cr (2-3%). El Cr hexavalente se reduce a la forma trivalente antes de ser digerido cuando se administra por vía oral (Anderson, 1987). Cuando se realiza una infusión directa en el intestino delgado, la absorción de Cr hexavalente es aproximadamente cinco veces mayor que la del Cr trivalente. El estado nutricional también altera la capacidad de absorción de Cr. La absorción de cromo es mayor en condiciones de ayuno que en condiciones de alimentación (Chen *et al.*, 1973). Un estudio realizado en ratas mostró que la absorción de Cr aumentaba a medida que aumentaba el oxalato, disminuía a medida que aumentaba el fitato y no se veía afectada por el citrato y el EDTA (Chen *et al.*, 1973). La absorción de cromo está inversamente relacionada con la ingesta de Cr. Anderson y Kozlovsky (1985) mostraron en humanos que a 2 mg de ingesta, la absorción fue de 2%, mientras que a 40 mg de ingesta o mayor la absorción fue del 0.4%.

Excreción

Excreción. Los factores que afectan la absorción de Cr parecen afectar la ruta de excreción de Cr. El cromo en formas inorgánicas se excreta principalmente a través de la defecación

(Offenbacher *et al.*, 1986), mientras que el Cr en formas orgánicas se excreta principalmente a través de la micción (Hambidge, 1974). La cantidad de Cr excretada es proporcional a la consumida. Anderson *et al.* (1990) mostraron, en humanos, que a una ingesta de 38 mg, la cantidad de Cr en orina fue de 0.3 mg, mientras que con una ingesta de 74 mg, la cantidad de Cr en la orina fue de 0.8 mg. También se informó que la excreción de Cr aumentó de 10 a 300 veces en momentos de estrés o consumo de altas cantidades de carbohidratos. Sin embargo, Behall *et al.* (2002) informaron que 14 semanas de consumo de una dieta de almidón de maíz con alto contenido de amilosa (30%) no afectaron las pérdidas de cromo en la orina después de una prueba de tolerancia a la glucosa, pero se alteró el equilibrio mineral, excepto el Zn, en 14 hombres hiperinsulinémicos y 10 normales.

Los estresores aumentan la tasa de excreción de Cr (Borel *et al.*, 1984). El efecto adverso del estrés en la excreción de Cr está vinculado indirectamente a la insulina, porque el cortisol elevado en plasma antagoniza la acción de la insulina, lo que aumenta la concentración de glucosa en plasma mediante la supresión de la utilización de glucosa en el tejido periférico (Anderson *et al.*, 1990). La infusión intravenosa de glucosa o insulina estimula la movilización de las reservas de Cr y aumenta de forma irreversible la excreción de Cr a través de la orina en sujetos bajo estrés (Borel *et al.*, 1984), sujetos con intolerancia a la glucosa (Hambidge *et al.*, 1968) y sujetos tolerantes a la glucosa (Anderson *et al.*, 1990; Davidson y Burt, 1973).

Deficiencia de Cr

Deficiencia. Los factores que causan el agotamiento del Cr incluyen un alto consumo de carbohidratos, envejecimiento, estrés por calor, embarazo, lactancia, ejercicio agudo, trauma físico y obesidad (Hambidge, 1974; Mertz, 1993). La deficiencia marginal de Cr conduce a un síndrome que no se distingue de la diabetes mellitus moderada, que se caracteriza por una tasa de eliminación de glucosa alterada, hiperglucemia en ayunas y glucosuria (Mertz, 1993; Schroeder, 1966). La deficiencia de cromo afecta directamente la función de la insulina al reducir la sensibilidad de los tejidos periféricos a la insulina, la cantidad de receptores de insulina y su afinidad por la insulina (Anderson, 1986). Además, la deficiencia de Cr puede aumentar los riesgos de diabetes (Mertz, 1969) y enfermedades coronarias (Schroeder, 1968). La deficiencia de cromo se asocia con concentraciones elevadas de LDL, TG y apoB en suero y formación de placa aórtica (Schroeder y Balassa, 1965). En numerosos estudios, se demostró que la suplementación con Cr revirtió rápidamente la hipercolesterolemia en sujetos

deficientes en Cr (Schroeder, 1969; Staub *et al.*, 1969) y causó una reducción de peso en sujetos adecuados en Cr (Evans, 1989; Press *et al.*, 1990).

Aparentemente la deficiencia de cromo origina la disminución de la sensibilidad de tejidos periféricos a la insulina. Se atribuyen a las deficiencias de cromo las lesiones en la córnea, reducción del grado de crecimiento, trastorno en el metabolismo proteico y reducción de la longevidad. También se establece que en cierta causa la intolerancia a la glucosa en la especie humana responde al tratamiento con complemento de cromo (Mertz, 1993). La forma activa del cromo se denomina como falta de tolerancia a la glucosa, en un complejo orgánico que aún no se ha identificado. Se han llevado acabo algunos estudios sobre la ingestión de cromo para el ganado pero hasta ahora se desconocen datos sobre sus requerimientos y toxicidad (Church, 1985).

Efecto en la fertilidad

La nutrición con cromo es un concepto relativamente nuevo en la nutrición animal del ganado. Recientemente, el Comité de Nutrición Animal (NRC, 1997) evaluó los resultados de la suplementación con Cr a partir de siete estudios realizados en ganado lechero, 20 estudios realizados en ganado de carne y siete estudios realizados en ovejas. En estos estudios, la cantidad de Cr proporcionada en las dietas basales varió de 0.79 a 1.6 mg de Cr por kg de MS y la cantidad de Cr suplementario varió de 5.5 a 10 mg de Cr por día. Las principales conclusiones fueron la inconsistencia entre los resultados informados y la insuficiencia de los datos disponibles generados a partir de estos estudios para evaluar los requisitos de Cr para las especies pecuarias. Sin embargo, también se llegó a la conclusión de que los suplementos dietéticos de Cr podrían ser benéficos para la salud y el bienestar de los rumiantes en momentos de estrés.

Además del deterioro de la función de la insulina, la deficiencia de Cr se caracteriza por el deterioro de los parámetros que pueden ser pertinentes para la producción animal de alimentos. Estas incluyen opacidades corneales (Roginski y Mertz, 1967), reducción del conteo de espermatozoides y la fertilidad (Anderson y Polansky, 1981), disminución de la tasa de supervivencia (Schroeder *et al.*, 1965), disminución de la tasa de crecimiento (Schroeder *et al.*, 1963) y Reducción de la longevidad (Evans y Mayer, 1994). Los factores estresantes enmascaran los síntomas de la deficiencia de Cr (Roginski y Mertz, 1969).

3. JUSTIFICACIÓN

El carnero reproductor tiene un papel relevante en los resultados reproductivos del rebaño suele ser, el macho proporciona la mitad del patrimonio genético de la descendencia y constituye el pilar básico para la mejora genética del rebaño, de esta forma puede ser corresponsable de la producción de 100 a 130 corderos al año en monta natural y de mucho más cuando se destina a Inseminación Artificial.

Por otra parte las variables que determinan la eficacia reproductiva no dependen solo de la oveja. En ellos está también involucrado el carnero a través de las variaciones estacionales de su actividad sexual, de su libido y de la cantidad y calidad del semen producido. Por lo tanto y por las razones antes mencionadas es importante la realización de trabajos de investigación encaminados al mejoramiento reproductivo del carnero.

Con relación a la utilización de minerales traza, en los últimos años ha cambiado el concepto sobre la nutrición mineral y se le puede atribuir a tres aspectos generales: primero el descubrimiento de los nuevos elementos traza y aceptación como sustancias biológicamente activas: segundo mayor investigación y comprensión de la interacción de los elementos traza, y el reconocimiento de su importancia como determinante del metabolismo, salud y estado nutricional: tercero, mejor definición de los requerimientos de elementos minerales en los animales.

Por lo general, cuando se balancea una dieta para ovinos que pretende cubrir niveles de producción elevados se consideran los requerimientos nutricionales de energía, proteína total, proteína degradable y no degradable en rumen, así como los macroelementos calcio y fósforo. Un aspecto nutricional muy importante, los minerales traza, frecuentemente es relegado. La función de los microelementos (Cu, Fe, Zn, Co, Mn, Mo, Se, Cr) comúnmente se subestima y su presencia en el alimento en cantidades adecuadas se da por hecho. Sin embargo, los minerales traza son necesarios para mantener varias funciones corporales, participa en varios sistemas enzimáticos, para optimizar el crecimiento y la reproducción, así como para una respuesta inmune apropiada. Por lo tanto, la nutrición de minerales traza puede determinar el estado de salud del animal, y la deficiencia de uno o más de los elementos traza puede causar una considerable reducción en el comportamiento animal.

El Cromo y el Selenio, además del Co, Cu, Fe, Zn, son los elementos traza orgánicos específicos que actualmente interesa en la nutrición animal. Los seis microminerales citados están estrechamente vinculados con la salud y el crecimiento del animal, por lo que existe gran potencial, tanto en la investigación básica como aplicada de los elementos traza orgánicos, y por lo tanto gran interés en estudiarlos en pequeños rumiantes como los ovinos.

En el centro del territorio mexicano se han diagnosticado desbalances de microminerales con deficiencias graves de I, Se, Zn y Cu en los rebaños ovinos, pero no se han establecido programas de suministro de minerales para corregir las deficiencias y evaluar la respuesta animal (Vázquez- Armijo *et al.*, 2011). Ramírez *et al.* (2004) diagnosticaron carencias de Se en rebaños ovinos de Tlaxcala y Puebla, México. La carencia de Cu se asocia al bajo contenido de ese mineral en el suelo y los forrajes, al pH ácido del suelo y al exceso de Fe en los forrajes y el suelo, lo cual afecta su absorción y contenido sérico en ovinos (Domínguez-Vara y Huerta-Bravo, 2008). Los problemas de bocio en ovinos están relacionados con una deficiencia natural de I, la cual probablemente involucra la carencia de Se y la presencia de contaminantes del ambiente que causan trastornos endócrinos (Domínguez-Vara *et al.*, 2017). Por lo tanto, estos desequilibrios minerales se consideran factores que afectan la salud, el crecimiento y la reproducción en rumiantes (Minson, 1990).

Hay una relación estrecha entre el tamaño de los testículos y la producción de semen; así, sementales ovinos con testículos pequeños pueden no producir suficiente esperma durante el período de empadre para lograr buena tasa de fertilidad (Mahmoud, 2013). Durante la época reproductiva, el incremento de la actividad sexual de los sementales ovinos aumenta sus requerimientos nutricionales para la producción de semen en un período corto (época de empadre), esto puede inducir a deficiencia de Se y causar mayor estrés oxidativo, con menor producción y calidad del semen (Ahsan *et al.*, 2014; Zubair *et al.*, 2015).

En rumiantes pequeños, el suministro de Se para complementar el aporte de los forrajes, incluye adicionar premezclas al alimento, aplicación subcutánea o bucal en solución y el uso de bolos o comprimidos de Se intraruminales; este último método puede permitir complementar el Se de forma práctica, segura y efectiva, y a un costo bajo (Langlands *et al.*, 1994, Ramírez- Bribiesca *et al.*, 2004; Revilla-Vázquez *et al.*, 2008).

4. HIPÓTESIS

La complementación, a corderos en fase de crecimiento y finalización, de los micro elementos traza orgánicos, Selenio (Sel-plex) y Cromo (Bio-Cromo), a diferentes dosis, mejora la calidad del semen y aumenta la tasa de crecimiento testicular.

5. OBJETIVOS

General

El objetivo del presente estudio comprende evaluar, en ovinos $\frac{3}{4}$ encastados de la raza Rambouillet, en la fase de crecimiento y finalización, el efecto de complementar los elementos traza selenio y cromo, de fuentes orgánicas, (Sel-plex) y (Bio-Cromo), a diferentes dosis, sobre el crecimiento testicular y la calidad macroscópica del semen.

Específicos

- Determinar la tasa de crecimiento testicular en los corderos mediante la medición del diámetro y circunferencia escrotal *in vivo*.
- Determinar, mediante electro eyaculación y colección con vagina artificial, la calidad del semen en ovinos suplementados con selenio y cromo orgánicos en términos de volumen, concentración, movilidad, color, morfología y células vivas.
- Medir *postmortem* el peso, longitud y circunferencia testicular en ovinos complementados con selenio y cromo orgánicos sacrificados al final de la engorda.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. Material

Material biológico

- ◆ 36 ovinos machos enteros en engorda intensiva
- ◆ Semen de 36 ovinos con una edad entre 6 y 7 meses
- ◆ Tejido testicular de 36 ovinos

Material de laboratorio

- ◆ Microscopio óptico
- ◆ Hemocitómetro
- ◆ Pipetas graduadas de 1/100 ml
- ◆ Tubos de ensayo del No. 13
- ◆ Tubos de ensayo de 5 ml graduados
- ◆ Laminillas
- ◆ Gradilla
- ◆ Agua destilada
- ◆ Citrato de Na
- ◆ Rosa de bengala
- ◆ Eosina/Nigrosina

Material de campo

- ◆ Electro eyaculador
- ◆ Vagina artificial
- ◆ Parafilm
- ◆ Tijeras
- ◆ Cinta adhesiva
- ◆ Vernier
- ◆ Cinta métrica flexible
- ◆ Overol

- ◆ Botas de hule
- ◆ Hojas de registro
- ◆ Pluma

Material experimental

Como unidades experimentales, se utilizaron 36 corderos $\frac{3}{4}$ Rambouillet con peso vivo (PVinicio=27.0±4.83 kg y PVfinal=39.3±3.81 kg), los cuales fueron asignados aleatoriamente a seis tratamientos formados por las combinaciones de los factores de la concentración de Cr (tres niveles: cero, 0.250 y 0.350 ppm) y de selenio (dos niveles: cero y 0.3 ppm) adicionados en las dietas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición en (% BS) de las dietas experimentales¹.

Ingredientes	Tratamientos (Dietas experimentales)					
	Cero ppm de Se			0.3 ppm de Se ²		
	Sin Cr	0.250 ppm ³	0.350 ppm ³	Sin Cr	0.250 ppm ³	0.350 ppm ³
Maíz	65.0	65.0	65.0	65.0	65.0	65.0
Rastrojo de maíz	12.8	12.8	12.8	12.8	12.8	12.8
Pollinaza	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0
Heno de alfalfa	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Minerales	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Harina de soya	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Salvado	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Har. de pescado	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Urea	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Carbonato de Ca	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

¹Aporte nutritivo estimado: EM: 2.8 Mcal/Kg MS, PC 14.86 %, PDR: 9.5 %, PNDR: 5.36%, Ca:0.98 %, P:0.5 %. Balanceo de raciones de las dietas con el programa de computo User Feed Formulation Done Again (UFFDA); Pesti and Miller (1993); Georgia University. Dietas para GDP de 300 g/día (NRC, 1997).

²Premezcla de selenio orgánico (Sel-Plex); dosis: 0 y 3 g/animal (0 y 0.3 ppm de Se).

³Premezcla de cromo orgánico (Bio-Cromo) 1000 ppm de Cr +3; dosis: cero, 2.5 y 3.5 g/animal (cero, 0.25 y 0.35 ppm de Cr).

Previo al experimento los animales fueron desparasitados y vacunados con bacteriana Multibac-7 (3ml animal⁻¹). Permanecieron por 10 días de fase de adaptación a la dieta base,

con acceso libre al alimento y agua. Las dietas fueron muestreadas y analizadas en su composición químico proximal de fibra detergente neutro y de minerales.

6.2. Métodos

Mediciones testiculares

Diámetro mayor: fue medido con vernier en su diámetro mayor.

Circunferencia testicular: Se midió con cinta métrica flexible, la medición se realizó jalando los testículos suavemente hasta la base del escroto. La medición se realizó en su perímetro mayor y se restó el diámetro del escroto libre.

Obtención del semen

La obtención del eyaculado, fue por el método de electro eyaculación, el cual consiste en una estimulación eléctrica del plexo lumbo-sacro, dependiente del nervio pudendo. Se introjo por el recto un electrodo bipolar o multipolar, el cual estuvo conectado a un transformador el cual permite descargas controladas y rítmicas con un voltaje de 16 a 25 volts y 1 amperio de intensidad por el operador.

El carnero permaneció colocado en posición decúbito lateral derecho y sujetado fuertemente dado que al ser excitados los nervios obturador y ciático, los miembros posteriores reaccionan violentamente, previamente el pene fue protruido del prepucio y sujetado con una gasa, para ser introducido en la copa recolectora de semen.

Se realizó una ligera presión del electrodo sobre el suelo de la pelvis, aplicándose luego cortos estímulos eléctricos a intervalos de tres segundos de estimulación y cinco segundos de descanso. Después de 4 a 6 estímulos fluyó la secreción de las glándulas accesorias y el semen (Evans y Maxwell, 1990; Duran, 1993).

Evaluación del semen

Evaluación macroscópica

Volumen. La evaluación se llevó a cabo en el mismo tubo de ensayo graduado, el cual se presentó en rangos de 0.4 a 1.2 ml, dependiendo de la excitación del carnero, raza, edad, tipo de recolección y habilidad del operador. Cuando el semen se obtiene por electroeyaculación, el eyaculado es de menor calidad.

Consistencia. Depende de la relación en el contenido de sus dos constituyentes; espermatozoides y líquido seminal, las muestras de semen de alta consistencia, contienen más espermatozoides que las que tienen menor consistencia o son más acuosas o turbias. El semen del carnero se puede clasificar en diferentes tipos de consistencia (Cuadro 2), los valores para el número de espermatozoides se determinan mediante hemocitómetro.

Cuadro 2. Concentración de semen de carnero valorada por su consistencia.

Valor	Consistencia	N° de espermatozoides (10 ⁹) por mL	
		Media	Valores extremos
5	Creмоса espesa	5.0	4.5-6.0
4	Creмоса	4.0	3.5-4.5
3	Creмоса tenue	3.0	2.5-3.5
2	Lechosa	2.0	2.0-1.0
1	Nebulosa	0.7	0.7- 0.3
0	Clara (acuosa)	Insignificante	

Fuente: (Mc Donald, 1983).

Movilidad masal. La movilidad masal puede ser observada a simple vista, en algunos casos se podrá notar la ausencia de movilidad, o por el contrario, movilidad en forma de oleaje intenso que proyecta particulares ondas claras y oscuras en forma de torbellino. Las características de estas ondas pueden indicar el tipo de semen; ondas espesas pero lentas, suponen un semen muy denso pero con muchos espermatozoides muertos, arrastrados por los vivos. Ondas rápidas de menos espesor indican buena motilidad pero baja concentración. Ausencia de motilidad de masa y opacidad pueden indicar azoospermia

Evaluación microscópica

Concentración de espermatozoides. La determinación, con exactitud, de la concentración, esto es, el número de espermatozoides por unidad de volumen (normalmente expresado en

mL), es muy importante ya que la relación de dilución depende de ella. El semen de carnero de buena calidad contiene 3.5 a 6.0 mil millones de espermatozoides por mL.

La concentración de espermatozoides fue evaluada con uso de un hemocitómetro.

Hemocitómetro. El juego (kit) del hemocitometro completo (o contador de células sanguíneas) está formado por una cámara de contaje, un cubre objetos y dos pipetas de mezcla provista de un tubo flexible y una boquilla. La cámara de contaje es un porta de vidrio grueso provista de dos retículas de contaje, situadas en la zona del centro. El diseño de la retícula varía según el tipo de hemocitometro, pero normalmente contiene grupos de 16 cuadros pequeños divididos por líneas dobles o triples en cuadrados más grandes.

Es necesario diluir el semen en una solución de Citrato de Na al 3 %, esta solución hipertónica inmoviliza a los espermatozoides para el contaje.

Los pasos para determinar la concentración de semen por el método modificado del hemocitómetro son los siguientes:

- ◆ Preparar la cámara de contaje, situando el cubreobjetos sobre el vidrio.
- ◆ Mezclar el semen.
- ◆ Montar el tubo y la boquilla en la pipeta y aspirar una muestra de semen hasta la marca de 0.5 mantener la lengua contra el agujeró de la boquilla y retirar la pipeta del semen.
- ◆ Aspirar la solución de citrato de Na al 2.9% hasta la marca 101.
- ◆ Mezclar la solución de citrato con el semen.
- ◆ Se extraen 0.05 ml de la mezcla y se aplica colorante (rosa de bengala).
- ◆ Contactar la punta de la pipeta con el borde de la cámara permitiendo que se deslice, por debajo del cubre, una gota de la muestra.
- ◆ Dejar en reposo de 1 a 3 min. para permitir que los espermatozoides sedimenten.
- ◆ Observar al microscopio con el aumento de 40 x y realizar el conteo, contar el número de espermatozoides en 5 cuadros grandes, cada uno contiene 16 cuadros pequeños. Se deben contar los cuadrados de los extremos y uno central, en los modelos de 25 cuadros grandes, contar las cabezas de los espermatozoides visibles.
- ◆ Anotar el número total de espermatozoides en los 5 cuadros.

- ◆ La concentración de espermatozoides por ml de semen se calcula simplemente multiplicando el número total de espermatozoides en las 5 cuadrillas grandes. Por ejemplo si a contado 450 espermatozoides, la concentración de la muestra original será de $450 \times 10^7 = 4.5 \times 10^9$ ó 4,500 millones de espermatozoides por ml de semen.

Evaluación morfológica de los espermatozoides

El examen morfológico del semen es una prueba de control de calidad. Cada eyaculado contiene una serie de espermatozoides anormales, la proporción anormalidades primarias, secundarias y terciarias no deberá ser mayor a 30%.

Para el examen rutinario de la morfología de los espermatozoides se utilizó la técnica de preparación de frotis de semen teñido con eosina nigrosina.

Se mezcló el semen y el colorante, extendiéndose sobre la laminilla una gota de la mezcla y con la ayuda del borde de otra laminilla para que actué como extendedor, de tal manera que se forme una delgada película sobre la laminilla, para su posterior evaluación al microscopio óptico, con el objetivo de alta resolución y aceite de inmersión.

Principales alteraciones morfológicas

- ◆ Acrosoma normal.
- ◆ Cabeza adelgazada.
- ◆ Cabeza agrandada.
- ◆ Cabeza pequeña.
- ◆ Cola retorcida.
- ◆ Rotura del cuello.
- ◆ Rotura de pieza intermedia.
- ◆ Sin cola.

Diseño experimental y análisis estadístico

Diseño Experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3 x 2, que produce seis combinaciones (tratamientos). Cada tratamiento contó con seis repeticiones, animales considerados como unidades experimentales, por lo que se usaron 36 corderos en total.

Análisis estadístico. El método usado fue el análisis de contraste de variables utilizando la declaración GLM REPEATED del programa SAS (2009).

El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + C_i + S_j + (\text{Cromo} \times \text{Selenio})_{ij} + E_{ij}$$

Dónde:

μ = Media

C_i = Tratamiento con Cromo

S_j = Tratamiento con Selenio

E_{ij} = Error experimental

Contrastes probados:

-
- 1). El Promedio del nivel de Se bajo = promedio de Se alto.
 - 2). El promedio de nivel cero de Cr sin Se = Promedio del nivel 0.250+0.350 ppm de Cr sin Se.
 - 3). El promedio del nivel de Cr bajo sin Se = Promedio del nivel Cr alto sin Se.
 - 4). El promedio de nivel cero de Cr con Se = Promedio del nivel 0.250+0.350 ppm de Cr con Se.
 - 5). El promedio del nivel de Cr bajo con Se = Promedio del nivel Cr alto con Se.
-

7. LÍMITE DE ESPACIO

El presente trabajo se realizó en la Unidad Ovina de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México. La unidad ovina está localizada en las instalaciones de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México, ubicada en el Cerrillo Piedras Blancas, Municipio de Toluca Estado de México. Está situada a los 19° 42' 16'' de latitud norte; 90° 39' 38'' de longitud oeste del meridiano de Greewich, una altitud de 2600 msnm. La precipitación pluvial varia de 800 a 1200 mm, el clima de la región es tipo C(w₂) (w) que corresponde a templado frío con lluvias en verano (García, 1987).

La evaluación de las muestras se realizó en los laboratorios de prácticas de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México.

8. LÍMITE DE TIEMPO

El presente trabajo tuvo una duración aproximada de 6 meses a partir de la aprobación del protocolo.

Actividad	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.
Elaboración del protocolo	X	X	X							
Trabajo experimental			X	X						
Análisis de datos					X	X				
Redacción del trabajo final							X	X		
Revisión de tesis concluida								X	X	X

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación testicular

En el Cuadro 1 se muestran los valores medios del diámetro y perímetro testicular de los ovinos, medido con vernier y cinta métrica, a través del período del estudio (95 días). En la variable diámetro testicular, solamente hubo efecto del tratamiento con Se vs sin Se (contraste 1; $P \leq 0.07$), así como del nivel cero Cr vs tratados con ambos niveles de Cr, sin suministro de Se (contraste 2; $P \leq 0.08$). Asimismo, en la variable perímetro testicular, hubo efecto del tratamiento con Se vs sin Se (contraste 1; $P \leq 0.06$), así como del nivel cero Cr vs tratados con ambos niveles de Cr, sin suministro de Se (contraste 2; $P \leq 0.05$). Lo anterior indica que los testículos de ovinos que recibieron 0.3 ppm de Se, y los de ovinos que recibieron 0.250 y 0.350 ppm de Cr pero sin Se, crecieron más que los de los otros tratamientos.

Con respecto al Se, los resultados difieren de lo observado por Carrillo-Nieto *et al.* (2018) quienes consignaron que un bolo intra ruminal de cristal soluble con Se aplicado a sementales ovinos de las razas Suffolk y Hampshire no cambiaron la circunferencia escrotal ni la condición corporal ($P > 0.05$) (Cuadro 1); asimismo, Mahmoud *et al.* (2013) no observaron efecto del Se combinado con vitamina E en el peso vivo, la ganancia de peso o la circunferencia escrotal de sementales ovinos. En contraste, Megahed *et al.* (2002) indicaron que el Se inorgánico, en forma de selenito de sodio, aplicado a ovinos de 18 a 24 meses de edad, aumentó el perímetro testicular a partir de la sexta semana.

Cuadro 3. Efecto de los minerales selenio y cromo orgánicos en el diámetro y perímetro testicular promedio de ovinos medido *in vivo* con vernier y cinta.

Variables	Tratamientos (factores Se, Cr y sus niveles, ppm) ^a						Contrastes Ortogonales				
	Cero ppm Se			0.3 ppm Se			1)	2)	3)	4)	5)
	Sin Cr	0.250 Cr	0.350 Cr	Sin Cr	0.250 Cr	0.350 Cr					
Diámetro ^p c/vernier (cm)	7.3±2.0	8.2±2.2	8.1±2.7	8.5±2.4	8.6±1.9	8.6±2.1	0.07	0.08	ns	ns	ns
Perímetro c/cinta (cm) ^p	11.0±3.1	12.2±2.7	11.8±3.7	12.7±3.1	12.6±3.1	12.8±2.5	0.06	0.05	ns	ns	ns

^aLos datos son promedios de 6 mediciones hechas durante el período de alimentación (95 días), en 36 ovinos.

Promedio ± Desviación estándar

^pEfecto de período de muestreo ($P < 0.05$).

En relación al Cr, Nava-López (2004) indicó que, en sementales ovinos en condiciones de confinamiento, complementados con 0.350 ppm de Cr orgánico hubo efecto significativo ($P < 0.01$) de la interacción del tratamiento con Cr con la época reproductiva de los carneros.

En el Cuadro 2, se muestran los resultados de las mediciones *in situ* realizadas en los testículos post matanza de los ovinos en un obrador de carne del municipio de Capulhuac, México. Con respecto al peso de los testículos, hubo efecto del Se vs sin Se (contraste 1; $P \leq 0.06$) en donde los órganos testiculares de los ovinos que recibieron el Se fueron más pesados; asimismo, se observó que los ovinos con 0.250 ppm de Cr (contraste 3; $P \leq 0.03$) sin Se, y los ovinos con 0.250 ppm de Cr (contraste 5; $P \leq 0.06$) con Se mostraron mayor peso testicular que el resto de los tratamientos. Con respecto a las mediciones del perímetro testicular medio y longitud testicular media, solamente se observó efecto del Se (contraste 1; $P \leq 0.02$ y $P \leq 0.05$), respectivamente. Lo anterior coincide con las mediciones de diámetro y perímetro testicular realizadas *in vivo* durante el desarrollo del estudio.

Cuadro 4. Efecto de los minerales selenio y cromo orgánicos en el peso (g) y medidas testiculares (cm) de ovinos faenados al final de la engorda^a.

Variables	Tratamientos (factores Se, Cr y sus niveles)						Contrastes Ortogonales				
	Cero ppm de Se			0.3 ppm de Se			1)	2)	3)	4)	5)
	Sin Cr	0.250 Cr	0.350 Cr	Sin Cr	0.250 Cr	0.350 Cr					
Peso testicular	433.3±28.8	507.5±105.3	436.3±43.8	445.0±32.8	633.3±115.4	512.5±94.6	0.06	ns	0.03	ns	0.06
Diámetro T Izq.	16.33±1.2	16.97±1.7	15.77±0.9	17.53±0.5	18.66±1.3	17.22±1.2	0.01	ns	ns	ns	ns
Diámetro T Der.	16.00±0.8	17.376±1.5	16.20±0.7	17.16±0.4	18.26±1.3	17.20±1.2	0.04	ns	ns	ns	ns
Diámetro medio	16.16±1.0	17.17±1.6	15.98±0.5	17.35±0.3	18.46±1.3	17.21±1.2	0.02	ns	ns	ns	ns
Longitud T Izq.	12.66±0.3	12.75±1.3	12.57±0.4	12.83±1.0	14.43±1.5	13.27±1.7	ns	ns	ns	ns	ns
Longitud T Der.	13.16±0.3	12.75±1.7	12.10±0.7	13.33±1.5	15.06±1.7	13.52±1.2	0.03	ns	ns	ns	ns
Longitud media	12.91±0.1	12.75±1.5	12.33±0.5	13.08±1.0	14.75±1.6	13.40±1.4	0.05	ns	ns	ns	ns

^aLos datos son promedios de seis ovinos por tratamiento (n=36).
Promedio ± Desviación estándar

Evaluación macroscópica del semen

En los Cuadros 3 y 4, se muestran las variables relacionadas con la calidad del semen de los ovinos, evaluado en dos ocasiones (días 30 y 60) durante el estudio, mediante electro eyaculador y vagina artificial.

Consistencia

Con respecto a la consistencia del semen eyaculado, en ambos días de evaluación, hubo efecto del Se, del Cr sin Se, del nivel de Cr sin Se y del Cr con Se ($P \leq 0.05$). Asimismo, los valores de consistencia fueron mayores ($P \leq 0.05$) al día 60 de evaluación. Los valores de la consistencia del semen eyaculado por los ovinos de los tratamientos con 0.250 y 0.350 ppm de Cr sin Se, así como del tratamiento 0.3 ppm de Se sin Cr, estuvieron en los puntos 2.28 a 2.40, lo cual significa que tuvieron consistencia de lechosa a cremosa tenue, siendo de mayor calidad que la de los ovinos de los otros tres tratamientos, esperándose una concentración de 2 a 3 mil millones células espermáticas por mL de semen eyaculado (Mc Donald, 1983). En otros estudios, Carrillo-Nieto et al. (2018) no observaron efecto en la consistencia del semen eyaculado por sementales ovinos de las razas Suffolk y Hampshire complementados con Se suministrado a través de un bolo intra ruminal de cristal soluble con Se, aunque los valores promedio de consistencia fueron mayores (2.98 a 3.07) que los obtenidos en el presente estudio. Por otro lado, Nava-López (2004) encontró que sementales ovinos, evaluados durante la época reproductiva, complementados con 0.350 ppm de Cr orgánico en su dieta, tuvieron mejor consistencia (cremoso espeso 54.0 vs 42.1 %, cremoso 35.5 vs 33.3%) que los sementales control.

Volumen

En el análisis de la variable volumen del semen eyaculado, hubo efecto del período de medición ($P \leq 0.05$); además, en el día 60 de medición, se observó efecto del nivel de Cr sin Se ($P \leq 0.03$) y de cero Cr vs ambos niveles de Cr con Se ($P \leq 0.05$). Megahed et al. (2002) encontraron que el Se y la vitamina E aumentaron el volumen de eyaculado de 1.28 a 2.05 mL en sementales ovinos después de la octava semana del suministro. En contraste, Kendall et al. (2000) indicaron que el Se y Zn no afectaron el volumen del eyaculado en ovinos de ocho meses de edad. Por otro lado, Carrillo-Nieto *et al.* (2018) en la zona del valle de Toluca, México, no encontraron efecto del Se inorgánico en el volumen de eyaculado de sementales ovinos de la raza Suffolk y Hampshire, con valores promedio superiores a los del presente estudio (0.87 a 0.91 mL), sobretodo en la raza Suffolk en el mes de diciembre (1.03 mL). Sin embargo, en el mismo estudio los autores indicaron que la movilidad masal fue mayor en los sementales que recibieron el Se orgánico (3.2 vs 3.47 puntos), principalmente en los meses de diciembre y enero.

Respecto al efecto del Cr en el volumen del eyaculado, Nava-López (2004) consignó que el suministro de 0.350 ppm de Cr Metionina a sementales ovinos mejoró esta variable, sobre todo cuando los carneros estaban en la época reproductiva (0.94 vs 1.15 mL).

Movilidad

En relación con la variable movilidad masal del semen eyaculado, hubo efecto del período de evaluación ($P \leq 0.05$); asimismo, en esta variable, en ambos días de evaluación, hubo efecto significativo en todos los contrastes probados ($P \leq 0.05$). Por lo tanto, lo anterior indica que el Cr de fuente orgánica, a diferente concentración, con y sin inclusión de Se, mejora la calidad del semen, aumentando la capacidad de movilidad de las células espermáticas del eyaculado de ovinos conforme son complementados con estos minerales orgánicos en la dieta; lo anterior, probablemente está relacionado con un mayor aporte para cubrir los requerimientos de Se y Cr en el tejido testicular y otros órganos blanco, lo cual puede influir en la espermatogénesis. Carrillo-Nieto *et al.* (2018) observaron que el Se indujo mayor movilidad de los espermatozoides. El aumento de la movilidad de las células espermáticas, así como del porcentaje de espermatozoides vivos y normales de sementales suplementados con Se, probablemente se relaciona con la mayor actividad de la enzima GSH-Px promovida por el Se suministrado. Esto coincide con los hallazgos de Kendall *et al.* (2000) en sementales ovinos tratados con bolos de cristal soluble conteniendo Zn, Co y Se.

El Se suministrado en forma de Se orgánico puede aumentar la actividad de la enzima GSH-Px mediante su función antioxidante, proporcionando mayor protección contra la peroxidación lipídica espontánea de la membrana plasmática de la célula espermática creando una barrera con permeabilidad selectiva, suministrando enzimas y sustratos citoplásmicos que aumentan la movilidad y sobrevivencia del espermatozoide (Álvarez y Storey, 1984; Zubair *et al.*, 2015). Por lo tanto, los sementales ovinos que el Se mejoraron la calidad del semen, probablemente debido a la formación de selenoproteínas en el tejido testicular, con mayor estimulación de la espermatogénesis (Ahsan *et al.*, 2014).

Concentración

En relación con la variable concentración de células espermáticas por mL de semen eyaculado, se observó efecto del período de evaluación ($P \leq 0.05$); asimismo, en esta variable,

en ambos días de evaluación, hubo efecto en todos los contrastes probados ($P \leq 0.05$). Lo anterior significa que, tanto el Se como el Cr, a diferente concentración, con y sin Se, mejoran la calidad del semen, aumentando el total de células espermáticas del eyaculado de ovinos a medida que reciben la complementación de estos minerales orgánicos en la dieta, debido, probablemente a que cubren mejor sus requerimientos de Se y Cr en el tejido testicular, lo cual puede influir en la espermatogénesis. Los resultados obtenidos en el presente estudio coinciden con los del trabajo realizado por Carrillo-Nieto *et al.* (2018) en el cual el Se inorgánico indujo mayor concentración ($P \leq 0.05$) de células espermáticas, sobre todo en los eyaculados extraídos en el mes de enero. Megahed *et al.* (2002) observaron efectos del Se y vitamina E en la concentración de espermatozoides del semen eyaculado de ovinos.

El aumento significativo en la variable de concentración de espermatozoides en el semen eyaculado de los sementales tratados con Se es consistente con los resultados de (Mahmoud *et al.*, 2013) en sementales ovinos tratados con Se y vitamina E; también coinciden con los resultados de (El-Sharaw *et al.*, 2017) en búfalos tratados con levadura de Se y selenito de sodio. Asimismo, Kumar *et al.* (2013) observaron que los sementales caprinos tratados con Se y Zn orgánicos mejoraron significativamente su estado antioxidativo, con lo cual los espermatozoides estuvieron mejor protegidos del daño oxidativo para producir un semen de mejor calidad.

Cuadro 5. Efecto de los minerales selenio y cromo orgánicos en la consistencia (escala 0-5), volumen (mL), movilidad masal (escala 1-5) y concentración de células espermáticas (células/mL) en eyaculado de ovinos muestreados en dos períodos.

Variables	Tratamientos (factores Se, Cr y sus niveles) ^a						Contrastes Ortogonales				
	Cero ppm de Se			0.3 ppm de Se			1)	2)	3)	4)	5)
	Sin Cr	0.250 Cr	0.350 Cr	Sin Cr	0.250 Cr	0.350 Cr					
Consistencia ^d día 30 ^p	0.83±0.9	1.14±0.6	1.60±1.2	1.60±0.4	1.80±1.2	1.75±1.2	0.05	0.05	0.02	0.04	ns
Consistencia ^b día 60 ^p	1.76±0.9	2.28±1.2	2.30±0.5	2.40±1.5	1.90±0.6	1.87±0.8	0.05	0.05	0.03	0.05	ns
Volumen día 30 ^p	0.46±0.4	0.71±0.4	0.54±0.3	0.58±0.2	0.66±0.2	0.56±0.2	ns	ns	ns	ns	ns
Volumen día 60 ^p	0.51±0.2	0.87±0.3	0.60±0.4	0.68±0.2	0.80±0.3	0.85±0.1	ns	ns	0.03	0.05	ns
Movilidad ^c día 30 ^p	3.23±0.6	3.45±0.5	3.47±0.7	3.26±0.4	3.56±0.3	3.65±0.5	0.05	0.05	0.05	0.01	0.01
Movilidad ^c día 60 ^p	3.35±0.4	3.64±0.6	3.70±0.8	3.65±0.3	3.85±0.7	3.89±0.6	0.02	0.05	0.05	0.03	0.05
Células/mL día 30 ^p	856,059 ±47,429	930,286 ±52,123	1,490,167 ±65,568	1,730,231 ±54,090	1,572,000 ±48,987	1,654,250 ±51,235	0.01	0.05	0.04	0.05	0.05
Células/mL día 60 ^p	1,114,442 ±90,654	1,269,813 ±87,945	2,234,804 ±87,345	2,818,026 ±89,034	2,520,619 ±78,034	2,780,847 ±98,080	0.02	0.03	0.02	0.05	0.05

^aEl total de ovinos muestreados fue de 36 en cada período.

^bConsistencia (escala 0-5 puntos).

^cMovilidad masal (escala 1-5 puntos).

^pEfecto de período de muestreo ($P < 0.05$).

En relación con el efecto del Cr en la concentración de células espermáticas, los resultados del presente estudio muestran valores inferiores a los obtenidos por (Nava-López, 2004) quien suministró 0.350 ppm de Cr orgánico a sementales ovinos adultos en época reproductiva y no reproductiva, pero este autor no encontró diferencias en la concentración de espermatozoides en el semen eyaculado por efecto del Cr.

Evaluación de las características morfológicas

Anormalidades

La evaluación de las anomalías primarias y secundarias presentadas por las células espermáticas, fue afectada por el período de medición, disminuyendo significativamente a través del tiempo del estudio ($P \leq 0.05$); asimismo, en la evaluación del día 30 se observaron efectos en todos los contrastes probados ($P \leq 0.05$) y, en la evaluación del día 60, hubo efecto en los contrastes 1, 2 y 3 ($P \leq 0.05$) (Cuadro 4). Lo anterior significa que en la primera evaluación, los minerales orgánicos Se y Cr, en sus diferentes dosis, con y sin Se, redujeron las anomalías de las células espermáticas, pero en la segunda evaluación, no hubo efecto del Cr, o del nivel de este, cuando se suministró 0.3 ppm de Se en la dieta de los ovinos.

Nava-López (2004) indicó que el suministro de 0.350 ppm de Cr orgánico a sementales ovinos adultos mostró una tendencia a influir en las características morfológicas del semen eyaculado, mejorando los valores de células espermáticas normales y reduciendo las anormales ($P < 0.08$), principalmente en la época reproductiva.

El Se influye en forma directa sobre las células intersticiales de los testículos, por lo tanto, puede mejorar la función testicular y la calidad del semen (Underwood, 1977), y de forma indirecta, vía su efecto en la secreción de hormonas de la glándula pituitaria anterior (Yousef *et al.*, 1990). El suministro de Se combinado con la vitamina E aumenta la concentración sérica de testosterona, la actividad de la enzima GSH-Px, con una mayor manifestación de los caracteres sexuales secundarios masculinos (Bearden y Fuquay, 1997; Mahmoud *et al.*, 2013). Además, el Se es necesario para el desarrollo de las células germinales de los testículos durante la formación de los espermatozoides y tiene efectos positivos sobre el total de células germinales en individuos adultos (Liu *et al.*, 1982).

Cuadro 6. Efecto de los minerales selenio y cromo orgánicos en la presencia de anomalías en células espermáticas en semen eyaculado de ovinos en dos períodos.

Variables	Tratamientos (factores Se, Cr y sus niveles) ^a						Contrastes Ortogonales				
	Cero ppm de Se			0.3 ppm de Se			1)	2)	3)	4)	5)
	Sin Cr	0.250 Cr	0.350 Cr	Sin Cr	0.250 Cr	0.350 Cr					
Anormalidades día 30, % ^p	12.6±4.7	10.2±3.5	6.2±2.5	10.4±6.1	8.5±3.9	6.1±2.6	0.05	0.05	0.02	0.04	0.01
Anormalidades día 60, % ^p	8.8±4.8	6.9±3.3	5.0±3.2	4.6±2.6	4.5±3.5	3.8±2.4	0.05	0.05	0.03	ns	ns

^aEl total de ovinos muestreados fue de 36 en cada período.

Promedio ± Desviación estándar.

10. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio se concluye.

Las mediciones *in vivo* indicaron que los testículos de ovinos que recibieron 0.3 ppm de Se, y los de ovinos que recibieron 0.250 y 0.350 ppm de Cr pero sin Se, crecieron más que los de los otros tratamientos.

Las mediciones *in situ* indicaron que los testículos de los ovinos que recibieron Se fueron más pesados, con mayor perímetro y longitud; asimismo, los ovinos con 0.250 ppm de Cr sin Se, y los ovinos con 0.250 ppm de Cr con Se mostraron mayor peso testicular que el resto de los tratamientos.

Con respecto a la calidad del semen eyaculado, en la consistencia, en ambos días de evaluación, hubo efecto del Se, del Cr sin Se, del nivel de Cr sin Se y del Cr con Se ($P \leq 0.05$); asimismo, los valores de consistencia fueron mayores ($P \leq 0.05$) al día 60 de evaluación.

El volumen del semen eyaculado fue afectado por el período; en el día 60 hubo efecto del nivel de Cr sin Se y del nivel cero de Cr comparado con ambos niveles de Cr con Se ($P \leq 0.05$).

La movilidad masal y concentración de células espermáticas del semen eyaculado fue afectada por el período de evaluación y, en virtud de que hubo efecto en todos los contrastes probados, tanto el Se como el Cr, a diferente concentración, con y sin Se, mejoraron la calidad del semen, aumentando su movilidad así como el total de células espermáticas del eyaculado de los ovinos.

En la primera evaluación, los minerales orgánicos Se y Cr, en sus diferentes dosis, con y sin Se, redujeron las anomalías de las células espermáticas del semen eyaculado.

11. LITERATURA CITADA

- Ahsan, U., Z. Kamran, I. Raza, S. Ahmad, W. Babar, M. H. Riaz, and Z. Iqbal. 2014. Role of selenium in male reproduction- A review. *Anim. Reprod. Sci.* 146: 55-62.
- Allen, J.G., P. Steele, H.G. Nasters, and N.F. Dantouono. 1986. A study of nutritional myopathy in weaner sheep. *Aust. Vet. J.* 68: 8-13.
- Alvarez, J. G., and B. T. Storey. 1984. Assessment of cell damage caused by spontaneous lipid peroxidation in rabbit spermatozoa. *Biol. Reprod.* 30: 323-331.
- Ammerman, C. B. and Miller, S. M. 1975. Selenium in ruminant nutrition: Review. *J. dairy Sci.* 58: 1561-1571.
- Anderson, R. A., J. H. Brantner, and M. M. Polansky. 1978. An improved assay for biologically active chromium. *J. Agric. Food Chem.* 26:1219-1211.
- Anderson, R. A., and M. M. Polansky. 1985. Dietary chromium deficiency: effect on sperm count and fertility in rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 3:1-8.
- Anderson, R. A. 1986. Chromium metabolism and its role in disease processes in man. *Clin. Physiol. Biochem.* 4:31-43.
- Anderson, R. A. 1987. Chromium. Pages 225-244 In *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. Ed. W. Mertz. Academic Press Inc., San Diego, CA.
- Anderson, R. A., and A. S. Kozlovsky. 1985. Chromium intake, absorption, and excretion of subjects consuming self-selected diets. *Am. J. Clin. Nutr.* 41:1177-1183.
- Anderson, R. A., N. A. Bryden, M. M. Polansky, and S. Reiser. 1990. Urinary chromium excretion and insulinogenic properties of carbohydrates. *Am. J. Clin. Nutr.* 51:864-868.
- Anderson, R. A., N. A. Bryden, and M. M. Polansky. 1993. Form of chromium affects tissue chromium concentration. *FASEB J.* 7:A204-A209.
- Azarini, M. y Ponzoni, R. (1971). *Aspectos modernos de la producción ovina*. Ed. Universidad de la República. Uruguay.
- Bearden, H. J., and J. W. Fuquay. 1997. *Applied Animal Reproduction*. 4th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, USA. 351 p.
- Behall, K. M., J. C. Howe, and R. A. Anderson. 2002. Apparent mineral retention is similar in control and hyperinsulinemic men after consumption of high amylose cornstarch. *J. Nutr.* 132:1886-1891.
- Beorlegui, de B. 1996. *Zootecnia bases de la Producción Animal*. Tomo II., Reproducción y Alimentación. Ed. Mundi-Prensa. México.
- Borel, J. S., T. C. Majerus, M. M. Polansky, P. B. Moser, and R. A. Anderson. 1984. Chromium excretion of trauma patients. *Biol. Trace Elem. Res.* 6:317-326.
- Carbajal, H. M. A., Aquí, Q. G. y Díaz, G. C. 2013. Uso de selenio en ovinos. *Abanico Veterinario*. 3: 44-54.
- Carbo, B. 1996. *Zootecnia bases de la producción animal*. Tomo VIII, Producción ovina. Ed. Mundi-Prensa. México.
- Carrillo-Nieto, O., I.A. Domínguez-Vara, M. Huerta-Bravo, G. Jaramillo-Escutia, S. Díaz-Zarco, J. F. Vázquez-Armijo, N. Pescador-Salas, y A. Revilla-Vázquez. 2018. Actividad de GSH-Px, concentración de selenio y calidad del eyaculado en sementales ovinos suplementados con selenio durante la época reproductiva. *Agrociencia*. 52:827-839.
- Chen, N. S. C., A. Tsai, and I. A. Dyer. 1973. Effect of chelating agents on chromium absorption in rats. *J. Nutr.* 103:1182-1186.
- Church, D.C. 1985. *Fisiología digestiva y nutrición de los Rumiantes*. Ed. Acribia. España.
- Cunningham, M.J.; Stamp, T.J. and Martin, B, W. (1979) *The Management of Diseases of sheep*. Common Wealth. Agricultural Bureax. London.

- Daza, A. 1997. Reproducción y sistemas de explotación del ganado ovino. Ed. Mundi-Prensa. España.
- Davidson, I. W. F., and R. L. Burt. 1973. Physiological changes in plasma chromium of normal and pregnant woman: effect of glucose load. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 116:60-68.
- Davis, C. M., K. H. Sumrall, and J. B. Vincent. 1996. The biologically active form of chromium may activate a membrane phosphotyrosine phosphatase (PTP). *Biochemistry.* 35:12963-12969.
- Davis, C. M., A. C. Royer, and J. B. Vincent. 1997. Synthesis multinuclear chromium assembly activates insulin receptor kinase activity: functional model for low-molecular-weight chromium-binding substance. *J. Inorg. Chem.* 36:5316-5320.
- Denis, J.M. 1990. Ruminant nutrition. Publisher. Academi Press. Florida. Ed. Acribia. España.
- De Lucas, T. J.: (1994) sistemas de producción ovina en el altiplano central Mexicano. Memorias del curso de actualización de ovinos. F.M.V.Z. UAEM. Toluca México pp 35-55.
- Díaz, Z.S. 1993. Determinación de la actividad de la glutación peroxidasa (GSH. PX) y niveles de selenio en sangre en ovinos, suelo y pasto de áreas de producción ovina en el municipio de San Felipe del Progreso, Méx. Tesis de Maestría Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México.
- Domínguez, V. I. A., Jaramillo, E. G., Nava, L. I., y González, R. M. 2004. Cromo orgánico (Cr-L Metionina) y calidad espermática de sementales ovinos. En memorias del Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Buenos Aires, Argentina.
- Domínguez-Vara. I. A., y M. Huerta-Bravo. 2008. Concentración e interrelación mineral en suelo, forraje y suero de ovinos durante dos épocas en el valle de Toluca, México. *Agrociencia* 42: 173-183.
- Domínguez-Vara I., A., F. Salazar-García, R. Montes de Oca- Jiménez, I. Medina-Torres, J. G. Vicente-Martínez, and J. Pinos-Rodríguez M. 2017. Sheep fetal goiter: study case in Mexico. *Trop. and Subtrop. Agroecosyst.* 20: 307-313.
- Dowling, H. J., E. G. Offenbacher, and F. X. Pi-Sunyer. 1989. Absorption of inorganic, trivalent chromium from the vascularly perfused rat small intestine. *J. Nutr.* 119:1138-1145.
- Duran, Del C. A. 1993. Inseminación artificial. p. 43-45. Cap. 3. *In Manual práctico de reproducción e inseminación artificial en ovinos.* Ed. Agropecuaria Hemisferio Sur S.R.L., Montevideo, Uruguay.
- El-Sharawy, M., E. Eid, S. Darwish, I. Abdel-Razek, M. Islam, K. Kubota, and I. El-Shamaa. 2017. Effect of organic and inorganic selenium supplementation on semen quality and blood enzymes in buffalo bulls. *Anim. Sci. J.* 88: 999-1005.
- Evans, G. y Maxwell, W. M.C. 1990. Steven Salomon. Inseminación artificial en ovejas y cabras. Ed. Acribia. Pp 95-107.
- Evans, G. W. 1989. The effect of chromium picolinate on insulin controlled parameters in humans. *Int. Biosocial Med. Res.* 11:163-171.
- Evans, G. W., and T. D. Bowman. 1992. Chromium picolinate increases membrane fluidity and rate of internalization. *J. Inorg. Biochem.* 46:243-251.
- Evans, G. W., and L. K. Mayer. 1994. Life span is increased in rats supplemented with chromium-pipidine-carbonilate complex. *Adv. Sci. Res.* 1:19-22.
- Fayez, I., Marai, M. y Owen, J.B. 1994. Nuevas técnicas de producción ovina. Ed. Acribia. España.
- García, E. 1987. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 4ª ed. México. D.F. 217 p.

- Georgienskii, I.V. y Annenkov, B.N. 1982. Mineral nutriti6n of Animals. Publisher. Bulterwort. G.B.
- Hafez, E.S.E. 1987. Reproducci6n e inseminaci6n artificial en animales. Ed. Interamericana. M6xico.
- Hambidge, K. M., D. O. Rodgerson, and D. O'Brien. 1968. Concentration of chromium in the hair of normal children and of children with juvenile diabetes mellitus. *Diabetes*. 17:517-523.
- Hambidge, K. M. 1974. Chromium nutrition in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 27:505-514.
- Harrison, J.H., Hancock, D.D., and Conrad, H.R. 1984. Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. *J Dairy Sci.* 67: 123-132.
- Heriesign, W. 1989. Producci6n ovina. Ed. AGT Editor. M6xico.
- Hern6ndez, C. 1982. Factores no patol6gicos que afectan la fertilidad en el carnero. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitl6n. Universidad Nacional Aut6noma de M6xico.
- Huerta, B.M. 1987. Suplementaci6n de ovinos en pastoreo. Memorias II Curso Bases de la cria Ovina. Ed. AMDO, Pachuca Hidalgo.
- Irvine, D.S. 1996. Glutation as a treatment for male infertility. *Rev. Reprod.* 1(6): 12.
- Kendall, N. R., N. C. Farrar, D. V. Illingworth, D. W. Jackson, and S. B. Telfer. 1999. The use of a soluble glass copper, cobalt and selenium bolus to supply selenium to sheep. *Proc. of the Brit. Soc. of Anim. Sci.* pp. 99.
- 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 element status and semen quality of ram lambs. *Anim. Reprod. Sci.* 62:277-283.
- Kendall, N. R., D. W. Jackson, A. M. Mackenzie, D. V. Illingworth, I. M. Gill, and S. B. Telfer. 2001. The effect of a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus on the trace element status of extensively grazed sheep over winter. *Anim. Sci.* 73: 163-169.
- Kumar, P., B. Yadav, and S. Yadav. 2013. Effect of zinc and selenium supplementation on antioxidative status of seminal plasma and testosterone, T4 and T3 level in goat blood serum. *J. Appl. Anim. Res.* 41: 382-386.
- Langlands, J.P., G.E. Donald, J.E. Bowles, and A.J. Smith. 1994. Selenium supplements for grazing sheep 4. The use of intraruminal pellets containing elevated quantities of selenium. *Anim. Feed Sci. Technol.* 46: 109-118.
- Liu, C. H., Y. M. Chen, J. Z. Zhang, M. Y. Huang, Q. Su, Z. H. Lu, R. X. Yin, G. Z. Shao, D. Feng, P. L. Zheng. 1982. Preliminary studies on influence of selenium deficiency to the developments of genital organs and spermatogenesis of infancy boars. *Acta Vet. Zootech. Sin.* 13: 73-77.
- Mahmoud, G. B. 2013. Sexual behaviour, testosterone concentration, semen characteristics and testes size of Ossimi rams as affected by age and scrotal circumference. *Egyptian J. Anim. Prod.* 50: 53-58.
- Mahmoud, G. B., S. M. Abdel-Raheem, and H. A. Hussein. 2013. Effect of combination of vitamin E and selenium injections on reproductive performance and blood parameters of Ossimi rams. *Small Rum. Res.* 113: 103-108.
- McDonald, L.E. 1983. Reproducci6n y endocrinolog6a Veterinarias. Ed. Interamericana. M6xico.
- Megahed, G.A., A.H. Etman and M.A. Awad-Allah, 2002. The influence of antioxidants (selenium and vitamin E) on daily body gain, reproductive Performance and subsequent fertility of rams, *Assiut Vet. Med. J.* 46: 262-284.
- Mertz, W. 1969. Chromium occurrence and function in biological systems. *Physiol. Rev.* 49:163-171.

- Mertz, W. 1992. Chromium: history and nutritional importance. *Biol. Trace Elem. Res.* 32:3-8.
- Mertz, W. 1993. Chromium in human nutrition: a review. *J. Nutr.* 123:626-633.
- Meynard, L. 1979. *Nutrición animal*. Ed. McGraw-Hill. México.
- Minson, D. J. 1990. *Forages in Ruminant Nutrition*. Academic Press. USA. 463 p.
- National Research Council. 1997. *The Role of Chromium in Animal Nutrition*. Committee on Animal Nutrition, Board on Agriculture, and National Research Council. National Academy Press, Washington, DC.
- Nava, L.J.I. 2004. Evaluación del efecto del cromo orgánico (Cr-L-Metionina) en la calidad del semen producido por sementales ovinos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de México. 79p.
- NRC. 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids*. The National Academies Press, Washington, D.C. 362 p.
- Necoechea, R. y Márquez, F. 1987. *Manual de aditivos y suplementos para la alimentación animal*. Ed. Manual Agropecuario. México.
- Offenbacher, E. G., H. Spencer, H. J. Dowling, and F. X. Pi-Sunier. 1986. Metabolic chromium balances in men. *Am. J. Clin. Nutr.* 44:77-82.
- Portolano, N. 1990. *Explotación del ganado ovino y caprino*. Ed. Mundi-Prensa. España.
- Press, R.I., J. Geller, and G.W. Evans. 1990. The effect of chromium on serum cholesterol and apolipoprotein fractions in human subjects. *West. J. Med.* 152:41-49.
- Ramírez-Bribiesca, E., C.E. Hernández, C.L.M. Hernández, y P.J. Tórtora. 2004. Efecto de un suplemento parenteral con selenito de sodio en la mortalidad de corderos y los valores hemáticos de selenio. *Agrociencia*. 38: 43-51.
- Revilla-Vázquez A., E. Ramírez-Bribiesca, R. López-Arellano, L. Hernández-Calva, J. Tórtora-Pérez, E. García-García, y M. Cruz R. G. 2008. Suplemento de selenio con bolos intrarruminales de selenito de sodio en ovinos. *Agrociencia* 42: 629-635.
- Roginski, E. E., and W. Mertz. 1967. An eye lesion in rats fed low-chromium diets. *J. Nutr.* 93:249-254.
- Roginski, E. E., and W. Mertz. 1969. Effect of chromium III supplementation on glucose and amino acid metabolism in rats fed a low protein diet. *J. Nutr.* 97:525-533.
- SAS. 2009. *SAS/STAT® 9.2 User's Guide*, 2nd Ed. SAS Institute Inc, Cary, N. C., U.S.A.
- Scott, R., A. MacPherson, R. W. S. Yates, B. Hussain, and J. Dixon. 1998. The effect of oral selenium supplementation on human sperm motility. *Brit. J. Urol.* 82: 76-80.
- Toepfer, E., W., W. Mertz, M. M. Polansky, E. E. Roginski, and W. R. Wolf. 1977. Preparation of chromium-containing material of glucose tolerance activity from brewer's yeast extracts and by synthesis. *J. Agric. Food Chem.* 25:162-166.
- Underwood, E.J. 1975. Trace elements and their physiological roles the animals. In: D.J.D. Underwood, E.J. 1977. *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, 3rd. ed. Academic Press, New York, USA. 560 p.
- Urberg, M., M. Parent, D. Mill, and M. Zemel. 1986. Evidence for synergism between Cr and nicotinic acid in normalizing glucose tolerance. *Diabetes*. 35:37-43.
- Underwood, E.J. and Suttle, N.F. 1999. *Mineral Nutrition on Livestock*. U.K. CABI publishing.
- Sarabia-Martínez, M. 2004. Desarrollo de un bolo intraruminal de liberación prolongada con Se orgánico de levaduras para bovinos productores de leche. Tesis de Maestría. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Schwarz, K. 1951. Production of dietary necrotic liver degeneration using American torula yeast. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 77:818-823.

- Schwarz, K., and W. Mertz. 1957. A glucose tolerance factor and its differentiation from factor 3. *Arch. Biochem. Biophys.* 72:515-521.
- Schwarz, K., and W. Mertz. 1959. Chromium (III) and the glucose tolerance factor. *Arch. Biochem. Biophys.* 85:292-295.
- Shimada, A. 1987. *Fundamentos de la nutrición animal comparativa. Sistemas de educación Continua en producción animal.* Ed. A.C. México.
- Schroeder, H. A., J. J. Balassa, and H. W. Vinton, Jr. 1965. Chromium, cadmium, and lead in rats: effects of life span, tumors, and tissue levels. *J. Nutr.* 86:51-62.
- Schroeder, H. A. 1966. Chromium deficiency in rats: a syndrome simulating diabetes mellitus with retarded growth. *J. Nutr.* 88:439-444.
- Schroeder, H. A. 1968. The role of chromium in mammalian nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 21:230-241.
- Schroeder, H. A. 1969. Serum cholesterol and glucose levels in rats fed refined sugars and less refined sugars and chromium. *J. Nutr.* 97:237-242.
- Schroeder, H. A., and J. J. Balassa. 1965. Influence of chromium, cadmium, and lead on rat aortic lipids and circulating cholesterol. *Am. J. Physiol.* 209:433-440.
- Staub, H. W., G. Reassert, and R. These, Jr. 1969. Serum cholesterol reduction by chromium in hypercholesterolemia rats. *Science.* 166:746-752.
- Scott, R., A. MacPherson, R. W. S. Yates, B. Hussain y J. Dixon. 1998. The effect of oral selenium supplementation on human sperm motility. *British Journal of Urology* 82:76-80.
- Stoecker, B.J. 1996. Chromium. Pages 344-352 In *Present Knowledge of Nutrition*. Eds. E. E. Ziegler and L. J. Filer, Jr. 7th ed., ILSI Press, Washington, DC.
- Vázquez-Armijo J., F., R. Rojo R, D. López, J. Tinoco L, A. González, N. Pescador S, and I. Domínguez-Vara A. 2011. Trace elements in sheep and goats reproduction: a review. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 14: 1-13.
- Vezina, D., F. Mauffette, K. D. Robert, and G. Bleau. 1996. Selenium vitamin E supplementation in infertile men effect on semen parameters and micronutrient levels and distribution. *Biol. Trace Element Res.* 53: 55-83.
- Underwood, E. J. 1977. *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, 3rd. ed. Academic Press, New York, USA. 560 p.
- Vincent, J. B. 2000. The biochemistry of chromium. *J. Nutr.* 130:715-718.
- Wang, M. N., Y. C. Ci, K. Odalut, and B. J. Stoecker. 1985. Chromium and ascorbate deficiency effects on serum cholesterol, triglycerides and glucose of guinea pigs. *Fed. Proc.* 44:751-755.
- Yomamoto, A., O. Wada, and H. Suzuki. 1988. Purification and properties of biologically active chromium complex from bovine colostrums. *J. Nutr.* 118:39-45.
- Yousef, H. M., A. Abul-Ela, E. R. Farag, Y. L. Awad, F. E. El-Keraby, H. A. Hassanin, 1990. Effect of pre-partum selenium injection on reproductive and lactational performance and post-partum hormone profile in dairy cows. *In: Proceedings of 4th Scientific Congress Faculty of Veterinary Medicine Assiut, University Assiut, Egypt*, pp: 445-454.
- Zubair, M., M. Ali, M. Ahmad, S. M. Sajid, I. Ahmad, and S. T. Gul. 2015. Effect of selenium and vitamin E on cryopreservation of semen and reproductive performance of animals (a review). *J. Entomol. Zool. Studies.* 3: 82-86.