

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



EFFECTO DE LA GnRH O hCG SOBRE LA CALIDAD SEMINAL DE
CARNEROS DORPER DURANTE LA ÉPOCA DE INACTIVIDAD SEXUAL

Tesis

Que presenta RAFAEL RODRÍGUEZ VENEGAS

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

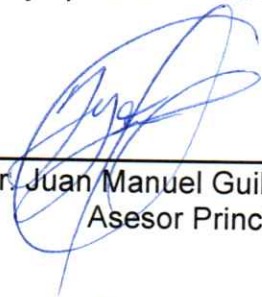
Torreón, Coahuila

Julio 2020

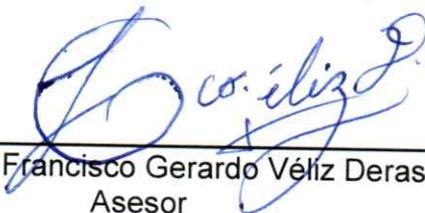
EFFECTO DE LA GNRH O HCG SOBRE LA CALIDAD SEMINAL DE
CARNEROS DORPER DURANTE LA ÉPOCA DE INACTIVIDAD SEXUAL

Tesis


Elaborada por RAFAEL RODRÍGUEZ VENEGAS como requisito parcial para
obtener el grado de Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria con la
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría




Dr. Juan Manuel Guillén Muñoz
Asesor Principal



Dr. Francisco Gerardo Véliz Deras
Asesor




Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán
Asesor



Dr. Oscar Angel García
Asesor



Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán
Jefa del Departamento de Postgrado



Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente
Subdirector de Postgrado

Torreón, Coahuila

Julio 2020

AGRADECIMIENTOS

A los Doctores: Francisco Gerardo Véliz Deras, Oscar Angel Garcia, Carlos Leyva Orasma, Juan Luis Morales Cruz y Juan Manuel Guillen Muñoz, por brindarme su apoyo y compartir su conocimiento y experiencia.

A mis compañeros: José Luis Herrera Gonzalez, Ariadna Vanessa Alvarado Espino, Luis Antonio Luna García, Evaristo Carrillo Moreno, Jesús Guillermo Armijo Najera y Elco Humberto Bolivar García, por apoyarme durante esta etapa y haberme brindado su amistad.

A los profesores: A todos los profesores de la Universidad que me brindaron sus conocimientos.

A la C. Aurelia Najera Cruz: Por el apoyo que nos brinda para todos los trámites.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT): Por otorgarme la beca para poder cursar la maestría.

DEDICATORIA

A mis padres: Rafael Rodríguez Martínez y Juana María Antonieta Venegas Yaber por su amor, consejos, regaños, enseñanzas y sobre todo la educación que me brindaron.

A mis hermanas: Claudia, Pamela y Mariana que siempre están ahí para ayudarme y apoyarme.

A Ariadna Gonzalez Luna: Que Siempre estas ahí para apoyarme, guiarme y acompañarme en toda etapa de mi vida.

A mis abuelos: Rosa María, Juan Venegas, Rafael Rodríguez y Esthela Matríz, les dedicó este trabajo y todas mis acciones van dedicadas para ustedes que siempre creyeron en mí.

Índice General

1	INTRODUCCIÓN.....	1
2	REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1	FISIOLOGÍA REPRODUCTIVA EN CARNEROS	3
2.1.1	<i>Estacionalidad Reproductiva.....</i>	3
2.1.2	<i>Fotoperiodo.....</i>	4
2.1.3	<i>Eje hipotálamo-hipófisis-testículo.....</i>	6
2.1.4	<i>Espermatogenesis</i>	7
2.1.5	<i>Hormona Liberadora de gonadotropinas (GnRH)</i>	9
2.1.6	<i>Gonadotropina coriónica humana (hCG)</i>	10
3	MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
3.1	GENERAL	11
3.2	LOCALIZACIÓN, CONDICIONES AMBIENTALES Y ANIMALES	11
3.3	MANEJO Y TRATAMIENTO DE LOS CARNEROS	12
3.4	VARIABLE DE RESPUESTA Y MEDIDAS DE CALIDAD SEMINAL	12
3.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	13
4	RESULTADOS.....	15
5	DISCUSIÓN.....	17
6	CONCLUSIÓN.....	19
7	LITERATURA CITADA	20

Indice de Cuadros

Cuadro 1. Medias \pm eem para los diferentes parámetros de comportamiento sexual y calidad seminal de carneros de la raza Dorper (n=18) tratados con GnRH (GnRH) o hCG (hCG) y carnero no tratados (Control) bajo condiciones de fotoperiodo natural durante la época de reposo sexual (noviembre y diciembre) en el norte de México (25° LN)..... 15

Cuadro 2. Valores medios (\pm eem) de la circunferencia escrotal e intensidad de olor de carneros de la raza Dorper (n=18) tratados con GnRH (GnRH) o hCG (hCG) y carneros no tratados (Control) bajo condiciones de fotoperiodo natural durante la época de reposo sexual (noviembre y diciembre) en el norte de México (25° LN). 16

Indice de Figuras

Figura 1. Esquema del mecanismo de liberación de hormonas a las gonadas, mediante el fotoperiodo.	5
Figura 2. Esquema de la liberación de las hormonas reproductivas a través del eje hipotálamo-hipofisis.	7
Figura 3. Diagrama de la espermatogénesis.	9

RESUMEN

Efecto de la GnRH o hCG sobre la calidad seminal de carneros dorper durante la época de inactividad sexual

Por:

Rafael Rodríguez Venegas

Para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Director de tesis: Juan Manuel Guillén Muñoz

Para evaluar la aplicación de GnRH y hCG sobre la respuesta reproductiva y la calidad seminal en carneros de raza Dorper fuera de la estación sexual en el norte de México (26° N), se utilizaron 18 carneros divididos en 3 grupos (n=6 c/u), homogéneos en peso y condición corporal: GnRH (100 µg de GnRH), hCG (300 UI de hCG) y, control (Con) (0.5 ml (0.9% NaCl)); los tratamientos se aplicaron vía im cada 3 días durante 3 semanas. Después del periodo experimental se recolectó semen (vagina artificial; temperatura de 38 °C), utilizando como estímulo a la monta una hembra en estro. Se evaluó la calidad seminal: latencia a la eyaculación (s), volumen del eyaculado (mL), concentración espermática, total de espermatozoides eyaculados (unidades), motilidad masal (%) y viabilidad espermática, además de la circunferencia escrotal y la intensidad del olor. Los datos se analizaron con el Modelo Lineal General (SAS Institute Inc, Cary, NC, EE. UU., V9.1). El modelo para analizar las variables de respuesta incluyó el efecto del tratamiento. La latencia al eyaculado fue 147 s menor ($P \leq 0.05$) en los carneros GnRH y hCG respecto a Con, y la intensidad de olor fue mayor ($P < 0.05$) en los grupos GnRH y hCG (2.3 ± 0.2) que en el grupo Con (1.4 ± 0.2). No hubo diferencias ($P > 0.05$) en las demás variables analizadas. Estos resultados permiten prever un uso potencial de estas hormonas para aumentar la respuesta reproductiva y la calidad seminal en carneros Dorper fuera de temporada reproductiva, en el norte de México.

Palabras clave: Hormonas, machos, calidad espermática, GnRH, hCG.

ABSTRACT

Effect of GnRH or hCG on the seminal quality of dorper butters during the sexual time of inactivity

By:

Rafael Rodríguez Venegas

To obtain the degree of Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Thesis director: Juan Manuel Guillén Muñoz

To evaluate the application of GnRH and hCG on reproductive response and seminal quality in Dorper rams outside the sexual season in northern Mexico (26° N), 18 rams divided into 3 groups were used (n = 6 c / u), homogeneous in weight and body condition: GnRH (100 µg GnRH), hCG (300 IU hCG) and, control (Con) (0.5 ml (0.9% NaCl); treatments were applied through im every 3 days for 3 weeks. After the experimental period, semen was collected (artificial vagina; temperature of 38 ° C), using a female in oestrus as a stimulus to mount. Seminal quality was evaluated: latency to ejaculation (s), volume of ejaculate (ml), sperm concentration, total ejaculated sperm (units), mass motility (%) and sperm viability, in addition to scrotal circumference and odor intensity. The data was analyzed with the General Linear Model (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, V9.1) The model to analyze the response variables This included the effect of the treatment. The latency to the ejaculate was 147 s lower ($P \leq 0.05$) in the GnRH and hCG rams compared to Con, and the intensity of odor was higher ($P < 0.05$) in the GnRH and hCG groups (2.3 ± 0.2) than in the group With (1.4 ± 0.2). There were no differences ($P > 0.05$) in the other variables analyzed. These results allow us to foresee a potential use of these hormones to increase the reproductive response and seminal quality in Dorper rams outside the reproductive season, in northern Mexico.

Keywords: *Hormones, males, sperm quality, GnRH, hCG*

1 INTRODUCCIÓN

El fotoperiodo es la señal ambiental más confiable que utilizan los animales con reproducción estacional para alinear su fisiología con su entorno (Roselli *et al.*, 2004). Las variaciones fotoperiódicas dependientes de la actividad sexual están acompañadas por cambios detectables en el comportamiento sexual, el tamaño testicular (Nowakowski & Cwikia, 1994) y la secreción de hormonas (Roselli *et al.*, 2004). Además, en los machos ovinos, el fotoperiodo es el principal factor medio ambiental responsable de generar actividad completa o inactividad de la función reproductiva. Las variaciones en la actividad sexual, dependientes del fotoperiodo, van acompañadas de modificaciones que claramente promueven cambios detectables en el (Bustos Obregón & -Díaz, 2012), el tamaño testicular (Nowakowski & Cwikia, 1994) y la secreción hormonal (Land, 1973; Roselli *et al.*, 2004).

El efecto del fotoperiodo sobre la secreción hormonal ocurre principalmente al alterar la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), la que, a su vez, promueve la liberación de las hormonas hipofisarias folículo estimulante (FSH) y luteínizante (LH), y más tarde, la secreción de testosterona por los testículos (Polat *et al.*, 2011). Los cambios estacionales en el tamaño y la función testicular se regulan a través de las acciones de LH y FSH; La LH estimula las células testiculares de Leydig para producir testosterona (Polat *et al.*, 2011), una hormona esencial para el desarrollo y mantenimiento del comportamiento sexual y la libido (Andersen *et al.*, 2011; Roselli *et al.*, 2004).

Diversas investigaciones en humanos y en ratas han demostrado una asociación entre la calidad seminal y el flujo sanguíneo testicular (Biagiotti *et al.*, 2002). Se han encontrado receptores de LH y un mecanismo de transporte transendotelial para la gonadotropina coriónica humana (hCG) (Ghinea *et al.*, 1994). Un aumento en la concentración plasmática de prueba de testosterona después de la administración de hCG también ocurre en los sementales (Roser, 1995; Zwain *et*

al., 1989). Los estrógenos, que tienen un marcado efecto vasodilatador (Rosenfeld *et al.*, 2002) y pueden convertirse de testosterona (Roser, 1995; Zwain *et al.*, 1989), también aumentan después del tratamiento con hCG. El siguiente estudio se realizó para evaluar si la aplicación de GnRH o hCG aumenta la conducta sexual consumatoria (CSC) y la conducta sexual apetitiva (CSA).

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Fisiología reproductiva en carneros

2.1.1 Estacionalidad Reproductiva

Los ovinos presentan inactividad sexual estacional por periodos que se diferencian entre duración e intensidad según la raza. La estacionalidad en la actividad reproductiva se caracteriza por la alternancia de un periodo de inactividad sexual en el macho y anestro estacional en la hembra, seguidos por un periodo de actividad sexual (Carrillo *et al.*, 2010; Delgadillo *et al.*, 2001).

Desde hace tiempo se conoce el carácter estacional de la actividad reproductiva en los ovinos de latitudes templadas. Asimismo, se conoce que la actividad sexual de los ovinos comienza a finales del verano o al inicio del otoño y finaliza durante el invierno o al iniciar la primavera. Sin embargo, existen variaciones entre las razas, por lo que éstas se han agrupado de la siguiente manera:

- Razas con época de apareamiento corta y anestro largo y profundo. Se consideran estacionales y son originarias de zonas localizadas encima de los 45° latitud norte (razas inglesas, escocesas y australianas).
- Razas con época de apareamiento larga y anestro corto y poco profundo. Son hembras no estacionales y provienen de latitudes menores a 45° latitud norte (razas mediterráneas y españolas). También se considera que, bajo las mismas condiciones ambientales, las razas más prolíficas tienen estaciones reproductivas más largas que los genotipos menos prolíficos.

En México (19° latitud norte), existen estudios que muestran que la actividad reproductiva anual de diversas razas (Corriedale, Suffolk, Romney Marsh y Dorset) decrece durante la primavera, en tanto que la oveja criolla y la Pelibuey pueden presentar ciclos estrales prácticamente durante todo el año (Galina & Valencia, 2012).

En los carneros, los ciclos testiculares varían entre razas, siendo las razas mediterráneas o tropicales las que muestran los menores cambios a lo largo del año, y las razas originarias de latitudes más alejadas del ecuador las que presentan los mayores cambios. El fotoperiodo también es un predictor de la disponibilidad futura de alimentos, la cual suele ser máxima en primavera, por lo que la estrategia desarrollada por los ovinos implica tener una estación de cría en otoño para que los partos que se presenten en la primavera, cuando las posibilidades de supervivencia de los corderos sean mayores. Sin embargo, no en todas las regiones del planeta la disponibilidad de pasturas es máxima durante el periodo. Por ejemplo, en climas mediterráneos, la mayor disponibilidad de pastura se produce en invierno y primavera, por la época de lluvia (Galina & Valencia, 2012).

2.1.2 Fotoperiodo

Existen diversas “señales externas” que permiten a los animales anticiparse y adaptarse a las diferentes estaciones del año; debido a estas señales, los animales son capaces de desarrollar pelaje adecuado a cada estación, acumular reservas de grasas previo al invierno y, ciertas especies, con base en la estacionalidad reproductiva, determinan el tiempo apropiado para su reproducción. Se conoce que el fotoperiodo es la principal variable ambiental utilizada como señal, porque, a diferencia de otras variables, el ciclo luminoso anual es una variable "constante" de un año a otro, siendo el indicador más confiable de la época del año (Phillips, 1992). En los machos de estas especies, la actividad reproductiva desciende durante el periodo de anestro, lo cual se asocia con una disminución de la espermatogénesis y del diámetro testicular, así como con una reducción en las concentraciones de testosterona (García *et al.*, 2001).

Los ovinos captan los cambios en el fotoperiodo a través de la retina, donde la señal fotónica se transforma en señal nerviosa, y luego de distintas sinapsis, que incluyen el ganglio cervical superior, llega a la glándula pineal, donde la señal nerviosa se transforma en una señal hormonal: la hormona

melatonina, que es secretada durante las horas de oscuridad por la glándula pineal, y controla la sensibilidad del eje hipotálamo-hipofisario a los estrógenos. Debido a esto, el sistema de lectura de las horas luz se expresa como cambios en la secreción de esta hormona, encontrándose los niveles más altos durante el periodo de oscuridad y los más bajos en las horas luz. La liberación de GnRH es controlada por el sistema nervioso e inhibida por una retroalimentación negativa de los esteroides, y la melatonina, en el caso de la oveja, estaría disminuyendo los efectos de la retroalimentación negativa de los esteroides, y por lo tanto, favoreciendo la liberación de GnRH. Es por eso que cuando comienzan a acortarse los días, y por ende, a aumentarse la secreción de melatonina, el sistema se vuelve menos sensible a la inhibición de los esteroides, lo que aumenta la descarga de pulsos de GnRH, y por consecuencia también los de LH, estimulándose así el reinicio de la actividad reproductiva (Figura 1).

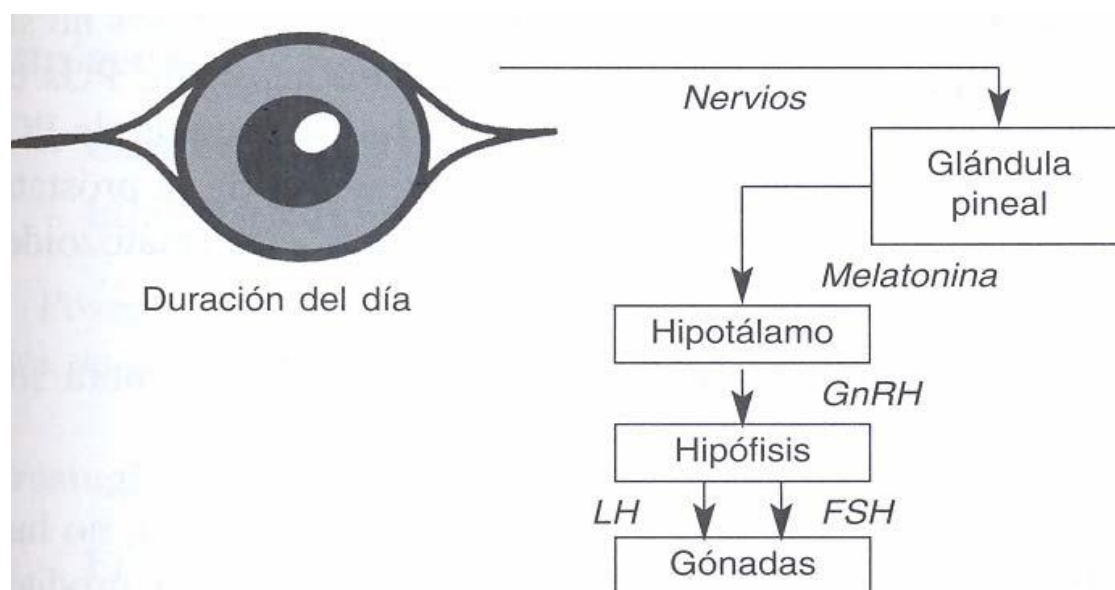


Figura 1. Esquema del mecanismo de liberación de hormonas a las gónadas, mediante el fotoperiodo (Rubianes & Ungerfeld, 2002).

En el macho, el fotoperiodo regula la pulsatibilidad de la GnRH y la LH, la secreción de la FSH, la respuesta de la adenohipófisis a la GnRH y la respuesta testicular de las células de Leydig a la LH. Por lo tanto, es responsable del volumen testicular y la secreción de la testosterona. A nivel testicular se producen

cambios que explican las variaciones en el volumen de los testículos, el tamaño de los túbulos seminíferos y cambios sobre las células de Sertoli (Bustos Obregón & Díaz, 2012).

2.1.3 Eje hipotálamo-hipófisis-testículo

La hipófisis o glándula pituitaria y el hipotálamo son estructuras anatómicamente relacionadas. Esta estrecha vinculación favorece su dependencia funcional. Por este motivo, se les nombra unidad hipotálamo-hipofisaria. El hipotálamo ocupa la región ventromedial del diencefalo y se comunica con la hipófisis a través del infundíbulo. La hipófisis se ubica en la llamada silla turca, una cavidad craneal en el hueso del esfenoides, y se encuentra fijada a la parte inferior del cerebro por medio del tallo pituitario (Frungeri, 1997).

Las hormonas LH y FSH son secretadas y sintetizadas debido a una estimulación hipotalámica generada por la hormona GnRH, la cual es un decapeptido producido en las neuronas peptidérgicas del área preóptica del hipotálamo. Al llegar a la hipófisis, esta hormona interactúa con los receptores de membrana que se encuentran en los gonadotropos. Así, las gonadotropinas actúan sobre los testículos provocando y estimulando la actividad reproductiva. La FSH tiene su acción sobre las células de Sertoli para regular la espermatogénesis, mientras la LH actúa sobre las células de Leydig para inducir la síntesis de andrógenos (Frungeri, 1997). La PRL, secretada por las células lactotróficas de la adenohipófisis, interacciona con sitios de unión específicos en las células de Leydig, regulando el número de receptores gonadales de LH y el almacenamiento de los ésteres de colesterol, precursores de la síntesis de testosterona (T) (Tougar & Tixier-Vidal, 1994).

La LH produce que los testículos secreten T, y esta produce un efecto recíproco al inhibir la secreción de LH. Esto puede ocasionar un efecto directo de la T en el hipotálamo sobre la inhibición de GnRH. Así mismo, el efecto ocasionado por la T reduce la liberación de las hormonas LH y FSH mediante la adenohipófisis, y por consecuencia, la LH disminuye gradualmente, provocando una menor

liberación de T por las gónadas. Por lo tanto, cuando la secreción es excesiva, el efecto retroalimentación-negativa, ocasiona una disminución de su producción hasta valores basales (Guyton & Hall, 2016).

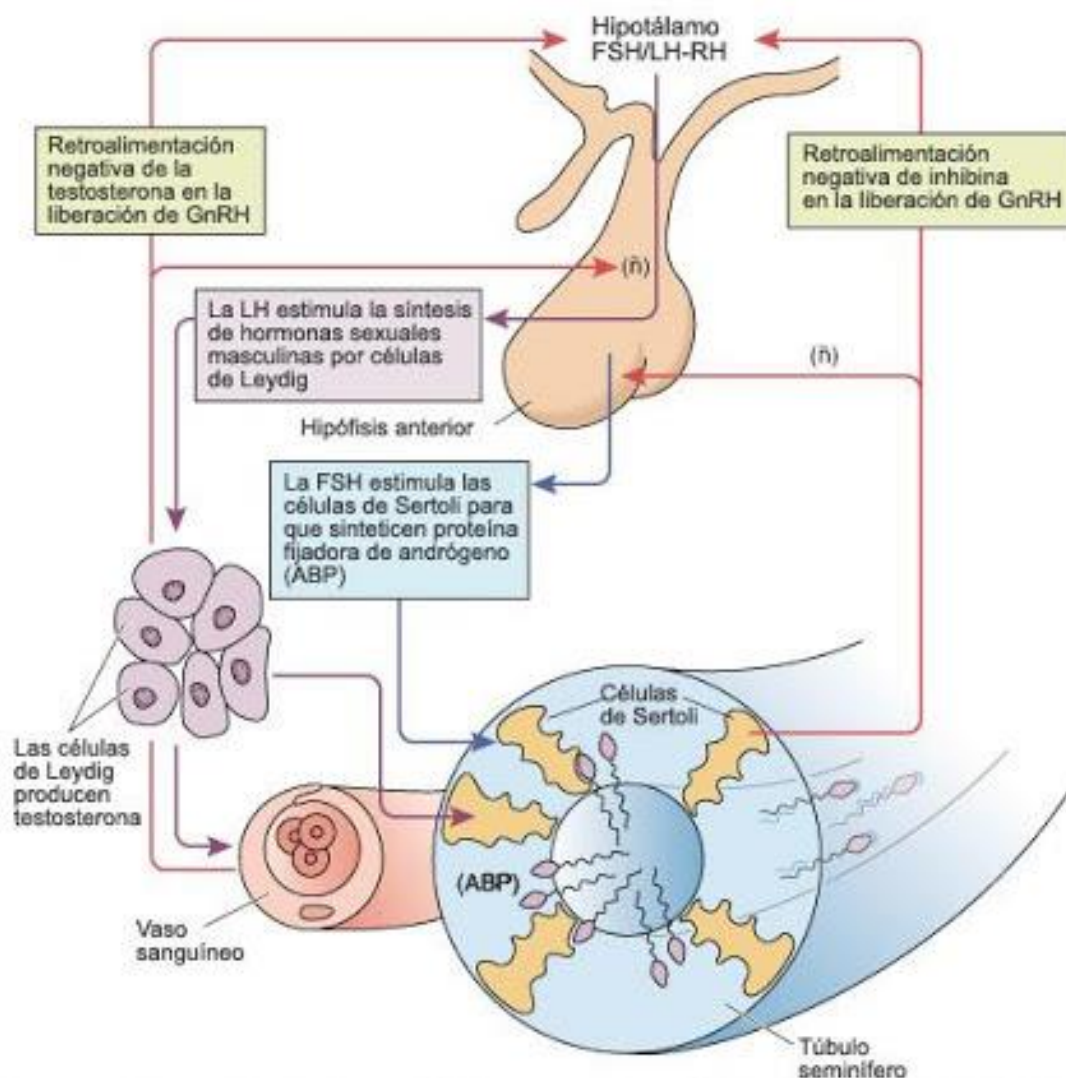


Figura 2. Esquema de la liberación de las hormonas reproductivas a través del eje hipotálamo-hipofisis.

(Kasper *et al.*, 2019).

2.1.4 Espermatogenesis

La espermatogénesis es un proceso complejo donde ocurre la división y transformación de las células, así mismo como la diferenciación del epitelio germinal del testículo, denominados espermatogonias, donde el resultado final

de este proceso de las células se les denomina espermatozoides (Daudone & Demoulin, 1993; de Rooij, 2001; Russell, 1990).

La espermatogénesis es un proceso continuo donde se involucra una dinámica celular compleja y que se divide en tres fases en los animales adultos: espermatocitogénesis, meiosis y espermiogénesis.

Al principio de la embriogénesis, antes de comenzar el proceso de la espermatogénesis, el testículo carece de células germinales. En el periodo fetal, las gónadas comienzan a diferenciarse donde se asientan las células germinales, antes, durante el periodo embrionario, no se pueden diferenciar (Jost *et al.*, 1981).

Antes de la pubertad, la diferenciación celular se manifiesta primero por la presencia de espermatoцитos primarios, los cuales se degeneran, por falta de estímulo hormonal, en la fase de paquitenio. Al acercarse la pubertad, las espermatogoneas empiezan a dividirse aceleradamente por mitosis, mientras que en el espacio intersticial, las células mesenquimatosas también empiezan a diferenciarse y dan origen a las células de Leydig (Galina & Valencia, 2012).

Los receptores para la FSH y la testosterona T se encuentran en las células de Sertoli, dado que estas hormonas son las principales reguladoras de la espermatogénesis (Sofikitis *et al.*, 2008).

La duración de la espermatogénesis solo puede ser aproximada para cada una de las especies debido a la dificultad de determinar el punto en cual la espermatogonia A comprometida, entra al proceso (Amann, 1983; Jhonson, 1991). Para el caso del ovino, Simonetti *et al.*, (2014), mencionan que la espermatogénesis demanda 63 días, debido a que la formación del espermatozoide es de 49 días y se requieren otros 14 días para su maduración en el epidídimo.

En los animales, las hembras tienen dos cromosomas sexuales X, mientras que los machos tienen un cromosoma X y otro, más pequeño (Y). Los gametos (óvulo y espermatozoide) normales son células haploides que contienen un cromosoma

X, en el caso de las hembras, y uno X o uno Y en el caso de los machos (Figura 3). Las células somáticas (diploides) de las hembras (sexo homogamético) contienen un par de cromosomas X, en tanto que las de los machos (sexo heterogamético), tienen cromosomas sexuales XY (Hafez, 1996).

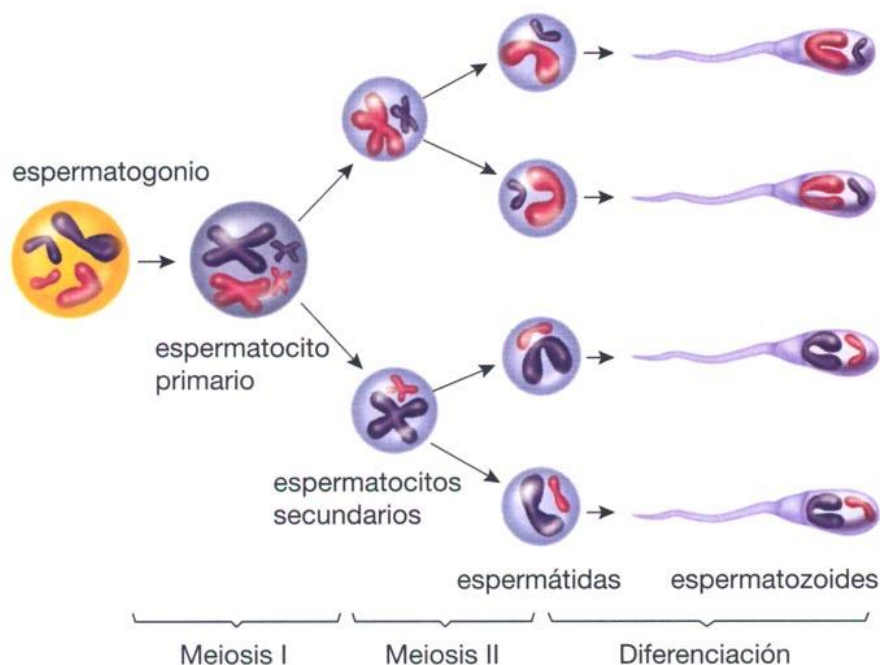


Figura 3. Diagrama de la espermatogénesis (Audesirk *et al.*, 2010).

2.1.5 Hormona Liberadora de gonadotropinas (GnRH)

El hipotálamo, mediante neuronas especializadas, procesa la GnRH mediante un proceso enzimático, y es empaquetada y almacenada en gránulos gracias a un polipéptido. Los axones transportan esta hormona hacia la zona externa de la eminencia media (Fingk, 1988; Seeburg *et al.*, 1987). La GnRH es liberada de forma pulsátil sincronizada desde el nervio y estos pulsos liberan pulsos sincronizados y a su vez es liberada la GnRH, estos estimulan la biosíntesis de LH y FSH (Fingk, 1988), mismas que se liberan por cambios en la frecuencia de los pulsos de la GnRH, por efectos moduladores del esteroide gonadal y por las hormonas peptídicas como respuesta de la FSH y la LH a la GnRH. Debido a que la FSH depende más de la biosíntesis para su secreción, es liberada más frecuentemente, a comparación de la LH que es almacenada dependiendo de los pulsos de la GnRH (Millar, 2005).

Los cambios dinámicos en la secreción de GnRH desde el hipotálamo y las interacciones paracrinas tienen un rol importante en la regulación de la fertilidad en el ciclo reproductivo dentro de la adenohipófisis (Tortonese, 2016). Esta glándula secreta seis hormonas peptídicas que controlan la función endocrina de la corteza adrenal, las gónadas, la PRL y la hormona del crecimiento.

2.1.6 Gonadotropina coriónica humana (hCG)

La hCG se sintetiza por el tejido trofoblástico durante el embarazo de la mujer, además, existen problemas patológicos como el coriocarcinoma y la mola hidatiforme igualmente promueven su síntesis. Durante los primeros días del embarazo la placenta no está desarrollada de manera adecuada, por lo tanto, la hCG se encarga de mantener la esteroidegénesis del cuerpo lúteo hasta que la placenta se desarrolle y realice esta función por sí misma. Existen algunos tumores como el carcinoma ovárico o testicular que también estimulan la producción de esta hormona (Mann, 1990), así mismo, la hipófisis la produce, sin embargo, solo en muy bajas concentraciones (Birken *et al.*, 1995).

LA hCG fue la primera hormona utilizada para en terapias hormonales, las cuales fueron introducidas por primera vez en 1930 ((Hjertkvist *et al.*, 1993; Thorsson *et al.*, 2007). Estas terapias se utilizan para la inducción del descenso de los testículos o para la localización de los testículos impalpables. La hCG se usa para estimular la producción de testosterona por las células de Leydig, mientras que la GnRH estimula la secreción de LH por la glándula pituitaria. La LH a su vez, estimula la producción de T en las células de Leydig y de esta forma comienza el descenso de los testículos (Karaman *et al.*, 2006; Mathers *et al.*, 2009). La terapia hormonal también se usa para estimular la proliferación y maduración de las células germinales, contribuyendo a mejorar la fertilidad (Mathers *et al.*, 2009).

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 General

Todos los métodos y manejo de las unidades experimentales utilizadas en este estudio fueron en estricto acuerdo con los lineamientos para el uso ético, cuidado y bienestar de animales en investigación a nivel internacional (FASS, 2010) y nivel nacional (NAM, 2002), con número de referencia de aprobación institucional UAAAN-UL/14-50-400-2.

3.2 Localización, condiciones ambientales y animales

El experimento se realizó de noviembre a diciembre, en una explotación de ovinos con manejo intensivo en un área semidesértica del norte de México (Comarca Lagunera, 26° N, 104° O, y una altitud 1120 msnm), bajo condiciones de luz natural. En el área de estudio, la precipitación media anual y temperatura es de 230 mm y 24 °C respectivamente, con temperaturas máximas de 41°C en mayo y junio y mínimas de -1 °C en diciembre y enero. La duración de horas luz de 13 h, 41 min durante el solsticio de verano (junio) a 10 h, 19 min en el solsticio de invierno (diciembre).

Se utilizaron carneros adultos de la raza Dorper (n = 18; de 2 a 2.5 años), homogéneos en cuanto a peso vivo y condición corporal. Durante el periodo experimental (principios de noviembre a finales de diciembre), los carneros se mantuvieron en una unidad de producción especial vinculada a un sistema de producción intensivo de vacas lecheras Holstein; se alimentaron dos veces al día (1200 h y 1800 h), con una dieta basada en 60% de ensilaje de sorgo, 40% de concentrado (14% PC), y una mezcla de microminerales. Los carneros tuvieron acceso *ad libitum* al alimento, agua limpia, sales minerales y sombras. El estado de salud de los carneros fue supervisado durante todo el período experimental por un veterinario experimentado. Además, se hicieron esfuerzos para minimizar cualquier posible molestia en los sujetos experimentales.

3.3 Manejo y tratamiento de los carneros

Los animales fueron identificados individualmente y se registró el peso vivo (PV), condición corporal (CC) al inicio y al final del periodo experimental, mientras que la circunferencia escrotal (CE) y la intensidad del olor (IO) se determinó final del periodo experimental. La CC fue medida en una escala del 1 al 5 (donde 1 es muy delgado y 5 es muy gordo; Russel, 1984); para la CE se midió la parte media de los testículos con una cinta métrica (Braun *et al.*, 1980); la intensidad del olor (IO) fue tomada oliendo en la parte medial de la cabeza del semental (Brown *et al.*, 1994), usando una escala del 0 al 3, donde 1 es muy bajo y 3 es muy fuerte.

En noviembre, los carneros se separaron en tres grupos experimentales ($n = 6$ cada uno), homogéneos en términos de PV (PV; 77.9 ± 2.7 kg), CC (CC; 3.3 ± 0.3 unidades), y fueron asignados de manera aleatoria a uno de los siguientes tratamientos: Grupo GnRH (GnRH), al cual se le administraron 4 μ g de la hormona liberadora de gonadotropinas (Acetato de Gonadorelina; Sanfer®, México); Grupo hCG (hCG), el cual recibió 300 UI de hormona gonadotropina Coriónica Humana (Chorulon; Sanfer®, México); y Grupo Control (GC), al cual se le administro 0.5 mL de solución salina fisiológica. Todos los tratamientos se administraron vía intramuscular y se aplicaron cada 3 d por 21 d.

3.4 Variable de respuesta y medidas de calidad seminal

Al final del periodo experimental, se recolectó el semen, para lo cual, se usó como estímulo a la monta de los carneros, una hembra de estro (celo natural), recolectando el semen con una vagina artificial estándar para ovinos, a una temperatura de 38 °C. Previamente, la vagina artificial fue precalentada de 45°C. El semen se colectó en tubos graduados, los cuales se sumergieron inmediatamente en un baño maría a 38 °C y se transportaron al laboratorio para su posterior análisis durante los siguientes 10 minutos. Las medidas de calidad del semen consideradas fueron:

- i) Latencia a la eyaculación (segundos), considerada como el período de tiempo desde el momento en que el carnero fue expuesto a una hembra en estro

hasta el momento en que el carnero eyaculó dentro de la vagina artificial. Cada macho fue expuesto a la hembra por 301 ± 20.0 s, pasado este tiempo, fue considerado como rechazo al eyaculado.

ii) El volumen eyaculado (mL) se cuantificó directamente en el tubo cónico recolector, graduado con intervalos ópticamente visibles de 0.1 mL.

iii) La concentración espermática se determinó mediante análisis fotométrico (Spermacue®, 12300/0500 Minitub, Landshut, Alemania; Olivera-Muzante *et al.*, 2011), utilizando semen no diluido, y se expresó como $\times 10^6$ células por mL.

iv) El número total de espermatozoides eyaculados (unidades) se calculó considerando la concentración de espermatozoides por ml y se multiplicó por el volumen total eyaculado, y se expresó como $\times 10^6$ células.

v) La motilidad masal (%) se evaluó con el uso de una escala arbitraria de 1 a 5; donde 1 = 25% y 5 = 100% espermatozoides móviles; (Mahsud *et al.*, 2013). La motilidad de los espermatozoides se determinó con el uso de una plataforma precalentada (37 °C), usando un microscopio de contraste de fase de 400X.

vi) Viabilidad espermática (porcentaje de espermatozoides vivos). Se evaluó mediante el uso de la técnica de tinción con eosina-nigrosina (Kafi *et al.*, 2004). Se registraron al menos 200 espermatozoides por portaobjetos mediante microscopía óptica (1000X), y se cuantificó el porcentaje de vivas (sin teñir) y de células muertas (de color rosa). Todas las evaluaciones fueron realizadas por el mismo operador calificado.

3.5 Análisis estadísticos

Los valores de las medias se analizaron mediante el procedimiento ANOVA del Modelo Lineal General (GLM) de SAS (SAS Institute Inc, Cary, NC, EE. UU., V9.1). El modelo estadístico para analizar las variables de respuesta incluye el efecto del tratamiento; los resultados se presentan como medias no

transformadas \pm SEM y se consideraron estadísticamente significativas a $P < 0.05$.

4 RESULTADOS

La latencia al eyaculado y las características seminales de los corderos tratados con GnRH o hCG se muestra en el cuadro 1. La latencia al eyaculado promedio fue 147s mayor ($P \leq 0.05$) en los carneros del grupo control en comparación del grupo GnRH o hCG. La latencia al eyaculado en promedio fue (111s) menor en los machos tratados con GnRH o hCG.

Cuadro 1. Medias \pm eem para los diferentes parámetros de comportamiento sexual y calidad seminal de carneros de la raza Dorper ($n=18$) tratados con GnRH (GnRH) o hCG (hCG) y carnero no tratados (Control) bajo condiciones de fotoperiodo natural durante la época de reposo sexual (noviembre y diciembre) en el norte de México (25° LN).

Parámetro	GnRH	hCG	Control
Número de animales	6	6	6
Latencia a la eyaculación (s)	131.0 \pm 44.5 ^b	92.2 \pm 41.8 ^b	259.3 \pm 53.7 ^a
Volumen eyaculado (ml)	2.2 \pm 0.3 ^a	1.6 \pm 0.2 ^a	1.3 \pm 0.3 ^a
Concentración espermática por ml (10×10^6 células)	3648.5 \pm 425.0 ^a	4095.2 \pm 283.1 ^a	3698.0 \pm 232.3 ^a
Total de células espermáticas por eyaculado (10^6)	7447.6 \pm 597.8 ^a	6785.6 \pm 1242.0 ^a	5093.3 \pm 2055.1 ^a
Motilidad masal (1-5 units)	4.0 \pm 0.5 ^a	4.6 \pm 0.2 ^a	4.3 \pm 0.5 ^a
Espermatozoides vivos (%)	75.0 \pm 3.3 ^a	78.8 \pm 3.0 ^a	80.0 \pm 2.0 ^a

^{a,b} Valores en la misma línea, con diferente superscripto, son diferentes ($P < 0.05$).

No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) para volumen seminal, siendo en promedio (1.9 \pm 0.3 vs 1.3 \pm 0.3) para los machos de los grupos tratados y grupo control respectivamente. La motilidad en masa promedio no mostro diferencia significativa para ambos grupos siendo de 4.1 \pm 0.3 vs 4.3 \pm 0.3 para los machos de los grupos tratados y del grupo control respectivamente. La concentración

espermática no mostro diferencias ($P>0.05$) para ambos grupos siendo de 3871.8 ± 331.0 vs 3698.0 ± 232.3 para los machos de los grupos tratados y del grupo control respectivamente.

La circunferencia escrotal e intensidad de olor se muestran en el cuadro 2. No se encontró diferencias para la CE ($P>0.05$) siendo en promedio general (33.9 ± 0.8) para ambos grupos

Cuadro 2. Valores medios (\pm eem) de la circunferencia escrotal e intensidad de olor de carneros de la raza Dorper ($n=18$) tratados con GnRH (GnRH) o hCG (hCG) y carneros no tratados (Control) bajo condiciones de fotoperiodo natural durante la época de reposo sexual (noviembre y diciembre) en el norte de México (25° LN).

Parámetros	GnRH	hCG	Control
Número de animales	6	6	6
Circunferencia escrotal (cm)	34.0 ± 0.8^a	33.8 ± 1.0^a	34.0 ± 0.5^a
Intensidad de olor (0-3)	2.2 ± 0.2^a	2.4 ± 0.2^a	1.4 ± 0.2^b

^{a,b} Valores en la misma línea, con diferente superscripto, son diferentes ($P<0.05$).

La intensidad de olor en promedio fue mayor (2.3 ± 0.2) en los machos de los grupos tratados en comparación con el olor (1.4 ± 0.2) de los machos del grupo control ($P>0.05$).

5 DISCUSIÓN

Este estudio se realizó con el propósito evaluar el papel de la GnRH y de la hCG en la circunferencia escrotal, el tiempo de latencia a la eyaculación y la calidad seminal de carneros Dorper fuera de la estación sexual de los borregos Dorper. Los resultados de este estudio nos demuestran un aumento de la respuesta a la latencia en la eyaculación, considerando que los animales tratados con ambas hormonas tuvieron un menor tiempo de respuesta a la eyaculación, que aquellos a los que se les administró solución salina fisiológica Waheeb *et al.* (2018) menciona unos resultados similares en la implementación de GnRH donde obtuvieron una reducción de tiempo para la latencia del eyaculado así mismo como la reacción en la búsqueda del toro hacía la hembra, ellos en su artículo mencionan que la disminución del tiempo para la búsqueda y la eyaculación se debe a un aumento en el plasma de la sangre de testosterona debido a la implementación de la GnRH.

También se observó una mayor intensidad del olor de los animales tratados con GnRH y hCG respecto a los no tratados, en correspondencia a lo que señalan Calderón-Leyva *et al.* (2018) quienes mencionan un incremento del olor en los machos tratados con glutamato+testosterona, aspecto relevante, ya que, de acuerdo con estos autores, la percepción de la oveja del efecto macho se ejerce principalmente a través de las claves olfativas. En estudio previos Okamura *et al.* (2010), Fabre-Nys *et al.* (2015) se reporta que el olor de los machos juega un papel muy importante sobre las hembras en anestro, dado que estimula la hormona GnRH, favoreciendo una rápida secreción de LH para la respuesta ovulatoria, lo que podría sugerir que la aplicación de la GnRH o la hCG incrementa el olor del macho y a su vez, provocando la respuesta ovulatoria a la hembra.

En el volumen de eyaculado, concentración espermática, total de espermatozoides eyaculados, motilidad masal, viabilidad espermática y circunferencia escrotal no encontramos diferencias significativas de los grupos GnRH y hCG contra el grupo Con, resultados coincidentes con los reportados por

Al-Ameri *et al.* (2019) en cabras, quienes obtuvieron resultados muy similares a los de este estudio. Una posible explicación a la falta de respuesta sobre estas variables se basa en lo que mencionan Simonetti *et al.* (2014), respecto a que la espermatogénesis en el carnero demanda unos 63 días, de los cuales, 49 días se requieren para formar los espermatozoides y otros 14 para la maduración de los mismos, a nivel del epidídimo. El presente estudio sólo se prolongó durante 21 días, por lo que podría ser que si se prolongaran los días de recuperación de datos sobre estas variables se podrían obtener resultados más prometedores respecto al efecto de estas hormonas sobre la calidad seminal.

6 CONCLUSIÓN

Los resultados de este estudio sugieren un potencial uso de la GnRH y la hCG para aumentar la respuesta reproductiva en carneros Dorper fuera de estación, y la de realizar estudios complementarios de una mayor duración, que permitan evaluar a través de el período de espermatogénesis si esta se presenta con mayor calidad espermática con el uso de estas hormonas.

7 LITERATURA CITADA

- Amann, R. P. (1983). Endocrine Changes Associated with Onset of Spermatogenesis in Holstein Bulls. *Journal of Dairy Science*, 66(12), 2606–2622. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(83\)82135-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)82135-3)
- Andersen, M. L., Alvarenga, T. F., Mazaro-Costa, R., Hachul, H. C., & Tufik, S. (2011). The association of testosterone, sleep, and sexual function in men and women. In *Brain Research* (Vol. 1416, pp. 80–104). <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.07.060>
- Audesirk, T., Audesirk, G., & Byers, B. E. (2010). *Biología la vida en la tierra* (Novena). Pearson Educación de México .
- Biagiotti, G., Cavallini, G., Modenini, F., Vitali, G., & Gianaroli, L. (2002). Spermatogenesis and spectral echo-colour Doppler traces from the main testicular artery. *BJU International*, 90, 903–908. <https://doi.org/10.1046/j.1464-4096.2002.03033.x>
- Birken, S., Maydelman, Y., & Gawinowicz, M. (1995). Endocrine Profiles in Fertile, Subfertile, and Infertile Stallions: Testicular Response to Human Chorionic Gonadotropin in Infertile Stallions 1. In *Biol Reprod Mono* (Vol. 1). https://academic.oup.com/biolreprod/article-abstract/52/monograph_series1/661/5050288
- Bustos Obregón, E., & -Díaz, T. (2012). Reproducción estacional en el macho. In *Int. J. Morphol* (Vol. 30, Issue 4).
- Calderón-Leyva, G., Meza-Herrera, C. A., Rodríguez-Martínez, R., Ángel-García, O., Rivas-Muñoz, R., Delgado-Bermejo, J. V., & Véliz-Deras, F. G. (2018). Influence of sexual behavior of Dorper rams treated with glutamate and/or testosterone on reproductive performance of anovulatory ewes. *Theriogenology*, 106, 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.10.016>

- Carrillo, E., Meza-Herrera, A., & Gerardo Véliz, F. (2010). Estacionalidad reproductiva de los machos cabríos de la raza Alpino-Francés adaptados al subtrópico Mexicano Reproductive seasonality of young French-Alpine goat bucks adapted to subtropical conditions in Mexico. *Rev Mex Cienc Pecu*, 1(2), 169–178.
- Daudone, J. P., & Demoulin, A. (1993). *Reproduction in mammals and man*. (C. Thubault, M.-C. Levasseur, & R. Hunter (Eds.)). Mol. Reprod. Dev.
- de Rooij, D. G. (2001). *Spermatogonial multiplication and stem cell renewal*.
- Delgadillo, J. A., Carrillo, E., Morá, J., Duarte, G., Chemineau, P., & Malpoux, B. (2001). Induction of sexual activity of male creole goats in subtropical northern Mexico using long days and melatonin 1. *J. Anim. Sci*, 79, 2245–2252. <https://academic.oup.com/jas/article-abstract/79/9/2245/4645228>
- Fabre-Nys, C., Kendrick, K. M., & Scaramuzzi, R. J. (2015). The “ram effect”: New insights into neural modulation of the gonadotropic axis by male odors and socio-sexual interactions. In *Frontiers in Neuroscience* (Vol. 9, Issue APR). Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00111>
- Fingk, G. (1988). *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2011-1-07288-0>
- Frungieri. (1997). *Control de la función reproductiva en el hamster macho (tesis doctoral)*. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
- Galina, C., & Valencia, J. (2012). *Reproducción de animales doméstico* (3a ed.). Limusa.
- Ghinea, N., Thu Vu Hai, M., Groyer-Picard, S., & Milgrom, E. (1994). How Protein Hormones Reach Their Target Cells. Receptor-mediated Transcytosis of hCG through Endothelial Cells. *The Journal of Cell Biology*, 125(1), 87–97.

- Guyton & Hall. (2016). Funciones reproductoras y hormonales masculinas. In *Tratado de fisiología médica* (pp. 1021–1030).
- Hafez, E. S. E. (1996). *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales* (6ta ed.). Editorial Interamericana-McGraw-Hill.
- Hjertkvist, M., Läckgren, G., Plöen, L., & Bergh, A. (1993). Does HCG Treatment Induce Inflammation-Like Changes in Undescended Testes in Boys? *Journal of Pediatric Surgery*, 28(2), 254–258.
- Jhonson, L. (1991). *Reproduction in Domestic Animals*. (4a ed.). Academic Press.
- Jost, A., Magre, S., & Agelopoulou, R. (1981). Early Stages of Testicular Differentiation in the Rat. *Hum Genet*, 58, 59–63.
- Kafi, M., Safdarian, M., & Hashemi, M. (2004). Seasonal variation in semen characteristics, scrotal circumference and libido of Persian Karakul rams. *Small Ruminant Research*, 53(1–2), 133–139. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.07.007>
- Karaman, I. M., Kaya, C., Ozturk, M., Pirincci, N., Yimazgumrukcu, G., & Tuken, M. (2006). The effects of human chorionic gonadotrophin on normal testicular tissue of rats: Dose-dependence and reversibility. *BJU International*, 97(5), 1116–1118. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2006.06139.x>
- Kasper, D., Fauci, A., Hauser, S., Longo, D., Jameson, J. L., & Loscalzo, J. (2019). *Principios de Medicina Interna* (19th ed.). McGraw-Hill.
- Land, R. B. (1973). The expression of female sex-limited characters in the male. *Nature*, 241, 208–209.
- Mahsud, T., Jamil, H., Qureshi, Z. I., Asi, M. N., Lodhi, L. A., Waqas, M. S., & Ahmad, A. (2013). Semen quality parameters and selected bio-chemical constituents level in plasma of Lohi rams. *Small Ruminant Research*,

113(1), 175–178. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2013.04.004>

Mann, K. (1990). Tumor markers in testicular carcinomas. *Urologe A*, 29, 77.

Mathers, M. J., Sperling, H., Rübber, H., & Roth, S. (2009). Hodenhochstand: Diagnostik, therapie und langfristige konsequenzen. In *Deutsches Arzteblatt* (Vol. 106, Issue 33, pp. 527–532). <https://doi.org/10.3238/arztebl.2009.0527>

Millar, R. P. (2005). GnRHs and GnRH receptors. *Animal Reproduction Science*, 88(1-2 SPEC. ISS.), 5–28. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.05.032>

Nowakowski, P., & Cwikia, A. (1994). *Seasonal Variation in Testes Size in Polish Merino Rams and its Relationship to Reproductive Performance in Spring*. 613–622.

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. In *Journal of Neuroendocrinology* (Vol. 22, Issue 7, pp. 825–832). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2010.02037.x>

Phillips, C. (1992). *Farm Animals and the Environment*. (C. Phillips & D. Piggins (Eds.); ilustrada). C.A.B International .

Polat, H., Dellal, G., Baritci, I., & Pehlivan, E. (2011). Annual Change of the Testosterone Hormone in Male White Goats. *Agricultural Sciences in China*, 10(2), 312–316. [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(11\)60009-6](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(11)60009-6)

Roselli, C. E., Larkin, K., Schrunk, J. M., & Stormshak, F. (2004). Sexual partner preference, hypothalamic morphology and aromatase in rams. *Physiology and Behavior*, 83(2), 233–245. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.08.017>

- Rosenfeld, C. R., Roy, T., & Cox, B. E. (2002). *Mechanisms modulating estrogen-induced uterine vasodilation*. 38, 115–125. www.elsevier.com/locate/vph
- Roser, J. F. (1995). Endocrine Profiles in Fertile, Subfertile, and Infertile Stallions: Testicular Response to Human Chorionic Gonadotropin in Infertile Stallions 1. *Biol Reprod Mono*, 1, 661–669. https://academic.oup.com/biolreprod/article-abstract/52/monograph_series1/661/5050288
- Rubianes, E., & Ungerfeld, R. (2002). Socio-sexual stimuli and reproductive function View project Grass and forage feeding management View project. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.*, 10(2), 117–125. <https://www.researchgate.net/publication/228805335>
- Russell, L. D. (1990). *Histological and histopathological evaluation of the testis*. Cache River Press.
- Seeburg, P. H., Mason, A. J., Stewart, T. A., & Nikolics, K. (1987). The mammalian GnRH gene and its pivotal role in reproduction. In *Recent progress in hormone research* (Vol. 43, pp. 69–98). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-571143-2.50008-3>
- Simonetti, L., Lynch, Z. G., & Zoot Mercedes McCormick. (2014). Aspectos reproductivos de los carneros. *Agrarias. UNLZ*, 1(1), 15–20.
- Sofikitis, N., Giotitsas, N., Tsounapi, P., Baltogiannis, D., Giannakis, D., & Pardalidis, N. (2008). Hormonal regulation of spermatogenesis and spermiogenesis. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 109(3–5), 323–330. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2008.03.004>
- Thorsson, A. V., Christiansen, P., & Ritzén, M. (2007). Efficacy and safety of hormonal treatment of cryptorchidism: Current state of the art. In *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics* (Vol. 96, Issue 5, pp. 628–630). <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2007.00238.x>

- Tortonese, D. J. (2016). Intrapituitary mechanisms underlying the control of fertility: key players in seasonal breeding. In *Domestic Animal Endocrinology* (Vol. 56, pp. S191–S203). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2016.01.002>
- Tougar, C., & Tixier-Vidal, A. (1994). Lactotropes and gonadotropes. In *The Physiology*.
- Waheeb, R. S., Ashry, M., Ali, A. B. A., & A. Amrawi, G. (2018). Effects of Oral Administration of Gonadotrophin Stimulant (Theriogon®) on Sexual Behavior and Semen Characteristics in Bulls. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 13(3), 218–225. <https://doi.org/10.3923/ajava.2018.218.225>
- Zwain, I., Gaillard, J.-L., Dintinger, T., & Silberzahn', P. (1989). Down-Regulation of Testicular Aromatization in the Horse. *Biology of Reproduction*, 40, 503–510. <https://academic.oup.com/biolreprod/article-abstract/40/3/503/2763806>