



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
MAESTRÍA EN SALUD Y PRODUCCIÓN
ANIMAL SUSTENTABLE**

**Evaluación de tratamientos hormonales para la activación del
comportamiento sexual en sementales caprinos fuera de la
estación reproductiva**

TESIS

**Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestra en Salud y Producción Animal Sustentable**

Presenta

MVZ. Ileana Montserrat Loyo Dávila

Dirigido por

Dr. Héctor Raymundo Vera Ávila

Asesores

Dr. Héctor Mario Andrade Montemayor

Dr. Héctor Jiménez Severiano

Dr. Guillermo de la Isla Herrera

MSPAS Juan Carlos Silva Jarquin

Santiago de Querétaro. Octubre del 2017



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
MAESTRÍA EN SALUD Y PRODUCCIÓN
ANIMAL SUSTENTABLE**



**Evaluación de tratamientos hormonales para la activación del
comportamiento sexual en sementales caprinos fuera de la
estación reproductiva**

TESIS

**Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestra en Salud y Producción Animal Sustentable**

Presenta

MVZ. Ileana Montserrat Loyo Dávila

Dirigido por

Dr. Héctor Raymundo Vera Ávila

Asesores

Dr. Héctor Mario Andrade Montemayor

Dr. Héctor Jiménez Severiano

Dr. Guillermo de la Isla Herrera

MSPAS Juan Carlos Silva Jarquin

Santiago de Querétaro, Qro. Octubre del 2017



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
MAESTRÍA EN SALUD Y PRODUCCIÓN
ANIMAL SUSTENTABLE**

**Evaluación de tratamientos hormonales para la activación del
comportamiento sexual en sementales caprinos fuera de la estación
reproductiva**

TESIS

**Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Maestra
en Salud y Producción Animal Sustentable**

**Presenta
MVZ. Ileana Montserrat Loyo Dávila**

**Dirigido por
Dr. Héctor Raymundo Vera Ávila**

Sinodales

Dr. Héctor Raymundo Ávila
Presidente

Dr. Héctor Mario Andrade Montemayor
Secretario

Dr. Héctor Jiménez Severiano
Vocal

Dr. Guillermo de la Isla Herrera
Suplente

MSPAS Juan Carlos Silva Jarquin
Suplente

Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca
Directora de la Facultad de Ciencias Naturales

[Firma]
Firma

[Firma]
Firma

[Firma]
Firma

[Firma]
Firma

[Firma]
Firma

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado

**CENTRO UNIVERSITARIO
QUERÉTARO, QRO.
OCTUBRE 2017
MÉXICO**

RESUMEN

La estacionalidad reproductiva en las cabras representa un importante problema zootécnico. Una alternativa para lidiar con la estacionalidad de la hembra es la bioestimulación de la actividad estral/ovulatoria o “efecto macho”. Sin embargo, el macho caprino también presenta estacionalidad reproductiva por lo que se limita su uso como bioestimulador. Debido a lo anterior, es deseable desarrollar métodos para la activación de machos fuera de estación, lo suficientemente prácticos para utilizar bajo condiciones de producción extensiva y que no comprometan el futuro del macho como semental.

Por esta razón, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la administración parenteral de testosterona o aplicación continua de dosis bajas de GnRH sobre el comportamiento sexual y la actividad espermatogénica y endocrina testicular en machos cabríos fuera de estación reproductiva. Se utilizaron 8 machos raza Nubia asignados a un grupo Control (CONT, n=2), grupo con aplicación de Testosterona (TEST, n=3; 30 mg i.m. de testosterona cada tres días durante tres semanas) o con administración continua de GnRH (GnRH, n=3; inserción s.c. de bomba osmótica calibrada para liberar 250 ng/h de GnRH, recambio semanal y periodo de tratamiento de 3 semanas). Se realizaron estimaciones de la intensidad de libido inmediatamente antes, durante (semanas 2 y 3) y posterior a los tratamientos (cada 2 semanas por 10 semanas); duración de interés sexual de machos por hembras en anestro. Quincenalmente se colectaron y evaluaron eyaculados (volumen, concentración, motilidad progresiva), se midió la circunferencia escrotal (CE) y se registró el peso vivo (PV). Asimismo, durante el periodo experimental se colectaron muestras de sangre semanalmente (4 muestras cada 20 min), a partir de las cuales se determinó la concentración plasmática promedio de testosterona. El análisis estadístico fue por ANDEVA para un modelo mixto de observaciones repetidas con estructura de parcelas divididas (Tratamiento, Tiempo y Tratamiento/Tiempo); PV se usó como covariable para CE. La duración de interés sexual fue diferente a través del tiempo en los grupos experimentales, particularmente durante las semanas en tratamiento (Tratamiento

x Tiempo, $P < 0.05$); con respecto al grupo CONT los machos del grupo TEST presentaron una mayor duración de interés sexual mientras estuvieron en tratamiento y los del grupo GnRH solo durante la 2da semana después de iniciado éste. Las variables de calidad seminal incrementaron su valor a través del Tiempo ($P < 0.01$) sin ser influenciadas por el Tratamiento o la interacción Tratamiento x Tiempo. La testosterona plasmática y la circunferencia escrotal variaron a través del tiempo ($P < 0.01$) pero de diferente manera entre tratamientos (Tratamiento/Tiempo; Testosterona, $P = 0.05$ y CE, $P = 0.10$). Para testosterona plasmática el efecto de esta interacción se manifestó particularmente durante el periodo de tratamientos durante el cual el grupo TEST presentó mayor concentración plasmática de testosterona que los demás. La CE se incrementó a través del periodo experimental, pero de manera ligeramente mayor en el grupo GnRH en las últimas semanas. Con lo anterior se puede concluir que la administración parenteral de testosterona no afecta a mediano plazo la calidad espermática y que la aplicación continua de GnRH a dosis baja solo estimula temporalmente la libido, sin alterar la actividad espermatogénica y endocrina testicular.

SUMMARY

Reproductive seasonality in goats represents an important zotechnical problem. An alternative to deal with the seasonality of the female is the biostimulation of estrous/ovulatory activity through the "male effect". However, the male goat also has reproductive seasonality, which limits its use as a biostimulator. Due to the above, it is desirable to develop methods for out-of-season activation of males, practical enough to use under extensive production conditions and not compromising the male's future as a sire. For this reason, the objective of the present study was to evaluate the effect of parenteral administration of testosterone or continuous application of low doses of GnRH on sexual behavior and spermatogenic and endocrine testicular activity in out-of-season male goats. Eight male Nubian goats were assigned to a control group (CONT, n=2), group with testosterone application (TEST, n=3, 30 mg im testosterone every three days for three weeks) or continuous administration of GnRH (GnRH, n = 3; osmotic pump sc inserted and calibrated to release 250 ng/h of GnRH, weekly replacement and 3-week treatment period). Estimates of libido intensity were performed immediately before, during (weeks 2 and 3) and after treatments (every 2 weeks for 10 weeks); duration of sexual interest in anestrous female goats. Ejaculates were collected and evaluated every two weeks (volume, concentration, progressive motility), as well as measurements and recording of scrotal circumference (SC) and live weight (LW). During the experimental period, blood samples were collected weekly (4 samples every 20 min), and plasma testosterone concentration was determined. The statistical analysis was by ANOVA for a mixed model adjusted for repeated measurements with an split-plot (Treatment, Time and Treatment / Time); LW was used as covariate for SC. The duration of sexual interest was different over time in the experimental groups, particularly during the weeks under treatment (Treatment x Time, $P < 0.05$); with respect to the CONT group the males of the TEST group had a longer duration of sexual interest while they were in treatment and those of the GnRH group only during the 2nd week after initiation. Seminal quality variables increased their value through Time ($P < 0.01$) without being influenced by the Treatment or the Treatment x Time

interaction. Plasma testosterone and scrotal circumference varied over time ($P < 0.01$) but differed between treatments (Treatment / Time, Testosterone, $P = .05$ and SC, $P = 0.10$). For plasma testosterone the effect of this interaction was manifested particularly during the treatment period during which the TEST group had a higher plasma concentration of testosterone than the others. The SC increased through the experimental period, but slightly more in the GnRH group at the end of the study. It can be concluded that parenteral administration of testosterone does not affect sperm quality in a mid-term perspective and that the continuous application of a low dose of GnRH only temporarily stimulates the libido, without altering spermatogenic and endocrine testicular activity.

AGRADECIMIENTOS

Mi más grande y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que formaron parte de éste trabajo, en especial al Dr. Héctor Raymundo Vera Ávila, por toda su ayuda, orientación y supervisión constante, así como sus regaños y por todas las comidas invitadas después de cada actividad experimental.

Al Dr. Héctor Andrade Montemayor por la ayuda brindada durante el experimento al facilitarnos los animales y el espacio necesitado, por sus regaños y su amistad.

Al Comité Tutorial, gracias por aceptar trabajar conmigo en este trabajo.

A Isaac Escalante por orientarme con sus conocimientos en reproducción y del laboratorio de reproducción, por todas las risas y locuras que hemos compartido.

A todos aquellos que de una forma u otra apoyaron en mi formación académica y personal, aquellos amigos que estuvieron conmigo.

A Omar, por su cariño, compañía y apoyo incondicional, pero en especial por la familia que me ha regalado.

A la Universidad Autónoma de Querétaro: Fondo de Proyectos Especiales de Rectoría (FOPER) y Fondo para el Fortalecimiento de la Investigación (FOFI)

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por su apoyo económico para la obtención del grado.

ÍNDICE

RESUMEN	i
SUMMARY	iii
AGRADECIMIENTOS.....	v
ÍNDICE.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Situación nacional de la producción caprina.....	3
2.2 Estacionalidad reproductiva.....	4
2.3 Métodos para contrarrestar la estacionalidad reproductiva.....	6
2.4 Actividad neuroendocrina del macho	7
2.5 Retroalimentación negativa de las hormonas testiculares.....	8
2.6 Comportamiento sexual o libido	9
2.6.1 Evaluación comportamiento sexual.....	10
2.7 Espermatogénesis	11
2.8 Examen del tracto reproductivo y evaluación para semental caprino	12
2.8.1 Examen del tracto reproductivo	12
2.8.2 Evaluación de semen.....	13
2.8.2.1 Volumen	13
2.8.2.2 Color	13
2.8.2.3 Motilidad	14
2.8.2.4 Concentración	14
2.8.2.5 Morfología.....	14
2.9 Trabajos realizados con GnRH sobre la actividad reproductiva.....	15
2.9.1 Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH).....	15
III. OBJETIVOS	17
3.1 Objetivo General	17
3.2 Objetivos Específicos.....	17
IV. HIPÓTESIS.....	17

V.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
5.1	Ubicación geográfica	18
5.2	Manejo de animales y diseño experimental	18
5.3	Evaluación del comportamiento sexual	19
5.4	Toma y análisis de muestras	19
5.5	Evaluación de semen fresco.....	19
5.6	Análisis Estadísticos.....	20
VI.	RESULTADOS	21
6.1	Duración del interés sexual	21
6.2	Calidad seminal	22
6.3	Testosterona plasmática y Circunferencia Escrotal	23
VII.	DISCUSIÓN.....	25
7.1	Libido.....	25
7.2	Calidad seminal	27
7.3	Testosterona Plasmática y Circunferencia Escrotal	31
VIII.	CONCLUSIONES	33
IX.	IMPLICACIONES.....	33
X.	LITERATURA CITADA.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

FIG.

1	Medias de cuadrados mínimos para duración del interés sexual.....	21
2	Medias de cuadrados mínimos para variables de calidad seminal.....	22
3	Medias de cuadrados mínimos para testosterona plasmática y circunferencia escrotal.....	24

I. INTRODUCCIÓN

La caprinocultura resulta importante en el país tanto por el volumen de su producción como por el número de personas ligadas a la actividad. Alrededor de un millón y medio de mexicanos se dedican a esta actividad en 494 mil unidades de producción (SAGARPA, 2012). Las razas caprinas utilizadas en México presentan estacionalidad reproductiva de tal manera que el flujo de productos, cabritos o leche, se ve afectado durante una época del año representando esto un importante problema zootécnico.

La estacionalidad reproductiva en los caprinos depende por una parte de la actividad ovulatoria y estral de las hembras, por otra parte, también depende de la actividad espermatogénica y del comportamiento sexual de los machos (Chemineau *et al.*, 2008). Una alternativa para lidiar con la estacionalidad de la hembra caprina es mediante la bioestimulación de la actividad estral/ovulatoria o “efecto macho”. Sin embargo, el macho caprino también presenta estacionalidad reproductiva, con depresión de la libido de manera coincidente con el periodo de anestro de las hembras (Walkden-Brown *et al.*, 1994; Ariciaga-Gonzalez *et al.*, 2008), limitando la posibilidad de usarlos como bioestimuladores de la actividad estral en hembras fuera de estación reproductiva (Delgadillo *et al.*, 2003). Existen métodos para activar la libido de machos caprinos durante su etapa de depresión estacional y así poder usarlos para aplicar el “efecto macho”, pero son tratamientos prolongados y requieren una mayor inversión en instalaciones para aplicar iluminación artificial, como es el caso de las secuencias fotoperiódicas inductoras (Delgadillo *et al.*, 2003), o existe la posibilidad de afectar la función testicular al alterar los mecanismos de control neuroendocrino de la función testicular al administrar testosterona exógena (Tillbrook & Clarke, 2001). Por lo anterior, sigue siendo deseable el desarrollo de métodos lo suficientemente prácticos que puedan ser utilizados bajo condiciones de producción extensiva y que no comprometan el futuro del macho como semental.

Existe una estrategia que aún no ha sido tan explorada, pero puede ser recomendable, que es la activación de la función testicular hormonalmente a través de la aplicación de GnRH.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Situación nacional de la producción caprina

Los caprinos se introdujeron a México por los españoles, pudiéndose adaptar desde entonces en gran parte al territorio nacional. Estudios genotípicos y fenotípicos indican una influencia Navarra y Andaluza de las cabras originarias que llegaron al país, llegando a ser aptos para una producción pecuaria rentable. La cabra es una especie muy resistente a la sequía y escasas de forraje, por esto la cabra se ha desarrollado como una fuente de ahorro de muchas familias en zonas con bajo índice de desarrollo humano (Guerrero, 2010).

Para el año 2015 habían 8 millones 700 mil cabras en la República Mexicana (SIAP, 2017). Más de 3,000 unidades de producción caprina y aproximadamente 1.5 millones de mexicanos dedicados a la actividad productiva primaria o complementaria a la caprinocultura (Guerrero, 2010). El 64% de las cabras se concentran en los sistemas de producción característicos de las zonas áridas y semiáridas y el 36 % restante en la región templada del país (Aréchiga *et al.*, 2008).

Los Estados con mayor población caprina son Coahuila, Zacatecas, Puebla, Oaxaca, San Luis potosí y Guerrero con el 45% de la población total nacional. En el caso de la leche, su producción se concentra en Coahuila, Durango y Guanajuato con el 74% de la producción del país (SIAP, 2017).

Así, la caprinocultura genera anualmente cerca de 77,000 toneladas de carne y más de 150 millones de litros de leche caprina (SIAP, 2017), más del 70% es producido en los sistemas de extensivos de producción de las zonas áridas y semiáridas y aproximadamente el 25% es producida en los sistemas intensivos de producción de leche de cabra (SAGARPA, 2012).

La industria caprina cuenta con muchas fortalezas y oportunidades entre las ventajas que tiene la producción caprina son: su alta tasa de desarrollo, alta

fertilidad, alta eficiencia alimenticia, eficiencia en utilización de forrajes; eficiencia en la producción lechera; la elevada demanda de carne, pelo y piel, excelente controlador de malezas. (Arechiga *et al.*, 2008). Pero así como su ventajas también tiene limitantes, entre sus principales desventajas se encuentra la producción estacional de leche y carne insuficiente debido a la estacionalidad reproductiva que presenta el caprino (SAGARPA, 2013).

2.2 Estacionalidad reproductiva

La estacionalidad originalmente en animales silvestres, fue una adaptación fisiológica en el cual los animales tienen partos en los momentos más propicios y con esto aseguran la supervivencia de las crías, su lactación y el óptimo crecimiento de las mismas (Vera, 1993). En condiciones de producción animal, ésta adaptación limita la productividad y por lo tanto la oferta de los productos caprinos (leche, queso y cabrito) es también estacional, afectando a los productores, comercializadores y consumidores (Zarazaga *et al.*, 2005). Así durante el periodo de pariciones, posterior al de reproducción sexual, se incrementa la oferta y los precios de los productos caprinos disminuyen, reduciendo los ingresos de los productores. En cambio durante el periodo de disminución en presentación de partos, la oferta disminuye por lo tanto los precios de los productos aumentan (Delgadillo *et al.*, 2012).

En el ganado caprino, el comportamiento sexual y la calidad del semen son los principales factores que limitan la eficacia de la reproducción a lo largo del año. Estos factores podrían variar según la raza, la estación del año y el nivel de nutrición. Los machos caprinos son reproductores estacionales en los que el fotoperiodo es la principal señal ambiental que controla el patrón reproductivo estacional, hay indicadores de estacionalidad en la actividad sexual, los cuales se evidencian por los cambios en la calidad del semen, el diámetro testicular y el nivel de secreción hormonal (Aller *et al.*, 2012).

En los machos cabríos del subtrópico Mexicano (26° LN) el período de baja actividad sexual va de enero a mayo, mientras que en las hembras se

extiende de marzo a julio (primavera/ verano) conocido como anestro (Carrillo *et al.*, 2010), con una etapa de actividad estral durante el otoño e invierno (Vera-Ávila *et al.*, 2013). Lo anterior, es variable dependiendo de la raza, latitud y el estado nutricional.

Existen razas de caprinos en las cuales la estacionalidad reproductiva está basada rígidamente por el fotoperiodo, observándose una gran variabilidad en cuanto a la duración y las fechas de inicio y finalización de la actividad reproductiva tanto para hembras como para machos (Silvestre, 2012) estas razas son originarias de latitudes templadas o altas, donde existe un periodo de inactividad sexual y un periodo de estación sexual, en cambio en otras razas el fotoperiodo no tiene tanta influencia, como el caso de razas en latitudes tropicales o de latitud menor a 25°, y las razas adaptadas a zonas subtropicales o latitudes de 25° a 40°, en estas razas la estacionalidad se caracteriza por la alternancia de un periodo de reposo sexual o anestro seguido por un periodo de actividad sexual (López *et al.*, 2011).

Además del fotoperiodo existen otros factores que también influyen en la estacionalidad reproductiva, hay evidencias de que los estímulos socio-sexuales de los machos con las hembras son algunos, así como la condición nutricional e incluso componente climáticos como la precipitación pluvial o temperatura ambiente (Vera-Ávila *et al.*, 2013).

En los machos durante la estación de reposo sexual el tamaño testicular, la calidad seminal y el comportamiento sexual se ven disminuidos, así como una baja concentración plasmática de testosterona (Youngquist & Threlfall, 2007), esto impide su uso como bioestimulador del ciclo estral de la cabra conocido como “efecto macho” (López *et al.*, 2011).

El conocimiento de las estrategias reproductivas de los caprinos y la identificación del factor principal del medio ambiente responsable del ciclo anual de reproducción en machos y hembras, es necesario para manipular su

actividad reproductiva y tener la oportunidad de producir leche, queso y cabrito todo el año (Delgadillo, 2012).

2.3 Métodos para contrarrestar la estacionalidad reproductiva

Es necesario desarrollar alternativas que permitan la manipulación de la estacionalidad reproductiva de los machos cabríos. De tal manera que se puedan activar cuando están en su fase de depresión de la libido y funcionar como bioestimuladores de hembras en anestro para realizar empadres fuera de estación reproductiva. A través de lo anterior se podría permitir un flujo de productos más estables a través del año, independientemente del fin zootécnico de las unidades de producción, con lo que se busca abastecer la demanda que se presenta.

Un método que existe para estimular el comportamiento sexual en el macho caprino, es el tratamiento fotoperiódico, descrito por Delgadillo *et al.* (2012) en el cuál machos caprinos fueron sometidos a días largos artificialmente (16 horas luz/día) a partir del 16 de noviembre por dos meses, seguido por dos implantes subcutáneos de melatonina y se expusieron al fotoperiodo natural, a partir de mediados de enero. El resultado obtenido fue un estímulo de secreción de LH y testosterona, comportamiento sexual y producción espermática en los meses de reposo sexual (a partir de mediados de marzo).

Otro método para la activación de machos son los hormonales. Un estudio realizado por Ungerfeld y Fila (2011) con carneros en los que aplicaron pequeñas y consecutivas dosis de GnRH al final de la estación reproductiva, indujo a un incremento en el fluido testicular.

Estudios en machos cabríos tratados con testosterona inducen la actividad sexual eficientemente a cabras en anestro. Croker, *et al.* (1982), reportaron que mediante el tratamiento con testosterona a machos cabríos castrados se induce a la actividad estral al 74% de las cabras en los primeros 13 días después de la introducción de los machos, mientras que en el grupo testigo

expuesto a machos cabríos castrados no tratados solamente se estimuló al 17% de las cabras expuestas.

2.4 Actividad neuroendocrina del macho

El control hormonal de la actividad reproductora en el macho se debe a la GnRH que es secretada de manera pulsátil por el hipotálamo, ésta hormona estimula a la hipófisis que genera secreciones pulsátiles de LH y de manera más continua en una forma no episódica a la FSH (Restal *et al.*, 1992).

Estas hormonas son las responsables de la actividad espermatogénica, la LH produce una estimulación rápida de las células de Leydig del testículo, las cuales responden liberando testosterona en la sangre. Cada pulso de LH es seguido por un pulso de testosterona, cuya amplitud varía según la situación fisiológica del macho (actividad o inactividad sexual). La velocidad de desaparición de la testosterona en la sangre es más lenta que la de la LH. Cuando la frecuencia no es muy elevada, la testosterona vuelve a su nivel basal (Delgadillo, 1993).

La LH y FSH inducen la diferenciación y multiplicación de células germinales, así como la síntesis de testosterona por las células de Leydig. La FSH actúa sobre las células de Sertoli (Walkden-Brown, 1994).

La testosterona actúa sobre las células de Sertoli para el mantenimiento de la espermatogénesis y también induce el comportamiento sexual, ejerce una retroalimentación sobre la secreción de las gonadotropinas (Chemineau & Delgadillo, 1993), inhibiendo la LH, al actuar directamente sobre la secreción de GnRH en el hipotálamo (Ganong, 2000).

Aunque la actividad espermática y el comportamiento sexual siempre están presentes, el macho también presenta la estacionalidad (Chemineau *et al.*, 2010). Las características reproductivas también se ven influenciadas por la época del año. Durante la inactividad sexual, la secreción de LH y testosterona, el peso testicular y la producción espermática se encuentran disminuidos

(Delgadillo *et al.*, 2001). Los cambios de la actividad gonadotrópica son los responsables de la baja actividad en primavera y verano y de la intensa actividad en otoño e invierno (Delgadillo, 1993).

En las razas estacionales, de enero a mayo los niveles basales, la frecuencia y amplitud de pulsos y la concentración de la LH son bajos. En junio y julio la amplitud aumenta progresivamente hasta agosto, después, en septiembre la frecuencia de los pulsos aumenta bruscamente, mientras que su amplitud disminuye debido a la existencia de una correlación negativa entre la frecuencia y amplitud de los niveles de testosterona. Después de los niveles altos de LH y testosterona en agosto y septiembre, una disminución progresiva se mantiene hasta enero; después el ciclo anual comienza nuevamente (Delgadillo, 1993).

Por lo tanto, en el periodo de inactividad sexual, el comportamiento sexual de los machos se ve reducido, el número de montas disminuye y las copulaciones pueden desaparecer totalmente (Carrillo *et al.*, 2010).

2.5 Retroalimentación negativa de las hormonas testiculares

Los testículos producen esteroides, principalmente testosterona e inhibina, que contribuyen a la regulación de retroalimentación del eje hipotálamo-pituitaria en los machos. Debido a ésta retroalimentación, las hormonas producidas en el testículo ejercen efectos inhibidores sobre la secreción de la FSH y LH. La inhibina, producida por las células de Sertoli, actúa sobre la hipófisis para frenar o suprimir la producción de FSH. También la testosterona reduce los niveles séricos de la hormona foliculoestimulante (O'Shaughnessy, 2015).

Los niveles de testosterona ejercen un efecto inhibiendo la producción de LH en la hipófisis mediante dos mecanismos. La testosterona posee un efecto débil de retroalimentación negativa sobre la adenohipófisis, lo que se traduce en una disminución de la secreción de LH. Por otra parte, la testosterona inhibe de

forma directa la secreción de GnRH en el hipotálamo, provocando una disminución de gonadotropina LH en la adenohipófisis, lo que reducirá la producción de testosterona en las células de Leydig.

Pero también, a la inversa, una concentración baja de testosterona permite al hipotálamo aumentar la secreción de GnRH, y ésta estimular la liberación de FSH y LH y, con ello, aumentar la testosterona (Smith & Walker, 2015).

2.6 Comportamiento sexual o libido

La libido es la capacidad del macho de detectar, seguir y cubrir a una hembra en celo y el comportamiento copulatorio que manifiesta antes y durante el servicio (Rex & Pérez, 1993). En el carnero la capacidad para efectuar la cópula y la presencia de espermatozoides fértiles en el eyaculado ocurre entre los 112 y 185 días de edad cuando el animal alcanza del 40 al 60% de su peso vivo de adulto (Valencia & Bustamante, 1986). En el macho cabrío bajo buenas condiciones sucede entre los 5 y 7 meses de edad, esta actividad se asocia con el incremento en la concentración sérica de testosterona (Corteel, 1994).

La testosterona es esencial para el desarrollo de los órganos sexuales y el mantenimiento del comportamiento sexual, la cual se secreta en cantidad creciente antes de la pubertad, como consecuencia, las adherencias del prepucio con el pene desaparecen gradualmente, primero en el proceso uretral y después en la región del glande y cuerpo del pene (Valencia & Bustamante, 1986).

La activación estacional del eje reproductivo estimula el aumento de la producción de testosterona por los testículos, lo que a su vez provoca la expresión de libido (Perkins & Roselli, 2007). Los machos tienen variaciones significativas en las concentraciones de testosterona a lo largo del año, que van desde niveles bajo el umbral en temporadas no reproductivas y sobre el umbral

en temporadas reproductivas, determinando la manifestación de la conducta sexual y agresividad en estas dos temporadas (Orihuela, 2014).

La disminución de la duración del día estimula la liberación de gonadotropinas, que impulsan la gametogénesis y la secreción de hormona gonadal de esteroides tanto en machos como en hembras. En latitudes templadas, el macho cabrío muestra mayor libido en otoño e invierno, coincidentes con la reanudación de la actividad ovárica de la hembra, se requieren altas concentraciones de testosterona para la manifestación de libido. La testosterona se convierte en estradiol por la aromatasa del citocromo P450 dentro del sistema nervioso central, éste metabolito es en sí el responsable del comportamiento sexual. La aromatasa se enriquece dentro de las regiones cerebrales importantes para el control de los comportamientos reproductivos masculinos (Perkins & Roselli, 2007).

2.6.1 Evaluación comportamiento sexual

En condiciones de monta natural, el macho caprino busca a la hembra en calor o próxima a estarlo mediante el olfateo de la región perineal y la parte trasera de los muslos, cuando el macho detecta a la hembra en estro o proestro permanece junto a ella e inicia el cortejo (Delgadillo, 2011), el patrón de comportamiento que se observan con mayor frecuencia es el “flhemen”, en el cual el macho eleva el labio superior curvandose hacia atrás con los orificios nasales externos, boca ligeramente abierta y cabeza y cuello extendidos hacia adelante y arriba (Rex & Pérez, 1993). Otros actos que se observan son golpes en los flancos con las patas, frotan la cara contra el flanco de la hembra e intentos de monta para la cópula y la cópula (Herrera *et al.*, 2005).

Algunos autores han realizado evaluaciones de libido en machos caprinos como Ford *et al.* (2009), calificaron la libido de machos caprinos de la raza Boer y Kiko, se evaluó a intervalos semanales durante cuatro semanas, se registró el tiempo de reacción en segundos, medido como la cantidad de tiempo entre el primer contacto con la hembra y el primer montaje falso con el pene erecto. El

puntaje fue de -2 a + 2: -2 no monta; -1 intento de monta deslizándose; 0 monta entre deslizamiento y salto; 1 monta con salto; +2 salto con gran entusiasmo.

En otro estudio sobre evaluación de libido, utilizaron cabras anovulatorias para evaluar el efecto macho y calificaron el comportamiento sexual de los machos caprinos. Los machos se fueron introduciendo aleatoriamente con las cabras durante dos horas consecutivas y por cinco días, durante ese tiempo se registraron los olfateos anogenitales, pataleos, intentos de monta, montas con y sin eyaculación y automicción (Veliz *et al.*, 2002).

2.7 Espermatogénesis

La espermatogénesis es un proceso largo y complejo, controlada hormonalmente en el cual se producen millones de espermatozoides cada día en mamíferos postpuberales en donde las células germinales sufren una serie de divisiones (mitosis y meiosis) (Valli *et al.*, 2015), y diferenciaciones (espermatogonias, espermatocitos primarios, espermatocitos secundarios, espermátides tempranas y espermátides tardías), resultando en la formación de espermatozoides haploides. El ciclo espermatogénico comienza en el inicio de la pubertad y se repite a un intervalo fijo a lo largo de la vida del animal (Youngquist & Threlfaell, 2007).

La regulación del proceso espermatogénico involucra además de los andrógenos testiculares, a las hormonas hipofisarias LH y FSH. Estas últimas tienen sitios de acción separados en los testículos y trabajan en conjunto para controlar la espermatogénesis (Courot & Ortavant, 1981). La FSH actúa sobre las células de Sertoli para activar la expresión génica y vías de señalización para el proceso de producción del esperma, la LH actúa sobre las células de Leydig para promover la producción de testosterona esencial para mantener la espermatogénesis (Valli *et al.*, 2015). La testosterona actúa sobre las células de Sertoli que están en contacto con las células germinales para regular la expresión de los genes y la activación de las vías de señalización que se requieren para sostener la espermatogénesis. La diferenciación de

espermatogonia a espermatozoide es regulada por las células de Sertoli (Jeong & Kaiser, 2006).

La espermatogénesis consta de tres etapas: Espermatocitogénesis.- División mitótica de las espermatogonias y diferenciación a espermatocitos primarios. Meiosis.-División de espermatocitos primarios para dar origen a espermatocitos secundarios (primera división meiótica) y división de espermatocitos secundarios para dar origen a espermatidas (segunda división meiótica). Espermatogénesis.- Cambios morfológicos de las espermatidas para transformarse en espermatozoides. Cada una de estas etapas abarca aproximadamente un tercio de la duración total de la espermatogénesis. Los espermatozoides completamente formados son liberados de las células de Sertoli hacia la luz del túbulo seminífero mediante el proceso llamado espermiación. Los espermatozoides liberados a la luz del túbulo son inmaduros y necesitan del tránsito por el epidídimo para adquirir la madurez funcional (Dadoune y Demoulin, 1993).

La producción de espermatozoides se da en los túbulos seminíferos, después de salir de éstos, los espermatozoides maduros atraviesan el red de testis, el ducto eferente, la cabeza del epidídimo, el cuerpo del epidídimo y en la cola del epidídimo, que sirve primariamente de sitio de almacenamiento hasta la eyaculación . El esperma que pasa a través de estos conductos es inmóvil, así que su transporte se realiza sobre todo por contracciones peristálticas de las células del músculo liso que rodean los conductos. El transporte se completa dentro de 10 a 15 días (Youngquist & Threlfaell, 2007).

2.8 Examen del tracto reproductivo y evaluación para semental caprino

2.8.1 Examen del tracto reproductivo

Los testículos son los primeros a evaluar, se debe examinar el tamaño, la simetría y la consistencia. Es importante tener las variaciones estacionales en el momento en que se hace la evaluación. Los testículos blandos y pequeños

suelen observarse durante la época no reproductiva. Se debe palpar el epidídimo; la cabeza, el cuerpo y la cola, se evalúa tamaño, forma y consistencia.

La circunferencia escrotal es una parte integral en la evaluación reproductiva del macho caprino debido a su correlación con el tamaño testicular y la capacidad para la producción de esperma. Se usa una cinta métrica para ésta evaluación, midiendo el escroto en el punto de su mayor diámetro.

El pene se debe exteriorizar para realizar el examen cuidadoso, extendiendo la uretra más allá de la punta del pene, se buscan anomalías, tamaño, color y consistencia (Youngquist & Threlfaell, 2007).

2.8.2 Evaluación de semen

El semen puede ser recolectado usando una vagina artificial (VA) o con electroeyaculador. No se necesita estímulo exógeno cuando el semen es colectado con VA; sin embargo el macho debe ser entrenado para usar la VA usando una hembra en estro para montar.

Muchos factores se incluyen para evaluar la calidad seminal como el volumen, motilidad, concentración y la morfología de los espermatozoides. Tanto la cantidad como la calidad de semen pueden variar con la edad, la estación y la raza e incluso entre individuos de la misma raza.

2.8.2.1 Volumen

El volumen se mide en mililitros directamente del vial graduado de colección. Este parámetro es confiable sólo para los eyaculados recolectados con una VA.

2.8.2.2 Color

El color del semen depende del número de espermatozoides por mililitro y puede variar de suero ($<0,1 \times 10^9$ / ml) a lechoso ($0,5-1,5 \times 10^9$ / ml) a cremoso ($2,5 \times 4 \times 10^9$ / ml) .

2.8.2.3 Motilidad

Se coloca una gota pequeña (~ 10µl) de semen fresco sin diluir sobre una lámina de vidrio precalentada (37 ° C) sin cubreobjetos y se observa el movimiento de la onda utilizando un objetivo de contraste de fase 10 x (aumento x 100). Una estimación del vigor de la onda se clasifica de la siguiente manera: muy buena (remolinos vigorosos), buena (remolinos lentos), razonable (sin remolinos, pero oscilación generalizada) o pobre (Esporádicos remolinos) (Youngquist & Threlfaell, 2007).

2.8.2.4 Concentración

La concentración de los espermatozoides y sus características de desplazamiento (proporción de células móviles y patrón de movimiento) son los indicadores más importantes de la calidad del semen. La viabilidad de los espermatozoides comúnmente se estima microscópicamente en forma subjetiva midiendo su motilidad masal, el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva (semen diluido) y la velocidad de desplazamiento de las células espermáticas, y la transmigración de los espermatozoides (Schafer & Holzman, 2000).

2.8.2.5 Morfología

La morfología se examina habitualmente con tinción de eosina-nigrosina para resaltar las células. Se cuentan 100 células, diferenciando células normales de anormales.

Las anomalías de los espermatozoides incluyen: esperma decapitado, colas enrolladas, acrosoma en forma de nudo o plano, acrosoma arrugado; esto puede reflejar un problema nuclear que impide la fijación de la zona por la célula espermática, cabezas gigantes o pequeñas, gota citoplasmática proximales; esto surge en el epidídimo e indica un problema de maduración. (Eilts, 2004).

2.9 Trabajos realizados con GnRH sobre la actividad reproductiva

Diversos investigadores han realizados trabajos en rumiantes aplicando agonistas de GnRH para conocer los efectos que tiene ésta hormona sobre el eje hipotálamico- hipofisiario sobre la actividad reproductiva.

2.9.1 Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)

La GnRH pertenece a un grupo de neuropéptidos originalmente descubierta y aislada con éxito como factores de origen hipotalámico (Schneider *et al.* 2006) que se une a receptores de alta afinidad en los gonadotrofos de la pituitaria y controlan las secreciones y síntesis de la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH), que a su vez modula la esteroidogénesis y la gametogénesis (Ortmann & Diedrich, 1999).

En algunas especies como caninos y felinos se ha demostrado que la administración a largo plazo de agonistas de GnRH produce una desensibilización de la pituitaria a los efectos estimulantes de la GnRH. Después de una estimulación inicial, los implantes de GnRH de liberación lenta conducen a la regulación negativa de los receptores GnRH hipofisarios lo que resulta en una secreción de gonadotropina significativamente reducida y como consecuencia en una pérdida funcional de actividad ovárica y testicular (Goericke *et al.*, 2011).

Sin embargo en trabajos realizados en rumiantes no se ha encontrado esta desensibilización a los gonadotrópos.

Jiménez-Severiano *et al.* (2007) compararon la respuesta de secreción de LH y testosterona entre carneros y toros, durante y después de un tratamiento a largo plazo con análogos de GnRH, resultando en un aumentó en las concentraciones basales de LH y testosterona tanto en carneros como en toros, con un mayor incremento relativo en los toros.

Aspden *et al.* (1997) trataron toros con deslorelina, durante el experimento la testosterona plasmática de estos toros se elevó, así como las concentraciones de LH.

Fray *et al.* (1995) investigaron la respuesta a infusiones subcutáneas de GnRH en ovejas lactantes acíclicas, la infusión de GnRH indujo a la liberación de LH produciendo una ola preovulatoria de LH por consiguiente la ovulación.

Éstos trabajos realizados en rumiantes con GnRH demuestran que no ocurre tal desensibilización a los receptores de gonadotrópos.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de la administración de testosterona o aplicación continua de una dosis baja de GnRH sobre el comportamiento sexual y la actividad espermatogénica y endocrina testicular en machos caprinos fuera de estación reproductiva.

3.2 Objetivos Específicos

3.2.1 Evaluar el comportamiento sexual o libido en los machos cabríos tratados con la administración de testosterona o aplicación continua de GnRH.

3.2.2 Evaluar las características del eyaculado (actividad espermatogénica) así como la función endocrina (testosterona) de los machos cabríos tratados con testosterona y GnRH.

IV. HIPÓTESIS

4.1 La aplicación parenteral de testosterona incrementará la libido de machos caprinos fuera de estación reproductiva pero afectará su calidad seminal.

4.2 La aplicación continua de GnRH a dosis baja incrementará la libido y la calidad seminal de machos caprinos fuera de estación reproductiva.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Ubicación geográfica

Las actividades experimentales se realizaron en el Campus Amazcala de la Facultad de Ciencias Naturales, UAQ, que se localiza en el municipio El Marqués Querétaro, Qro. a 20°1' de latitud norte, y 100°36' de longitud oeste.

La altitud de este sitio es de 1900 m sobre el nivel del mar, su temperatura y precipitación media anual es de 18°C y de 570 mm, respectivamente (INEGI, 2012).

5.2 Manejo de animales y diseño experimental

Se utilizaron 8 machos postpuberales de la raza Nubia con un promedio de 13 meses de edad, 35.4 kg de peso vivo y 21.8 cm de circunferencia escrotal.

La condición postpuberal se confirmó a partir de las características de eyaculados colectados mediante vagina artificial previo al inicio del periodo experimental.

La fase de campo del periodo experimental fue de abril del 2016 a junio del mismo año. Esto abarcó las fases de depresión y de activación de la actividad sexual dentro del ciclo anual reproductivo para machos de la raza Nubia en la latitud donde se realizó el trabajo (Escalante, 2016).

Durante la fase de depresión de la actividad sexual (abril), los animales fueron asignados aleatoriamente a un grupo control (CONT, n=2), o a uno tratado con testosterona (TEST, n=3; 30 mg i.m. de testosterona cada tres días durante tres semanas) o continuamente con GnRH (GnRH, n=3; inserción s.c. de bomba osmótica calibrada para liberar 250 ng/h de GnRH, recambio semanal y periodo de tratamiento de 3 semanas).

5.3 Evaluación del comportamiento sexual

Una vez a la semana, a partir del inicio de los tratamientos y durante un total de 13 semanas, se realizó la estimación de intensidad de libido mediante pruebas en las cuales se determinó el tiempo que los machos mantenían el interés sexual por hembras en anestro; se introdujeron 2 machos de diferente grupo de tratamiento con 10 hembras en anestro durante 20 minutos y se fue registrando el tiempo (min) en que los machos mantenían el interés sexual por las hembras (montas, intento de montas, pataleo, lengüeteo, micción y flehmen). Para cada prueba se hicieron videofilmaciones, las cuales posteriormente se evaluaron con más detalle. Una de las videofilmaciones no se consideró en el análisis de resultados, debido a que se determinó que en el grupo de hembras se encontraba una aparentemente en estro; esto con el fin de evitar el confundido de estimulación hembra-macho.

5.4 Toma y análisis de muestras

Para caracterizar la actividad endocrina testicular, se colectaron semanalmente muestras de sangre de la vena yugular mediante tubos vacutainer con EDTA; una serie de 4 muestras de sangre a intervalos de 20 min. Las muestras se centrifugaron para obtener el plasma sanguíneo, del cual posteriormente se determinaron las concentraciones de testosterona mediante un estuche comercial (TESTO-CT2, Kit-RIA, Cisbio).

5.5 Evaluación de semen fresco

Quincenalmente se colectaron eyaculados mediante vagina artificial, para evaluar la motilidad progresiva (MP), concentración espermática (CNC) y volumen seminal (VOL). Se registró la circunferencia escrotal (CE) y el peso vivo (PV).

5.6 Análisis Estadísticos

El análisis estadístico de los resultados fue por ANDEVA para un modelo mixto de observaciones repetidas en donde el Tratamiento fue el factor de parcela y el Tiempo y la interacción Tratamiento/Tiempo factores de sub-parcela; PV se usó como covariable para CE y la MP se transformó a arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción para su análisis con el fin de normalizarla.

VI. RESULTADOS

6.1 Duración del interés sexual

El interés sexual de los machos caprinos se vio influenciado por el tiempo ($P < 0.01$) y la interacción de tratamiento por el tiempo ($P < 0.05$). En la Fig. 1 se presentan las medias de la interacción. Como puede observarse, en el periodo coincidente con las semanas de aplicación de tratamientos (inicio 4 de abril, término 22 de abril), fue cuando se presentaron diferencias entre grupos experimentales en esta variable; durante la 2da semana en tratamiento el grupo en que se aplicó testosterona presentó la mayor duración de interés sexual (10 min^a), seguido por el de GnRH (7.8 min^a) y por último el Control (4.2 min^b) ($P < 0.05$).

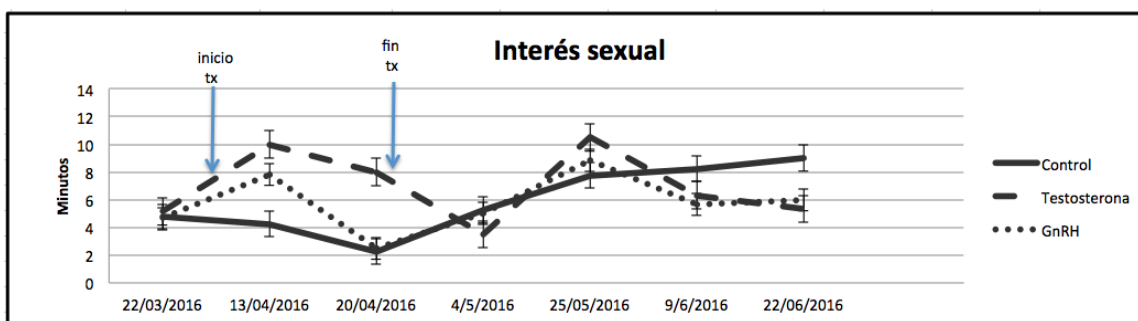


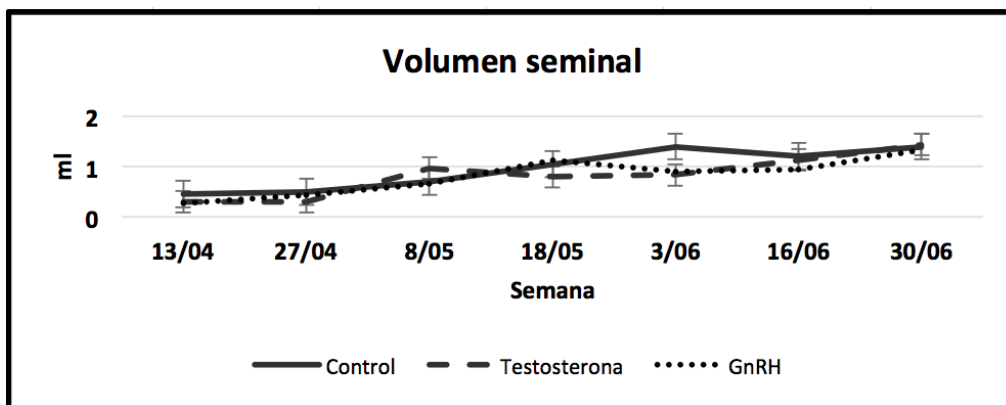
Fig. 1. Medias de cuadrados mínimos (\pm e.e.m.) de la duración del interés sexual por hembras en anestro a través del tiempo, en machos caprinos con aplicación de Testosterona exógena, administración continua de GnRH o Control sin tratamiento. Tratamiento $P = 0.95$, Tiempo $P = 0.005$, Interacción Tratamiento x Tiempo $P = 0.03$

El aumento en duración del interés sexual se mantuvo durante la 3^a semana en tratamiento en el grupo con testosterona (8 min, $P < 0.05$), y no así en el grupo GnRH (2.5 min), el cuál presentó un valor similar al Control (2.25 min). Dos semanas posteriores al término de tratamientos (4 de mayo), todos los grupos presentaron una baja duración del interés sexual la cual no fue diferente entre grupos (4.6 min; $P > 0.05$). A partir de ese momento, los animales de los 3 grupos experimentales mostraron un incremento gradual en el valor de esta variable, el cuál al final del experimento (22 junio) fue mayor en el grupo Control (5.3^a, 6.0^a y 9.0^b min en grupos Testosterona, GnRH y Control).

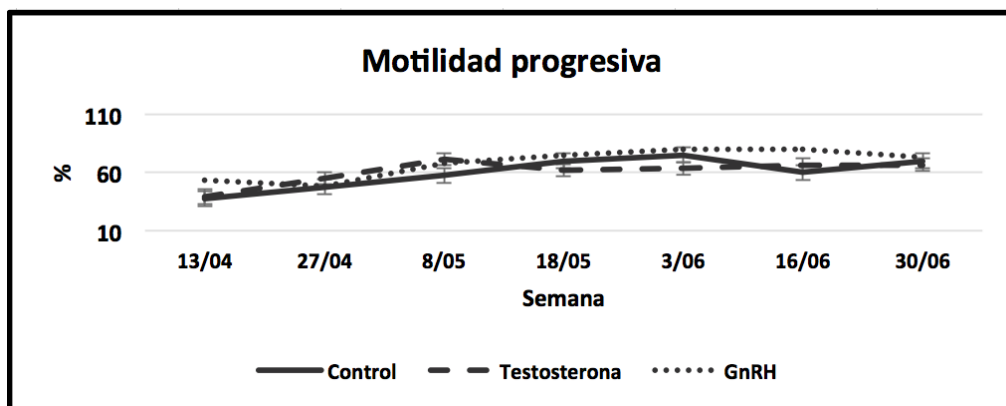
6.2 Calidad seminal

El volumen seminal (Fig. 2 A), la motilidad progresiva individual (Fig. 2 B) y la concentración espermática (Fig. 2 C) no se vieron influenciadas por los efectos de Tratamiento ni por la interacción Tratamiento x Tiempo ($P > 0.05$), sin embargo, el factor Tiempo si influenció estas variables ($P < 0.01$). En los tres casos se observó un incremento en el valor de las respuestas a medida que pasaba el tiempo sin que este patrón fuera diferente entre los grupos de tratamiento (volumen de 0.34 a 1.39 ± 0.13 ml; motilidad progresiva de 43.5 a 70.0 ± 3.5 % y concentración espermática de 1.7 a $3.18 \pm 0.39 \times 10^9$ células espermáticas).

A)



B)



C)

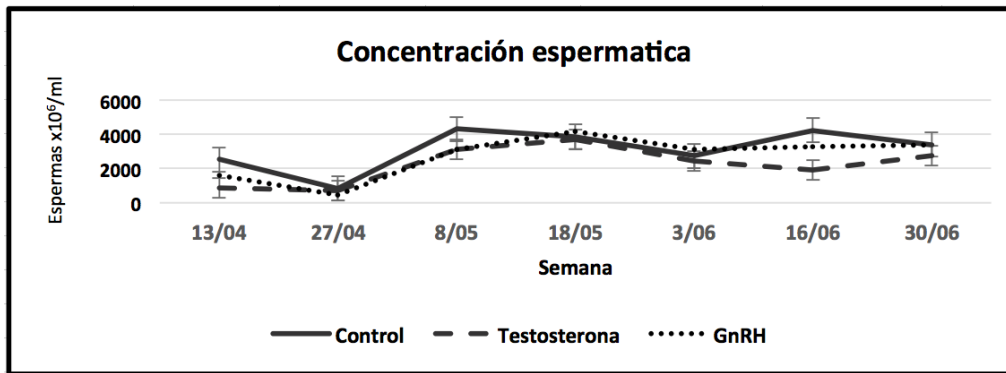


Fig 2. Medias de cuadrados mínimos (\pm e.e.m.) de variables de calidad seminal, (A) Volumen seminal; B) Motilidad progresiva individual; C) Concentración espermática a través del tiempo en machos caprinos con aplicación de Testosterona exógena, administración continua de GnRH o Control sin tratamiento. Tiempo, $P < 0.01$; Tratamiento y Tratamiento x Tiempo, $P > 0.05$.

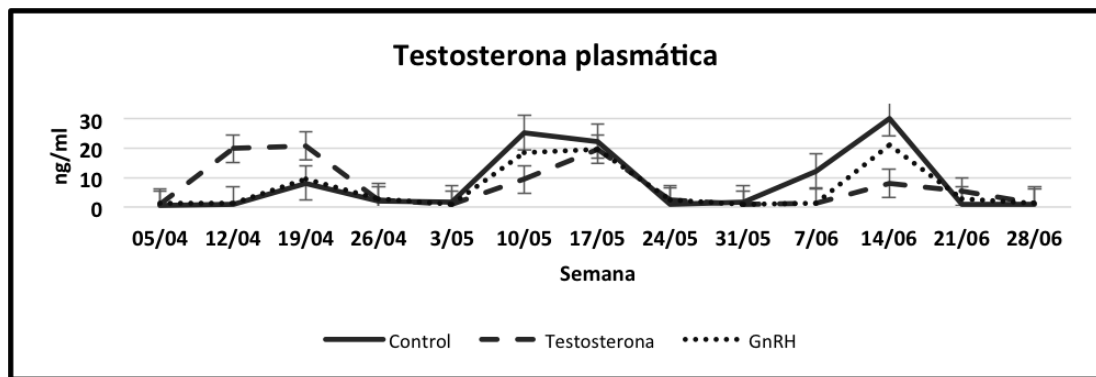
6.3 Testosterona plasmática y Circunferencia Escrotal

La concentración plasmática de testosterona y la circunferencia escrotal (CE) se vieron influenciadas por el Tiempo ($P < 0.01$), pero de manera diferente entre tratamientos para el caso de testosterona plasmática (Tratamiento x Tiempo $P = 0.05$) y con una tendencia de efecto de la interacción Tratamiento x Tiempo para CE ($P = 0.10$); Fig. 3.

El efecto de interacción sobre testosterona plasmática, se expresó sobre todo durante el periodo de aplicación de tratamientos, y de manera menos evidente, en algunas semanas después de que estos fueron suspendidos; el grupo con aplicación parenteral de testosterona presentó un incremento de testosterona plasmática con respecto a los grupos GnRH y Control durante la 2^{nda} (12 abril) y 3^{era} semana (19 abril) en tratamiento, asimismo, mostró una ligera disminución en esta variable en la 3^{ra} (10 mayo) y 8^a semana (14 junio) después de que el tratamiento fue suspendido. Los grupos GnRH y Control mostraron un perfil similar de concentraciones plasmáticas de testosterona a través del periodo experimental.

La CE mostró un incremento gradual a través del periodo experimental en todos los grupos experimentales, pero durante la 4ª semana (17 mayo) después de terminados los tratamientos, este incremento fue menor en el grupo tratado con testosterona parenteral. Asimismo, durante la 6ª (31 mayo) y 8ª (14 junio) semana el incremento en el grupo tratado con GnRH fue mayor que en los otros grupos experimentales.

A)



B)

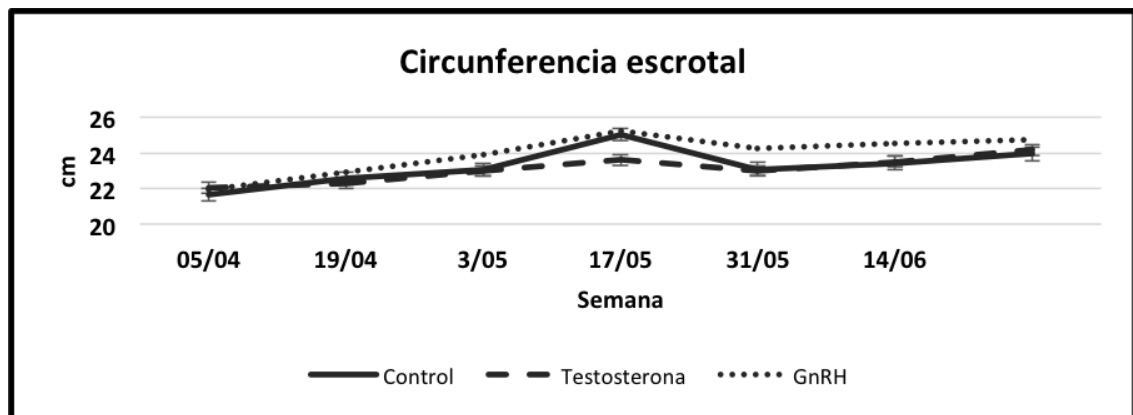


Fig. 3. Medias de cuadrados mínimos (\pm e.e.m.) de testosterona plasmática (A) y circunferencia escrotal (B) a través del tiempo en machos caprinos con aplicación de Testosterona exógena, administración continua de GnRH o Control sin tratamiento. Tratamiento, $P > 0.05$; Tiempo, $P < 0.01$; Tratamiento x Tiempo CE ($P = 0.10$) y Testosterona ($P = 0.05$).

VII. DISCUSIÓN

7.1 Libido

Durante la inactividad sexual de los machos caprinos, la secreción de LH y testosterona, el peso testicular y la producción espermática se encuentran disminuidos (Carrillo *et al.*, 2010; Delgadillo *et al.*, 2001), por lo tanto, en dicho periodo, el comportamiento sexual de los machos se ve reducido; el número de montas disminuye y las copulaciones pueden desaparecer totalmente (Carrillo *et al.*, 2010). Es por esto que para este experimento, se buscó desarrollar un método para activar la libido de machos caprinos durante su etapa de inactividad sexual, sin causar efectos negativos que comprometan su actividad como sementales.

Los resultados obtenidos a partir de la segunda semana, en el grupo de testosterona, indican que la aplicación exógena de la misma a los machos caprinos inactivos, provoca una actividad sexual claramente definida, como era de esperarse (Luna-Orozco *et al.*, 2012; Vera-Ávila *et al.*, 2017); para esta variable fue el control positivo, el tratamiento que aumento la libido durante las primeras semanas, que fue el tiempo que duraron las aplicaciones, sin embargo el efecto fue corto; lo que indica que la testosterona exógena en la temporada no reproductiva es capaz de estimular el comportamiento sexual en el macho, pero en cuanto es suspendido el tratamiento regresan a una inactividad sexual; es decir el efecto de cada inyección de testosterona del protocolo, dura menos de una semana. Cabe señalar que la variable utilizada para reflejar la intensidad de libido, duración del interés sexual por hembras en anestro, mostró ser adecuada para marcar diferencias entre los controles negativo (Grupo Control) y positivo (Grupo Testosterona) del experimento.

Tres semanas después de terminados los tratamientos (12 mayo), el grupo testosterona tuvo aumentos en el tiempo de interés sexual coincidente con el grupo control, lo que sugiere, estaban saliendo de la etapa de depresión sexual para iniciar la época reproductiva, la cual algunos autores reportan que esta época comienza en los meses de mayo y junio (Escalante, 2016).

Durante las semanas de tratamiento, el grupo control se mantuvo bajo en el comportamiento sexual, no mostraban interés por las hembras usadas para el experimento, lo que denota un claro ejemplo de que estos animales se encontraban en la época de depresión de la actividad reproductiva. Posteriormente se observó un aumento gradual en el tiempo de interés sexual, otro claro ejemplo de que los machos de raza Nubia en la latitud en que se hizo el experimento expresan estacionalidad reproductiva.

Para el caso del grupo de GnRH, el tiempo de interés sexual que mostraron los machos aumentaba a un nivel similar que el grupo testosterona, sin embargo este comportamiento disminuyó hacia la 3era semana en tratamiento, para después mostrar un comportamiento similar al grupo control, nuevamente indicando el efecto de la estacionalidad, pero este comportamiento muestra que no hubo algún efecto negativo por la aplicación de GnRH, como lo es la desensibilización a los gonadotropos. Este fenómeno de desensibilización es complejo y no bien conocido, pero la administración continua de GnRH ha resultado efectiva y reversible como una alternativa a la castración quirúrgica en perros, gatos y hurones (Mir & Fontaine, 2012).

La administración continua por periodos largos de análogos de GnRH resulta en la desensibilización de la pituitaria a los efectos de la GnRH la cual conlleva a una disminución de la liberación de gonadotropinas, como consecuencia una pérdida de la función testicular (Gómez-Alzugaray, 1999).

Existen productos comerciales de análogos de GnRH, como el implante de buserelin Profact® o el implante de deslorelina Suprelorin® (Virbac), los cuales tienen efectos seguros para la castración farmacológica en animales de compañía (Goericke-Pesch, 2010). Sin embargo en rumiantes este proceso de desensibilización a los gonadotrópos no ha sido evidenciado. Jiménez *et al.* en el 2006 realizaron un trabajo en el cual comparan la respuesta en las características de secreción de LH, FSH y testosterona de carneros y toros durante un tratamiento de periodo largo de 28 días, utilizando análogos de GnRH. Estos autores, obtuvieron respuestas a partir de las cuáles se puede concluir que, la

administración continua de análogos de GnRH no causa desensibilización de los gonadotrópos en machos bovinos y ovinos.

La tasa de liberación de GnRH que se utilizó en el presente trabajo se seleccionó en base al trabajo de Fray *et al.* (1995), en el cual hicieron ovular a un grupo de ovejas acíclicas con infusiones subcutáneas de GnRH a una tasa de liberación de 250 ng/h considerada como una dosis baja. En esa investigación, se demostró que con dosis bajas de GnRH se pudo incrementar las concentraciones de LH de manera suficiente como para promover una ola preovulatoria de LH y así inducir la ovulación.

Con una tasa de liberación similar se logró incrementar la libido, expresada como la duración de interés sexual por hembras en anestro, en los animales del grupo GnRH. Sin embargo, este efecto no fue persistente, lo cual podría estar relacionado con el hecho de haber usado una dosis baja de GnRH, aspecto que sería interesante probar en trabajos posteriores.

La estrategia de este diseño experimental para el grupo de GnRH fue actuar a nivel hipotálamo-hipófisis y así conseguir buenas concentraciones de testosterona. Por consiguiente, los machos tratados mostrarían buena libido, ya que el control hormonal de la actividad reproductora en el macho se debe a la GnRH, la cual es secretada de manera pulsátil por el hipotálamo, para estimular a la hipófisis y generar secreciones pulsátiles de LH para actuar en el testículo (Restal *et al.*, 1992). De esta manera, se lograría resolver el problema de depresión de libido y además aumentar las concentraciones intratesticulares de testosterona mejorando eventualmente la actividad espermatogénica. Lo anterior, sin aumentar directamente el tono de retroalimentación negativa para GnRH/LH como podría suceder con la administración exógena de testosterona.

7.2 Calidad seminal

Cambios en la calidad del semen, el diámetro testicular y el nivel de secreción hormonal (LH, FSH, T) son indicadores de estacionalidad de la actividad sexual de machos caprinos (Aller *et al.*, 2012). En los valores encontrados en este trabajo

para las variables de calidad seminal (VOL, MP y CONC), se observan estos cambios, un comportamiento normal por el efecto combinado de la estacionalidad reproductiva (Escalante *et al.*, 2016) y de la maduración sexual de los machos experimentales que eran animales jóvenes aún en crecimiento.

Los valores de calidad seminal en machos caprinos de razas estacionales presentan variaciones a través del año con incrementos entre la primavera y el otoño (Castilla, 2006). Asimismo, en machos jóvenes se presenta un incremento en los valores de calidad seminal como reflejo del proceso de madurez sexual que culmina a los 3-4 años de edad (Ariciaga-Gonzalez *et al.*, 2008).

Tanto calidad y cantidad de semen pueden variar con la edad, la temporada, temperatura, raza e incluso entre individuos de una misma raza, además de por el método de obtención del eyaculado, ya sea por electroeyaculación o vagina artificial. El volumen medio de un eyaculado en ganado caprino es de 1 ml (0.5-1.5 ml), obteniéndose mayor volumen por medio de VA (Cortés, 2014; Memon *et al.*, 2015), con una concentración media estimada de 2.5 a 3.0 x 10⁹ espermatozoides/ml (Cortés, 2014). Similar a los valores encontrados en los eyaculados de los machos caprinos del experimento (Fig. 2).

Para el grupo de testosterona exógena, se sospechaba que ésta hormona podía afectar la calidad seminal debido al efecto de retroalimentación negativa que ejerce la hormona en el eje hipotálamo-hipófisis, inhibiéndose de forma indirecta la secreción de GnRH y a su vez provocando una disminución en la secreción de LH adenohipofisaria y producción de testosterona por las células de Leydig, esencial para mantener la espermatogénesis (Tilbrook & Clarke, 2001; Smith & Walker, 2015).

La LH y la FSH tienen sitios de acción separados en los testículos y trabajan en conjunto con la testosterona intratesticular para controlar la espermatogénesis (Goyal & Memon., 2007). Si bien la FSH actúa sobre las células de Sertoli para activar sus funciones, en el individuo post-puberal es más bien la testosterona intratesticular la que regula la función de estas células y su actividad para mantener la

espermatogénesis; por lo tanto es esencial que se mantenga un patrón adecuado de secreción de LH para que por estimulación de las células de Leydig, células blanco para esta gonadotropina, se mantengan concentraciones intra-testiculares adecuadas de testosterona (Valli *et al.*, 2015). En consecuencia, se esperaba una alteración en la calidad seminal en el grupo con administración exógena de testosterona y asociado a un aumento en el tono de retroalimentación negativa sobre GnRH/LH ejercido por esta hormona y a la disminución de testosterona intratesticular. Sin embargo este efecto no se presentó al menos lo que constituyó el periodo experimental.

Eventualmente la actividad epididimal también podría verse afectada en el grupo con testosterona, ya que la maduración espermática en el epidídimo es dependiente tanto de la testosterona sistémica, como de la testosterona testicular que llega directamente al epitelio epididimal a partir de los túbulos seminíferos, acarreada por la proteína ligadora de andrógenos (ABP) que a su vez secreta la célula de Sertoli estimulada por la testosterona intra-testicular (Robaire & Hinton, 2015).

Benoit (1926) demostró que la función del epidídimo y la maduración y supervivencia de los espermatozoides dentro de él dependían de las hormonas secretadas por el testículo, algunos de los cambios de maduración, como la motilidad, pueden ser intrínsecos a la célula espermática y desarrollarse con el tiempo, mientras que otros, como la capacidad de interactuar con el óvulo, dependen del ambiente del epidídimo. Esta última está condicionada por andrógenos testiculares (Robaire & Hinton, 2015).

Cabe recalcar que la espermatogénesis es un proceso largo que dura aproximadamente 60 días en los machos caprinos (Valli *et al.*, 2015). Por eso, es importante que, para valorar posibles efectos negativos de algún tratamiento sobre la calidad seminal, se realicen evaluaciones a corto (efecto solo sobre maduración epididimal) y mediano-largo plazo (efecto sobre maduración epididimal y/o espermatogénesis). Eso no fue el caso del trabajo de Ángel-García *et al.* (2014), quienes realizaron una sola evaluación de semen al final de un tratamiento con

testosterona similar al de este trabajo y no encontraron efectos detrimentales en su calidad. Los hallazgos del presente trabajo corroboran y expanden lo anterior, al no haber encontrado efectos negativos sobre la calidad seminal durante y hasta 10 semanas posteriores a la aplicación de testosterona exógena por 3 semanas (Fig. 2).

Los resultados de calidad seminal en el grupo testosterona, sugieren que no hubo un efecto importante sobre el tono de retroalimentación negativa para la secreción de GnRH/LH.

En cuanto al grupo de GnRH tampoco se observó un efecto sobre la calidad seminal.

Lo que se esperaba al inicio del estudio era que la aplicación de GnRH tuviera un efecto positivo sobre la calidad seminal, al actuar directamente en el eje hipotálamo-hipófisis. Sin embargo, los valores encontrados no mostraron una mejora en comparación a los otros grupos, no se observaron efectos negativos ni positivos sobre la calidad seminal en este grupo.

Una posibilidad por la cual no se encontró un efecto positivo para la calidad seminal pudiera ser por la dosis aplicada, la cual se basó en el trabajo de Fray *et al.* (1995). La selección de una dosis baja de GnRH para el presente trabajo se hizo para disminuir la posibilidad de generar un efecto de desensibilización hacia la hormona liberadora.

El incremento en los valores de calidad seminal que se observó a través del tiempo (Fig. 2), probablemente refleja un efecto estacional dado la época del año en que se realizó el experimento (Escalante *et al.*, 2016). Los autores anteriores, evaluaron los cambios de calidad seminal a través del año en machos caprinos de diferentes razas, encontrando un patrón similar entre razas, con incremento en los valores de calidad seminal a partir de mayo, valores máximos en noviembre y luego disminución hasta abril del siguiente año. Otros autores encontraron valores máximos para calidad seminal en machos caprinos para los meses de julio y

agosto, pero de igual manera comenzando su patrón de cambio a partir de mayo (Carrillo *et al.*, 2010).

7.3 Testosterona Plasmática y Circunferencia Escrotal

La testosterona plasmática y la CE presentaron cambios a través del periodo experimental, que fueron ($P < 0.05$) o tendieron ($P = 0.10$) a ser diferentes entre grupos de tratamiento (Fig. 3).

La administración parenteral de testosterona provocó, como era de esperarse, un incremento en las concentraciones plasmáticas de la hormona durante las semanas en que se administró la hormona en el grupo correspondiente. Durante ese mismo periodo, los valores de testosterona plasmática se mantuvieron más bajos en los grupos control y GnRH, manteniéndose así hasta principios de mayo (Escalante *et al.*, 2016). En el grupo testosterona la concentración plasmática de la hormona regresó a valores similares al control a los 4 días de haber terminado el tratamiento, lo cual resalta la necesidad de reinyectar a los machos si se desea mantener el efecto de la hormona.

Durante el periodo de depresión de la actividad sexual, la secreción de LH, de testosterona, el peso testicular y la producción espermática se encuentran disminuidos (Carrillo *et al.*, 2010; Delgadillo *et al.*, 2001; Ariciaga-Gonzalez *et al.*, 2008). Posterior a esta etapa de depresión, entre mayo y junio comienza un incremento de la circunferencia escrotal seguido de aumento en la actividad endocrina y espermatogénica testicular (Escalante *et al.*, 2016), para llegar a un valor máximo entre los meses de julio a septiembre (Delgadillo *et al.*, 1999).

En machos caprinos, la concentración plasmática de testosterona durante la época de menor actividad reproductiva se encuentra en un rango de entre 1 y 5 ng/ml elevándose hasta 20 a 25 ng/ml en la época de mayor actividad (Lincoln, 1989). Lo anterior, coincide en general con los valores encontrados en el presente trabajo (valores mínimo y máximo de 0.5 y 30.0 ng/ml).

Aunque en algunas de las semanas evaluadas se observó menor concentración de testosterona plasmática en el grupo testosterona, este efecto fue de muy corta duración (una semana) y solo después de 3 y 8 semanas de suspendida la administración de la hormona. Éste fenómeno es difícil de explicar, precisamente por qué se presentó varias semanas después de suspender el tratamiento, lo cual hace dudar que el efecto observado hubiera estado asociado al tratamiento. En el grupo GnRH las concentraciones de testosterona fueron similares a los animales del grupo control durante todo el periodo experimental. Lo anterior, sugiere que los tratamientos no provocaron una alteración importante en el funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-testículo en los grupos testosterona (por aumento del tono de retroalimentación negativa) o GnRH (por desensibilización a la hormona liberadora). La ausencia de efecto de la aplicación de GnRH sobre testosterona plasmática, podría estar asociada a la utilización de una dosis considerada como baja (Fray *et al.*, 1995), aunque esto otro trabajo.

Los cambios observados en la CE se explican al igual que en el caso de las variables de calidad seminal por la estacionalidad reproductiva y probablemente también por la maduración sexual de los machos experimentales (Castilla, 2006; Escalante *et al.*, 2016); incremento gradual a través del tiempo durante todo el periodo experimental. Las diferencias a favor del grupo GnRH observadas al final del periodo experimental fueron de pequeña magnitud y observadas solo a varias semanas después de suspendido el tratamiento con GnRH por lo que es difícil interpretar este efecto.

VIII. CONCLUSIONES

En contraste con lo hipotetizado, la administración de testosterona no afectó a mediano plazo la calidad espermática, aunque sí pareció interferir temporal y ligeramente con el desarrollo y actividad endocrina testicular. La aplicación continua de GnRH a dosis baja solo estimuló temporalmente la libido, sin provocar alteraciones en la actividad espermatogénica y endocrina testicular pero si influenciando positivamente el desarrollo de los testículos.

IX. IMPLICACIONES

La administración continua de GnRH puede ser una alternativa de efecto rápido para activar machos caprinos en reposo sexual, sin embargo, aún es necesario establecer las dosis adecuadas para que el efecto sea duradero.

X. LITERATURA CITADA

Aller J. F., Aguilar D., Vera T., Almeida G. P. & Alberio R. H. 2012. Seasonal variation in sexual behavior, plasma testosterone and semen characteristics of Argentine Pampinta and Corriedale rams, , Departamento de Producción Animal, EEA Balcarce, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Balcarce, Argentina, Spanish Journal of Agricultural Research 2012 10(2), 345-352 ISSN: 1695-971-X eISSN: 2171-9292

Aréchiga C.F., Aguilera, J.I., Rincón R.M., Méndez de Lara S., Bañuelos V.R., Meza-Herrera C.A. 2008. Situación actual y perspectivas de la producción caprina ante el reto de la globalización. Tropical and Subtropical Agroecosystems E-ISSN: 1870-0462, Universidad Autónoma de Yucatán Mérida

Ariciaga-Gonzalez C., Vera-Avila H.R., Jimenez-Severiano H., Mejia-Guadarrama C.A., Gonzalez-Padilla E., Villagomez-Amezcuca E. 2008. Expression of reproductive seasonality in Creole bucks under different nutritional conditions. 9th International conference on goats. Querétaro, Qro., MEXICO.

Barrios D. R., Evaluación de la calidad y capacidad fecundante de espermatozoides de la cola del epidídimo de toros post-mortem, 2002, XI Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal, ULA-Trujillo, consultado: http://www.avpa.ula.ve/congresos/cd_xi_congreso/pdf/diegobarrios.PDF

Aspden W.J., Van Reenen N., Whyte T.R., Maclellan L.J., Scott P.T., Trigg T.E. Walsh J., D'Occhio M.J. 1997. Increased testosterone secretion in bulls treated with a luteinizing hormone releasing hormone (lhrh) agonist requires endogenous lh but not lhrh. domestic animal endocrinology elsevier Vol. 14(6):421-428.

Benoit J. Recherches, 1926, Anatomiques, cytologiques et histophysiologiques sur les voies excrétrices du testicule chez les mam- mifères. Arch Anat Histol Embryol

Carrillo E., Meza H. C. A., Véliz F. G. 2010. Reproductive seasonality of young French-alpine goat bucks adapted to subtropical conditions in Mexico. *Rev Mex Cienc Pecu* 1(2):169-178.

Castilla L. G. A. E. 2006. Comparación del comportamiento reproductivo en machos caprinos de diferentes razas durante la transición hacia la estación reproductiva. Tesis de maestría. Ajuchitlán, Querétaro.

Chemineau P., Malpoux B., Delgadillo J. A., Ravault Y., Thimonier J., Pelletier J. 1992. Control of sheep and goat reproduction: Use of light and melatonin. *Animal Reproduction Science* 30: 157-184.

Chemineau P., Daveau A., Maurice F. Delgadillo J. A. 1992. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Rum Res* 8: 299-312.

Chemineau P., & Delgadillo J. A. 1993. Neuroendocrinología de la reproducción en el caprino. *Rev Cient*, 3, 113–121.

Chemineau P., Malpoux B., Pelletier J., Leboeuf B., Delgadillo J. A., Deletang F., Pobel T., Brice G., 1996. Use of melatonin implants and photoperiodic treatments to control seasonal reproduction in sheep and goats. *INRA Productions Animales*, 9: 45-60.

Chemineau, P., Guillaume, D., Migaud, M., Thiéry, J.C., Pellicer-Rubio, M.T., Malpoux, B. 2008. Seasonality of reproduction in mammals: intimate regulatory mechanisms and practical implications. *Reprod. Dom. Anim.* 43 (Suppl. 2); 40-47.

Chemineau P., Bodin L., Migaud M., Thiery J. C., Malpoux B. 2010. Neuroendocrine and genetic control of seasonal reproduction in sheep and goats. *Reprod Domest Anim* 45 Suppl 3: 42-49.

Corteel J.M. 1994. Production du sperm chez le bouc: Variation saisonniers de la quantité, selon l'âge des animaux. Journées de la J. Recherche ovine et caprine. Paris INRAITOVIC

Cortés G.S., 2014, Efecto de la conservación sobre la fisiología espermática de semen caprino, tesis para doctorado en Ciencias Biológicas, Madrid, España.

Courot, M., Ortavant. R. 1981. Endocrine control of spermatogenesis in the ram. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 30:47.

Crocker K. P., Butler L. G., Johns M. A., McColm S. C., 1982. Induction of ovulation and cyclic activity in anestrus ewes with testosterone treated wethers and ewes. *Theriogenology* 17: 349-354.

Dadoune, J.P., Demoulin, A. 1993. Structure and function of the testis. In: *Reproduction in mammals and man*, Edited by Ch Thibault, MC Lavasseur and RHF Hunter. Ellipses, Paris.

De la Vega A. C., Ruiz R., Wilde O. R. 2001. Relación de la circunferencia escrotal con algunos parámetros de calidad seminal en caprinos Criollos de la provincia de Tucumán (Argentina) Correlation of scrotal circumference with some seminal quality parameters in creole goat. *Zootecnia Tropical*, 19(3), 455–463.

Delgadillo J.A., Leboeuf B., Chemineau P., 1991. Decrease in the seasonality of sexual behaviour and sperm production in bucks by exposure to short photoperiodic cycles. *Theriogenology* 36, 755–770.

Delgadillo J. A., Carrillo E., Moran J., Duarte G., Chemineau P. y Malpoux B. 2001. Induction of sexual activity of male creole goats in subtropical northern Mexico using long days and melatonin. *J Anim Sci* 79: 2245-2252. 92

Delgadillo, J. A., Flores, C.J.A., Véliz, D.F.G., Duarte, M. G., Vielma, S. J., Poindron, M. P., Malpoux, B. 2003. Control de la reproducción de los caprinos del subtrópico mexicano utilizando tratamientos fotoperiódicos y efecto macho. *Vet. Méx.* 34 (1):69-79.

Delgadillo J. A., Duarte G., Flores J. A., Vielma J., Hernández H., Fitz-Rodríguez G., Bedos M., Graciela-Fernández I., Muñoz-Gutiérrez M., Retana-Márquez M., Keller M. 2012. Control de la actividad sexual de los caprinos sin

hormonas exógenas: uso del fotoperiodo, efecto macho y nutrición. 2012. Tropical and Subtropical Agroecosystems, vol. 15, núm. 1, pp. S15-S27

Eilts B. E. 2004. Semen Evaluation. Consultado:

http://therio.vetmed.lsu.edu/semen_anal_22.htm

Escalante H. I., Vera-Ávila H. R., 2016, Actividad reproductiva estacional en machos caprinos; comparación entre un genotipo criollo y razas puras utilizadas comúnmente en México, LII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, Querétaro, Qro.

FAO, 2014 www.faostat.fao.org

Ford Jr. D., Okere C., Bolden-Tiller O. 2009. Libido test scores, body conformation and testicular traits in boer and kiko goat bucks, ARPN Journal of Agricultural and Biological Science, ISSN 1990-6145

Fray M.D., Lamming G.E., Haresign W. 1995. Induction of ovulation in the acyclic postpartum ewe following continuous, low-dose subcutaneous infusion of GnRH, 1995, AFRC Research Group on Hormones, Farm Animal Reproduction University of Nottingham, Sutton Bonington, Leicestershire, LE12 5RD, United Kingdom, Theriogenology

Ganong W. F. 2000. Fisiología Médica. 17a edición. Edit. El Manual Moderno. México.

Garner D. L. & Hafez E. S. E. 1989. Espermatozoides y plasma seminal en: Reproducción e inseminación artificial. 5a edición. Editorial 96 Interamericana México.

Goericke-Pescha S., Georgievb P., Antonovb A., Albouyc M., Wehrenda A., 2011, Clinical efficacy of a GnRH-agonist implant containing 4.7 mg deslorelin, Suprelorin®, regarding suppression of reproductive function in tomcats, Theriogenology 75 (2011) 803–810

Gómez-Alzugaray M., 1999, Antihormonas: su aplicación en algunos aspectos médicos de la salud reproductiva, *Revista Peruana de Endocrinología y Metabolismo* 1999; 4 (2): 83-90

Goyal H. O. & Memon M. A., 2007, *Clinical Reproductive Anatomy and Physiology of the Buck*, Youngquist S.R. & Threlfall's *Current therapy large animal theriogenology*, second edition, Saunders Elsevier, Missouri.

Guerrero C. M. 2010. La caprinocultura en México, una estrategia de desarrollo. *Revista Universitaria Digital de Ciencias Sociales*, 1, 1–8

Herrera G. M., Peña B. F., Rodero S. E. 2005. *Etología aplicada, protección animal y etnología*. Departamento de producción animal, Universidad de Córdoba, España. Consultado: http://www.uco.es/organiza/departamentos/prod-animal/economia/aula/img/pictorex/30_07_00_temario.PDF

Jiménez-Severiano H., D'Occhio M.J., Lunstra D.D., Mussard M.L., Davis T.L., Enright W.J., Kinder J.E. 2007. Comparative response of rams and bulls to long-term treatment with gonadotropin-releasing hormone analogs, *Animal Reproduction Science* 98 (2007) 204–224

Jeong K.H. & Kaiser U.B. 2006. Gonadotropin-releasing hormone regulation of gonadotropin biosynthesis and secretion. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction* (third ed.), Academic Press, St. Louis, pp. 1635–1701

Lincoln G. A., 1989, *Seasonal aspects of testicular function. The testis*, second edition, Raven Press, Ltd. USA.

López G. J. C., Fuentes B. V. H., Serna P. A., Sánchez G. R. A., Figueroa G. J. J., Servin P.M., Echavarría C. Salinas G. H. 2011. La interacción de un macho cabrío sexualmente activo con un tratamiento fotoperiódico reduce la estacionalidad en cabras anéstricas. Folleto Técnico No. 36 Campo experimental Zacatecas CIRNOC-INIFAP

Luna-Orozco JR, Guillen-Muñoz JM, De Santiago-Miramontes MA, Garcia JE, Rodriguez-Martinez R, Meza-Herrera CA. 2012. Influence of sexually inactive bucks subjected to long photoperiod or testosterone on the induction of estrus in anovulatory goats. *Tropical Animal Health and Production* 44 (1), 71–75.

Malpaux B., Robinson J., Brown M.B., Karsch F.J. 1987. Reproductive refractoriness of the ewe to inductive photoperiod is not caused by inappropriate secretion of melatonin. *Biology of reproduction*, 36: 1333-1341.

Mir F. & Fontaine E., 2012, Agonistas de la GnRH como alternativa a la esterilización quirúrgica, Departamento de Reproducción Animal CERCA (Centre d'Études en Reproduction des Carnivores) École Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort, París, Francia consultado: <http://argos.portalveterinaria.com/noticia/7656/articulos-archivo/agonistas-de-la-gnrh-como-alternativa-a-la-esterilizacion-quirurgica.html>

Okamura H., Murata K., Sakamoto K., Wakabayashi Y., Ohkura S., Takeuchi Y. Mori Y. 2010. Male effect pheromone tickles the gonadotrophin-releasing hormone pulse generator. *J Neuroendocrinol* 22: 825-832.

Ortmann O. & Diedrich K. 199. Pituitary and extrapituitary actions of gonadotrophin-releasing hormone and its analogues. *Hum Reprod. Suppl* 1:194-206.

Orihuela-Trujillo A. 2014. La conducta sexual del carnero. Revisión Ram's sexual behavior. Review *Rev. Mex. de cienc. pecuarias* versión On-line ISSN 2448-6698

O'Shaughnessy P. 2015. Testicular development. Knobil and Neill's physiology of reproduction, 4th edition. Elsevier Science & Technology Books

Pérez-Llano B. (1993). Estudio de los parámetros de valoración del rendimiento reproductivo en macho cabrio de las razas Verata y Malagueña. Universidad Complutense de Madrid. Recuperado a partir de <http://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=15310>

Perkins A. & Roselli C. E., 2007 The Ram as a Model for Behavioral Neuroendocrinology, 2007, Horm Behav. Author manuscript; available in PMC Published in final edited form as: Horm Behav.; 52(1): 70–77.

Restal, B. J1992. Seasonal variation in reproductive activity in australian goats. Animal Reprod. 27: 305-318.

Rex E. M., & Pérez B. L. 1993. Evaluación del comportamiento sexual en machos cabríos. MG Mundo ganadero, (12), 41–44.

Robaire B., Hinton B. T., 2015, The Epididymis, Knobil and Neill's physiology of reproduction, 4th edition. Elsevier Science & Technology Books

Roth T.L., Stoops M.A., Atkinson M.W., Blumer E.S., Campbell M.K., Cameron K.N., Citino S.B., Maas A.K. 2005. Semen collection in rhinoceroses (*Rhinoceros unicornis*, *Diceros bicornis*, *Ceratotherium simum*) by electroejaculation with a uniquely designed probe. Journal and Zoo and Wildlife Medicine 36, 617-27.

SAGARPA. 2007. Sistema de Información Agrícola y Pesquera SIAP. www.sagarpa.gob.mx

SAGARPA. 2012. Sistema de Información Agrícola y Pesquera SIAP. www.sagarpa.gob.mx

SAGARPA. 2013. Sistema de Información Agrícola y Pesquera SIAP. www.sagarpa.gob.mx

SAGARPA, 2017. Sistema de Información Agrícola y Pesquera SIAP. censo agropecuario: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/165999/caprino.pdf>

Schafer S., & Holzmann A. 2000. The use of transmigration and Sperm stain to evaluate epididymal cat spermatozoa. Anim. Reprod. Sci. 59: 201-211. Schafer, S., A. Holzmann, and K. Arbeiter. 1997. Investigation into the transmigration rate of short-term conserved canine sperm. Repr. Dom. Anim. 32: 285-289.

Schneider F., Tomeka W., Gründker C., 2006. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: A review, Pituitary and extrapituitary actions of gonadotrophin-releasing hormone and its analogues. Ortmann O1, Diedrich K. 1999. Department of Obstetrics and Gynecology, Medical University of Lübeck, Germany. Hum Reprod. 1999 Sep;14 Suppl 1:194-206.

Silvestre P., Naim P., Cueto M., Gibbons A. (2012). Estacionalidad reproductiva en machos caprinos Criollo-Neuquinos de la Patagonia Argentina. Archivos de zootecnia, 61(233), 119-128.

Smith L.B. & Walker W.H. 2015. Hormonal signaling in the testis. Knobil and Neill's physiology of reproduction, 4th edition. Elsevier Science & Technology Books

Tilbrook A.J. & Clarke I.J. 2001. Negative Feedback Regulation of the Secretion and Actions of Gonadotropin-Releasing Hormone in Males. Biology of Reproduction, 64(3):735-742.

Ungerfeld R. & Fila D. 2011. Testicular Fluid Content Evaluated by Ultrasound Image Computer-Assisted Analysis Increases with Small-Dose Multiple GnRH Injections in Rams. Reprod Dom Anim 46: 720-723.

Valencia M. J. & Bustamante G. 1986. Ovinos y Caprinos. Capítulo 26. En: Reproducción de Animales Domésticos. 1a Edic. Edit. Noriega – Limusa, S. A. de C. V. México.

Valli H., Phillips B.T., Orwing K.E., Gassei K., Nagano M.C. 2015. Spermatogonial stem cells and spermatogenesis. Knobil and Neill's physiology of reproduction, 4th edition. Elsevier Science & Technology Books

Vera G. T. 1993. Reproducción del ganado caprino. UANL. Centro Regional de Fomento Agropecuario, 63–65

Vera-Ávila. H. R., Urrutia M. J., Espinosa M. M. A., Estrada C. E., Jiménez S. H., 2013. Nutrición, estacionalidad reproductiva y mantenimiento de la

gestación en caprinos. Libro técnico núm. 21. INIFAP- CENID Fisiología y Mejoramiento Animal. Ajuchitlán, Querétaro, México.

Vera-Avila HR, Urrutia-Morales J, Espinosa-Martinez MA, Gamez-Vazquez HG, Rivera-Lozano MT, Cervantes-Becerra JF, Castañeda-Rodriguez V, Jiménez-Severiano H, Villagómez-Amezcu ME. 2017. Body condition and stage of seasonal anestrus interact to determine the ovulatory response after male biostimulation in anovulatory Criollo x Nubian female goats. *Animal Science Journal* 88:841-846.

Véliz F.G., Moreno S., Duarte G., Vielma J., Chemineau P., Poindron P., Malpoux B., Delgadillo J.A. 2002. Male effect in seasonally anovulatory lactating goats depends on the presence of sexually active bucks, but not estrous females *Anim Reprod Sci.* 2002 Aug 15;72(3-4):197-207.

Walkden-Brown S.W & Restall B.J. 1994. Environmental and Social Factors Affecting Reproduction. VI International Conference on Goats International Academic Publishers. Beijing. China.

Youngquist S.R. & Threlfall. 2007. Current therapy large animal theriogenology, second edition, Saunders Elsevier, Missouri.

Zarazaga L. A., Guzmán J. L., Domínguez C., Pérez M. C., Prieto R. 2005. Effect of plane of nutrition on seasonality of reproduction in Spanish Payoya goats. *Anim. Reprod. Sci.*, 87(3), 253–267.