

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

USO DE LA BIOESTIMULACIÓN FUERA DE LA ESTACIÓN REPRODUCTIVA EN
CHIVOS DE GABÓN

“por”

Rossana Susana MARTÍNEZ SASTRE

TESIS DE GRADO presentada como uno
de los requisitos para obtener el título
de Doctor en Ciencias Veterinarias
ORIENTACIÓN: Higiene-Inspección,
Control y Tecnología de los Alimentos
MODALIDAD: Ensayo Experimental

MONTEVIDEO
URUGUAY
2017

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

Dr. Felipe Zandonadi

Segundo Miembro:

Dra. Lorena Lacuesta

Tercer Miembro:

Dr. Danilo Fila

Cuarto Miembro:

Dr. Rodolfo Ungerfeld

Quinto Miembro

Lic. Julia Giriboni

Fecha:

Autor:

Br. Rossana Martínez

AGRADECIMIENTOS

A mi tutora la Dra. Lorena Lacuesta por su orientación en esta tesis, por las correcciones y la enseñanza.

A mis co-tutores la Lic. Julia Giriboni y Rodolfo Ungerfeld por las correcciones y el tiempo brindado.

A todos los integrantes de Fisiología en especial a Matías Villagrán, que siempre estuvieron para sacar dudas y demás.

A Laura Morena, Bruno Espinosa, Ignacio Almitrán y Rosalía Morales quienes formaron parte del trabajo de campo y de laboratorio.

A Milton Pintos por el cuidado y dedicación de los animales.

A todos los que formaron parte de esta tesis.

A mi hijo Maxi por ser lo más hermoso que existe.

A mi madre y padre quienes desde su lugar me han enseñado, guiado y siempre estuvieron conmigo.

A mis hermanas y amigas quienes me apoyaron y por compartir momentos increíbles.

TABLA DE CONTENIDOS

PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE FIGURAS.....	6
RESUMEN.....	7
SUMMARY	9
1.INTRODUCCIÓN.....	11
1.1.Neuroendocrinología de la reproducción	11
1.2.Bioestimulación sexual.....	11
1.3.Efecto hembra.....	12
1.4.Efectos agudos y crónicos de la presencia de hembras sobre la actividad reproductiva del macho.....	12
1.5.Reproducción estacional.....	13
1.5.1.Estacionalidad reproductiva en chivos	14
1.6.Control de la estacionalidad reproductiva	14
2.HIPÓTESIS	16
3.OBJETIVOS	17
3.1.Objetivo general.....	17
3.2.Objetivos específicos	17
4.MATERIALES Y MÉTODOS	18
4.1.Localización y período experimental.....	18
4.2.Animales y su manejo	18
4.3.Peso corporal, circunferencia escrotal y ecografía testicular	18
4.4.Evaluación seminal	19

4.5. Concentración de testosterona	20
4.6. Análisis estadístico.....	20
5. RESULTADOS	21
5.1. Peso, circunferencia escrotal y concentración de testosterona	21
5.2. Características seminales	22
5.3. Ecografías testiculares.....	25
6. DISCUSIÓN.....	26
7. CONCLUSIONES.....	28
8. BIBLIOGRAFÍA.....	29

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ecografía de un testículo de chivo adulto (*Capra hircus*). Los círculos se corresponden a ejemplos de las áreas utilizadas para medir la intensidad de píxeles19

Figura 2. Peso corporal (A), circunferencia escrotal (B) y concentración de testosterona (C) de chivos adultos en contacto permanente (visual, auditivo y químico) o no con hembras en celo22

Figura 3. Motilidad masal (A), total de espermatozoides en el eyaculado (B), total de espermatozoides motiles en el eyaculado (C) y porcentaje de espermatozoides anormales (D) de chivos adultos en contacto permanente (visual, auditivo y químico) o no con hembras en celo24

Figura 4. Intensidad de píxeles de ecografías testiculares de chivos adultos en contacto permanente (visual, auditivo y químico) o no con hembras en celo25

RESUMEN

Los estímulos socio-sexuales influyen sobre la actividad reproductiva de los animales. El objetivo de la tesis fue determinar si el contacto permanente (auditivo, visual y químico) con hembras en celo estimula la actividad reproductiva de chivos adultos. Para ello, se utilizaron 16 chivos adultos raza Gabón adjudicados a dos grupos experimentales. Un grupo se mantuvo totalmente aislado de hembras (grupo GA, n= 9) y el otro grupo (grupo GH, n= 7) se alojó en un corral adyacente a otro en el que se encontraban hembras en celo. Durante cinco meses se determinó en forma semanal el peso corporal, la circunferencia escrotal y se obtuvieron muestras sanguíneas para la determinación de la concentración de testosterona. En forma quincenal se obtuvieron muestras seminales mediante electroeyaculación y se realizaron ecografías testiculares. En las muestras seminales se determinó: motilidad masal, cantidad total de espermatozoides, cantidad total de espermatozoides motiles y porcentaje de espermatozoides con morfología anormal. En las imágenes ecográficas se determinó la intensidad del color de los pixeles como una forma de comparar diferencias entre grupos en la cantidad de fluido testicular en relación al parénquima testicular. No se observaron diferencias entre grupos en el peso corporal y la circunferencia escrotal pero si variaron a lo largo del tiempo ($P < 0,0001$ y $P < 0,0001$), además, en el peso se observó interacción en entre grupo y tiempo ($P = 0,0004$). La concentración de testosterona fue mayor en el GA que en el GH ($P = 0,02$), se modificó a lo largo del tiempo ($P < 0,0001$) y se observó interacción entre grupo y tiempo ($P = 0,02$): la concentración sérica de testosterona fue mayor en el grupo GA que en el grupo GH en la primera quincena de abril ($P = 0,008$), en la primera ($P = 0,01$) y segunda ($P = 0,002$) quincena de mayo y en la primera quincena de junio ($P = 0,02$). La intensidad de pixeles varió a lo largo del tiempo ($P < 0,0001$): presentó valores más altos en la primera quincena de junio. La cantidad total de espermatozoides en el eyaculado fue mayor en el grupo GA que en el GH durante julio ($P < 0,0001$). La cantidad total de espermatozoides motiles en el eyaculado fue mayor en el grupo GH que en el GA durante julio ($P < 0,0001$). El porcentaje de espermatozoides con morfología anormal fue mayor en el grupo GH que en el grupo GA en la durante abril ($P = 0,04$), fue mayor en el grupo GA

que en el grupo GH durante setiembre ($P= 0,03$). La estimulación con hembras en celo mejoró algunas de las características seminales evaluadas, aunque presentaron menor concentración de testosterona. Por lo tanto, el contacto permanente (auditivo, visual y químico) con hembras en celo estimuló la actividad reproductiva de los chivos fuera de la estación reproductiva.

SUMMARY

The socio-sexual signals influence the reproductive activity of animals. The objective of this experiment was to determine if the presence of estrus females stimulates the reproductive activity of exposed males. For this, 16 adult Gabon goats were assigned to two experimental groups. One of the groups was totally isolated from females (GA group, n= 9) and the other group (GH group, n= 7) was allocated in a corral adjacent to another in which were estrus females. During five months, the body weight was determined weekly, scrotal circumference were measured and blood samples were obtained for determination of testosterone concentration. Once every two weeks, seminal samples were obtained by electroejaculation and testicular ultrasounds were performed. In semen samples were determined: mass motility, total sperm count, total amount of motile spermatozoa and percentage of spermatozoa with abnormal morphology. In the ultrasound images the intensity of the color of the pixels was determined as a way to compare differences between groups in the amount of testicular fluid in relation with the testicular parenchyma. There were no differences between groups in body weight and scrotal circumference but varied over time ($P < 0.0001$ and $P < 0.0001$ respectively). Interaction between group and time was observed ($P = 0.0004$). Testosterone concentration was higher in GA than in GH ($P = 0.02$), it varied over time ($P < 0.0001$) and interaction between group and time was observed ($P = 0.02$). The testosterone concentration was higher in the GA group than in the GH group in the first half of April ($P = 0,008$), in the first group ($P = 0.01$) and in the second week of May ($P = 0.002$) and in the first half of June ($P = 0.02$). The intensity of the pixels varied over time ($P < 0.0001$): the greatest values were observed in the first half of June. The total number of spermatozoa in the ejaculate was higher in the GA group than in the GH during July ($P < 0.0001$). The total amount of motile spermatozoa in the ejaculate was higher in the GH group than in the GA during July ($P < 0.0001$). The percentage of spermatozoa with abnormal morphology was higher in the GH group than in the GA group during April ($P = 0.04$), it was higher in the GA group than in the GH group during September ($P = 0.03$). The stimulation with females in estrus improved some of the seminal characteristics evaluated although they presented a lower testosterone concentration of.

Therefore, permanent contact (auditory, visual and chemical) with estrus females stimulated the reproductive activity of buck and outside the reproductive season.

1. INTRODUCCION

1.1. Neuroendocrinología de la reproducción

La fisiología reproductiva de los mamíferos depende de mecanismos internos y externos al animal. Los mecanismos internos están determinados por el SNC, la hipófisis y las gónadas. Los mecanismos externos al animal están determinados por el ambiente e incluyen: la duración de las horas luz del día, la temperatura ambiente, la pluviosidad, la disponibilidad de alimentos y los estímulos socio-sexuales (Bronson, 1985).

El eje hipotálamo-hipofisario-gonadal es regulado a su vez por la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH), que es sintetizada por neuronas hipotalámicas y liberada a los vasos porta-hipofisarios por donde llega a la hipófisis, estimulando la secreción a la circulación general de las gonadotrofinas: hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH). Estas hormonas tienen como órganos blanco las gónadas en donde estimulan la gametogénesis y a la liberación de esteroides gonadales. El control endócrino de este sistema está mediado por retroalimentación negativa de las hormonas producidas por los ovarios y los testículos (estradiol y testosterona, respectivamente). Estas hormonas actúan sobre el hipotálamo regulando así la liberación de GnRH y por lo tanto la secreción de LH y FSH de la hipófisis. La liberación de GnRH se mantiene controlada por mecanismos internos y externos entre ellos: la melatonina (Hattar y col., 2002), los esteroides gonadales, nutrición y el fotoperiodo (Santiago y López, 2010).

1.2. Bioestimulación sexual

La bioestimulación sexual es un fenómeno natural en el que un individuo sexualmente activo puede estimular la actividad reproductiva de otro, ya sea de su mismo sexo como del opuesto (Martin y col., 2004). Si bien la respuesta de los animales estimulados es mayor cuando los animales que estimulan están sexualmente activos, la sola presencia del animal puede estimular sexualmente a otro. El estímulo se produce mediante señales físicas, auditivas, visuales y

químicas. En este sentido, la introducción de un macho a un grupo de hembras en anestro induce al celo y ovulación, y es lo que se conoce como efecto macho (Martin y col., 2004). El efecto hembra es un mecanismo análogo al efecto macho, en el que las hembras son capaces de estimular la actividad reproductiva de los machos (González y col., 1991; Ungerfeld y Fila, 2012).

1.3. Efecto hembra

En el efecto hembra, las hembras estimulan sexualmente al macho. La exposición de machos a hembras en celo produce un aumento en la concentración de la LH y como consecuencia de testosterona (Ungerfeld y Silva, 2004). Las hembras en celo emiten señales químicas que son captadas por el macho produciendo tanto respuestas comportamentales como endócrinas (Okamura y col., 2010). Estos estímulos también llevan al aumento de la libido, tamaño testicular y la capacidad de servicio, del volumen y la concentración espermática del semen (Rosa y col., 2000; Prado y col., 2003).

La información química que se encuentra en la orina y el moco cervical es importante en la comunicación del estado de receptividad de la hembra para el macho, pudiendo este distinguir una hembra en celo y las que no lo están (Rekwot y col., 2001). Por lo tanto, el efecto hembra incluye diferentes señales que en conjunto estimulan la actividad sexual del macho, a su vez los efectos producidos por la presencia de hembras difieren si el contacto con estas es agudo o crónico.

1.4. Efectos agudos y crónicos de la presencia de hembras sobre la actividad reproductiva del macho

La introducción abrupta de ovejas en celo a un grupo de carneros induce un incremento agudo en la concentración de LH y testosterona (Ungerfeld y Silva, 2004), así como también un aumento de la cantidad de fluido testicular (Ungerfeld y Fila, 2012). La magnitud de la respuesta depende del estado nutricional del macho así como de la estación del año (Walkden-Brown y col.,

1994). En este sentido, machos bien alimentados presentan altas concentraciones de LH por más tiempo luego de la exposición a hembras en celo (Walkden-Brown y col., 1996). La respuesta de los machos al estímulo con hembras en celo es máxima fuera de su estación reproductiva y un poco más reducida durante su época reproductiva (Gonzalez y col., 1988). La presencia crónica de hembras en celo produce en carneros: un aumento en la firmeza, tamaño y elasticidad testicular (Ungerfeld y Silva, 2004). En chivos pre-púberes se observó que el contacto crónico con hembras generó un aumento más temprano en la concentración de testosterona y la circunferencia escrotal (Lacuesta y col., 2015). En síntesis, tanto la presencia aguda o crónica con hembras en celo produce cambios en las características reproductivas de los machos. Sin embargo, existe escasa información sobre los efectos crónicos de la presencia de hembras sobre la actividad reproductiva en chivos adultos.

1.5. Reproducción estacional

La reproducción estacional es un mecanismo de adaptación en el que algunas especies de animales se reproducen solamente durante una parte del año (Hafez, 1996; Santiago y López, 2010), en respuesta a variaciones climáticas y disponibilidad de alimentos, asegurando que los partos se produzcan en el momento del año más favorable para las crías (Bronson y Heideman, 1994; Arroyo, 2011). En climas templados el fotoperiodo es el principal factor medioambiental responsable de la estacionalidad reproductiva de los pequeños rumiantes (Ortavant y col., 1985; Gatica, 2012). La información luminosa del fotoperiodo es captada por la retina, donde el impulso nervioso se transmite hasta la glándula pineal, que produce melatonina en respuesta a la percepción de luz y oscuridad. La secreción de melatonina es la señal traductora de la información fotoperiódica que es transmitida al hipotálamo, el cual libera en respuesta GnRH (Hattar y col., 2002).

1.5.1. Estacionalidad reproductiva en caprinos

Los caprinos son reproductores estacionales presentando actividad sexual cuando el fotoperiodo es decreciente (Poulton y Robinson, 1987). En zonas templadas, las razas caprinas locales presentan una marcada estacionalidad de su actividad sexual, comenzando la misma en otoño y finalizando en primavera (Rivera y col., 2003; Duarte y col., 2008). Durante la estación reproductiva los machos presentan un aumento de la testosterona y producen semen de mejor calidad. El tamaño testicular, volumen del eyaculado, así como también la cantidad y concentración de espermatozoides aumentan en la estación reproductiva (Young y Nelson, 2001; Sogorescu y col., 2011). En nuestro país, las hembras de la raza de Gabón, presentan celos fértiles en marzo-abril y diciembre-enero (datos no publicados), pero la actividad reproductiva de los machos no ha sido estudiada.

1.6. Control de la estacionalidad reproductiva

En los pequeños rumiantes la modificación del fotoperiodo natural puede controlar la estacionalidad reproductiva (Arendt, 1983). En chivos la modificación del fotoperiodo natural con iluminación artificial se usa para regular el ciclo reproductivo anual (Delgadillo y col., 1991). De esta manera se obtiene una mayor producción y calidad seminal durante todo el año (Delgadillo et al., 1991; Gatica, 2012). La utilización de hormonas exógenas como los implantes de melatonina, imitan el efecto de los días cortos e induce el celo y la ovulación en las hembras (Duygu y col., 2011).

En machos caprinos, la combinación de fotoperiodo e implantes de melatonina mejoró la calidad espermática fuera de la estación reproductiva (Carrillo y col., 2010). La utilización de melatonina combinada con GnRH determinó un aumento en la calidad seminal de los machos caprinos tratados y aumentó la concentración de testosterona (Trejo y col., 2000).

Por otro lado, tanto el efecto hembra como el efecto macho podrían ser utilizados para controlar la reproducción estacional. Actualmente existe poca información sobre los cambios que produce la presencia crónica de cabras en celo sobre el estado reproductivo de machos caprinos fuera de su estación reproductiva.

2. HIPÓTESIS

El contacto permanente (auditivo, químico y visual) con hembras en celo estimula la actividad reproductiva en los chivos de Gabón adultos fuera de la estación reproductiva.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Determinar si el contacto permanente (auditivo, químico y visual) con hembras en celo estimula la actividad reproductiva fuera de la estación reproductiva en los chivos adultos de Gabón.

3.2. Objetivos específicos

Determinar si el contacto permanente (auditivo, químico y visual) con hembras en celo fuera de la estación reproductiva produce cambios en:

- La circunferencia escrotal
- La ecogenicidad testicular
- La calidad seminal
- La concentración sérica de testosterona

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Localización y período experimental

El ensayo experimental se realizó entre abril y setiembre (otoño-invierno) en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, y en el Campo Experimental N°2, Libertad, San José.

4.2. Animales y su manejo

Se utilizaron 16 chivos adultos (*Capra hircus*) de 2 a 5 años con un peso corporal promedio de $29,2 \pm 1,5$ kg (media \pm EE). Los machos se separaron en dos grupos: el grupo GA (n= 9) se mantuvo aislado de hembras (distancia mínima de 1000 m). El grupo GH (n= 7) estuvo en contacto permanente con hembras en celo pero separados por un alambrado que permitió el contacto auditivo, químico y visual, pero no permitió el contacto físico. Ambos grupos estuvieron en corrales de similar tamaño y características. El estímulo sexual sobre los machos del grupo GH se realizó mediante la presencia de hembras en celo durante todo el ensayo. Para ello se contó con tres hembras a las cuales se les indujo el celo farmacológicamente, y cada semana una hembra diferente se encontraba en celo. El celo se indujo mediante la aplicación de esponjas intravaginales, que contenían 50 mg de acetato de medroxiprogesterona e inyecciones de (0,1 mg/kg, intramuscular) benzoato de estradiol cada 12 horas durante 3 días, luego de retiradas las esponjas intravaginales. Como resultado, cada hembra estuvo en celo de 2 a 3 días por semana.

La alimentación de todos los animales consistió en fardos de alfalfa cubriendo sus requerimientos nutricionales y el agua se suministró *ad libitum*. Los animales presentaron óptimas condiciones higiénico-sanitarias durante todo el ensayo.

4.3. Peso corporal, circunferencia escrotal y ecografía testicular

Se determinó el peso corporal y la circunferencia escrotal semanalmente utilizando balanza digital y cinta métrica, respectivamente.

Cada quince días se realizaron ecografías testiculares utilizando un equipo B-mode (Wed 9618V; Welld, Guangdong, China) con un transductor lineal de 7,5 MHz, conectado al dispositivo para obtener imágenes en formato digital (Ungerfeld y Fila 2011). Para comparar la cantidad de fluido testicular en relación al parénquima testicular, se escaneó cada testículo por separado, en plano longitudinal al mediastino. Las imágenes ecográficas fueron almacenadas, y posteriormente analizadas utilizando un software (Image Proplus 3.01, Media Cybernetics, EEUU) para cuantificar los pixeles. Se utilizó una escala de grises (en donde el 0 estuvo representado por negro y el 255 estuvo representado por blanco). Debido a problemas técnicos en el mes de agosto no se realizaron ecografías.



Figura 1. Imagen de una ecografía testicular de chivo adulto (*Capra hircus*). Los círculos blancos corresponden a ejemplos de las áreas utilizadas para medir la intensidad de pixeles.

4.4. Evaluación seminal

En forma quincenal se obtuvieron muestras de semen de todos los animales utilizando un electroeyaculador (Funhijira Industry, Tokyo, Japón) equipado con un vástago de (30 x 1,5 cm con 4 electrodos circulares de 1cm de ancho). Se aplicaron estímulos eléctricos de 3 a 5 V cada 2-3 segundos con períodos de descanso de igual tiempo. Para la colecta seminal se utilizó un colector de vidrio templado a 36,5-37°C a baño María. En el semen fresco se examinó: motilidad masal (escala subjetiva de 0-5), motilidad individual (% de espermatozoides con movimiento rectilíneo progresivo) y volumen (mL). Posteriormente se procedió a fijar una alícuota de semen en formol citrato, previamente mantenido en baño María a 37°C. En estas muestras de semen fijadas se determinó la concentración espermática (espermatozoides/mL), y se calculó cantidad total de espermatozoides en el eyaculado (volumen x concentración espermática), cantidad total de espermatozoides motiles en el eyaculado (cantidad total de espermatozoides en el eyaculado x motilidad individual) y el porcentaje de espermatozoides con morfología anormal.

4.5. Concentración de testosterona

Semanalmente se extrajo sangre por venopunción yugular. Las muestras de sangre se centrifugaron durante 30 minutos a 3000 rpm para obtener el suero sanguíneo, que fue preservado a -20°C. Posteriormente se evaluó la concentración sérica de testosterona por Radioinmunoanálisis, utilizando un Kit comercial de fase sólida (TKTT5 Coat-A Count, Siemens, Los Ángeles, CA EEUU), en el Laboratorio de Técnicas Nucleares de la Facultad de Veterinaria.

4.6. Análisis estadístico

Todas las variables se compararon con ANOVA para medidas repetidas, se consideraron como efectos principales el grupo, el tiempo y la interacción entre grupo y tiempo. Se consideró una $P < 0,05$ para significancia estadística y una tendencia estadística de $0,05 \leq P < 0,1$. Los datos de peso corporal,

circunferencia escrotal y testosterona se analizaron como promedio quincenal de los datos obtenidos. Todos los datos se presentan como media \pm EE.

5. RESULTADOS

5.1. Peso, circunferencia escrotal y concentración sérica de testosterona

El peso corporal (Figura 2A) no fue diferente entre grupos, se modificó a lo largo del tiempo ($P < 0,0001$): en ambos grupos se mantuvo constante hasta el mes junio, luego disminuyó hasta el mes de julio en donde comienza a aumentar hasta setiembre. Se observó interacción entre grupo y tiempo ($P = 0,0004$), hacia el final del mes de julio y comienzo de agosto, el grupo GH presentó mayor peso que el grupo GA.

La circunferencia escrotal no presentó diferencias entre grupos por lo que los datos se presentan agrupados (Figura 2B). Se modificó a lo largo del tiempo ($P < 0,0001$), la circunferencia escrotal fue más alta en ambos grupos en abril y setiembre. No se observó interacción entre grupo y tiempo.

La concentración sérica de testosterona (Figura 2C) fue diferente en ambos grupos ($P = 0,02$). El grupo GA tuvo mayor concentración de testosterona hasta el mes de junio ($P < 0,0001$) y luego hasta setiembre no hubo diferencias significativas entre grupos. Se observó interacción entre grupo y tiempo ($P = 0,02$): la concentración sérica de testosterona fue mayor en el grupo GA que en el grupo GH en la primera quincena de abril, en la primera y segunda quincena de mayo y en la primera quincena de junio ($P = 0,008$; $P = 0,01$; $P = 0,002$ y $P = 0,02$).

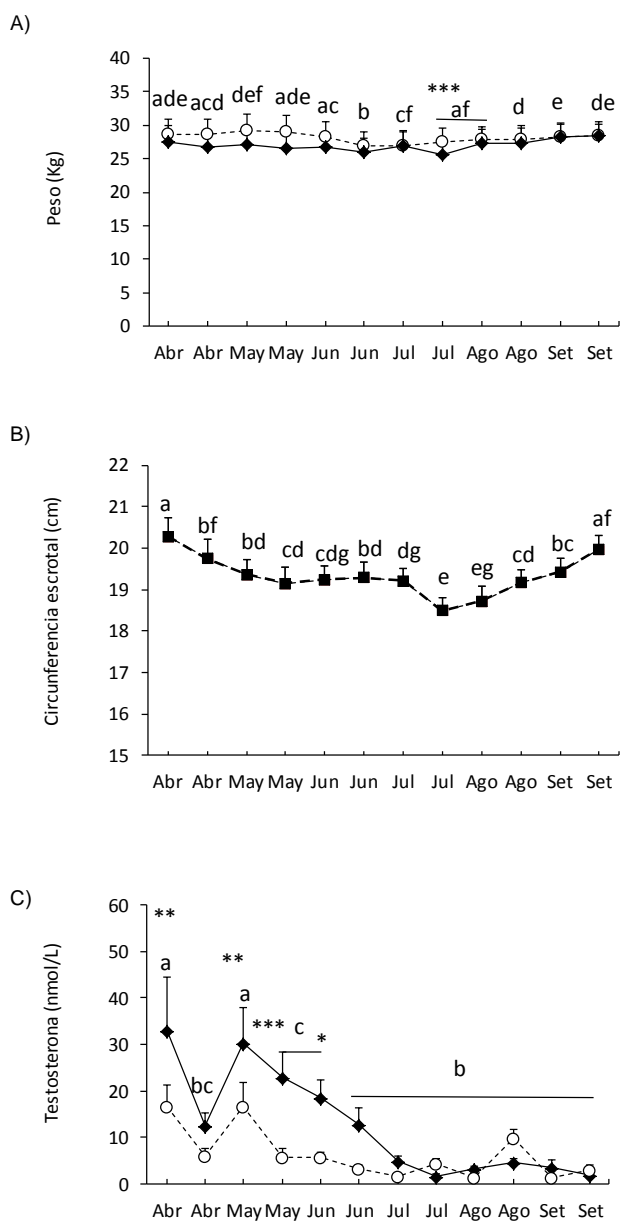


Figura 2. Peso corporal (A), circunferencia escrotal (B) y concentración sérica de testosterona (C) de chivos de Gabón adultos aislados hembras (n=9, ---◆---) o en contacto permanente con hembras en celo (n= 7, ---○---). El contacto entre machos y hembras fue auditivo, visual y químico. Los datos de circunferencia escrotal se presentan agrupados (n= 17, ---■---). Las letras distintas expresan diferencias significativas en el tiempo y los asteriscos indican diferencias entre grupos para un mismo tiempo (* P< 0,05; ** P< 0,01; *** P< 0,0001).

5.2. Características seminales

La motilidad masal (Figura 3A) no fue diferente entre grupos por lo tanto los datos se presentan agrupados, se modificó a lo largo del tiempo ($P < 0,0001$), en donde el valor más alto para ambos grupos se observó en el mes de julio hasta agosto y luego aumenta nuevamente en el mes de setiembre.

En el total de espermatozoides en el eyaculado (Figura 3B) no se observó diferencias entre grupos pero se modificó a lo largo del tiempo ($P = 0,001$), en los meses de mayo (segunda quincena), junio, julio, agosto y setiembre (segunda quincena) el grupo GH tuvo mayor cantidad de espermatozoides. El total de espermatozoides en el eyaculado presentó interacción entre grupo y tiempo ($P = 0,005$): en la segunda quincena de julio el grupo GA tuvo mayor cantidad de espermatozoides en el eyaculado que el grupo GH ($P < 0,0001$).

El total de espermatozoides motiles en el eyaculado (Figura 3C) no fue diferente entre grupos, se modificó a lo largo del tiempo ($P = 0,0005$) y en ambos grupos los promedios más altos se presentaron en mayo y julio. En el total de espermatozoides motiles se observó interacción entre grupo y tiempo ($P = 0,005$): en la segunda quincena del mes de julio el grupo GH presentó mayor cantidad de espermatozoides motiles en el eyaculado que el grupo GA ($P < 0,0001$).

El porcentaje de espermatozoides con morfología anormal (Figura 3D) no fue diferente entre grupos, se modificó a lo largo del tiempo ($P = 0,0002$) presentando ambos grupos menores anormalidades en abril y setiembre, se observó además interacción entre grupo y tiempo ($P = 0,04$). El grupo GH tuvo mayor porcentaje de espermatozoides anormales que el grupo GA en la segunda quincena de abril ($P = 0,04$) y el grupo GA tuvo mayor porcentaje de espermatozoides anormales que el grupo GH en la primera quincena de setiembre ($P = 0,03$).

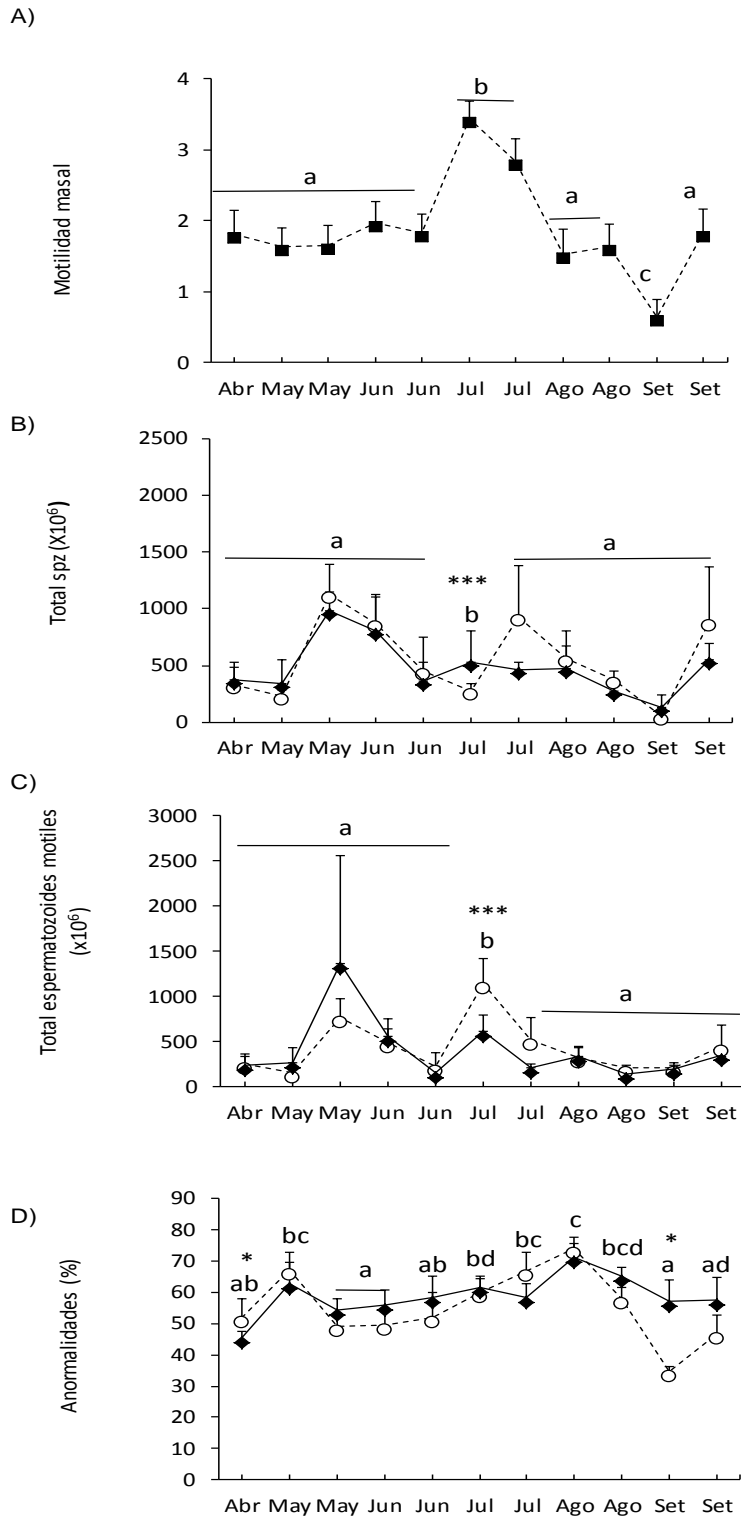


Figura 3. Motilidad masal (A), total de espermatozoides en el eyaculado (B), total de espermatozoides motiles en el eyaculado (C) y porcentaje de espermatozoides anormales (D) en chivos de Gabón adultos aislados

de hembras (n= 9, ---◆---) o en contacto permanente con hembras en celo (n= 7,---○---). El contacto entre machos y hembras fue auditivo, visual y químico. Los datos de motilidad masal se presentan agrupados (n= 17, ----▲---). Las letras distintas expresan diferencias significativas en el tiempo y los asteriscos indican diferencias entre grupos para un mismo tiempo (* P< 0,05; ** P< 0,01; *** P< 0,0001).

5.3. Ecografías testiculares

La composición de pixeles (Figura 4) no fue diferente entre grupos, se modificó a lo largo del tiempo (P< 0,0001). El valor más alto para ambos grupos se observó en la primera quincena de junio, luego disminuyó y se mantuvo constante hasta setiembre. No se observó interacción entre grupo y tiempo.

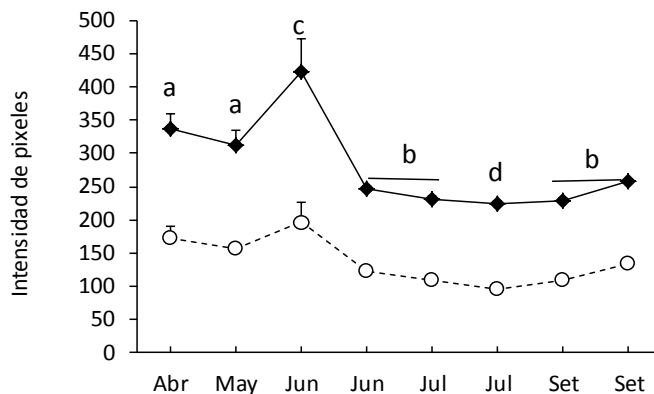


Figura 4. Intensidad de pixeles de ecografías testiculares de chivos Gabón adultos aislados de hembras (n= 9, ---○---) o en contacto permanente con hembras en celo (n= 7, ---◆---). El contacto entre machos y hembras sólo fue auditivo, químico y visual. Las letras distintas expresan diferencias significativas en el tiempo.

6. DISCUSIÓN

El contacto permanente (auditivo, visual y químico) con hembras en celo, estimuló algunas de las características reproductivas de los chivos fuera de la estación reproductiva. Ciertas características seminales mejoraron en los chivos que estuvieron en contacto con hembras en celo mientras que la circunferencia escrotal y la ecogenicidad testicular no presentaron diferencias cuando se comparó entre el grupo aislado y el grupo en contacto con hembras.

Los chivos que estuvieron en contacto permanente con hembras en celo, presentaron, en algunos meses, una mejor calidad de semen en comparación de los chivos que se mantuvieron aislados. Esto se vio reflejado en una mayor cantidad de espermatozoides en el eyaculado, mayor número de espermatozoides motiles en mayo y julio, durante el mes de abril, un menor porcentaje de espermatozoides anormales fuera de la estación reproductiva. Estos resultados podrían sugerir que el contacto con hembras en celo produjo el estímulo necesario para mejorar algunas de las características seminales. De manera similar se ha demostrado que el hecho de que las hembras se encuentren en celo es un factor importante para desencadenar respuesta en la actividad reproductiva de los machos, en comparación de las que no lo están (Gonzalez et al., 1991). Además, el comportamiento estral es importante ya que estimula y mantiene la respuesta en la actividad reproductiva de los machos. Al igual que en el efecto macho, la respuesta al contacto con hembras en celo involucra las señales químicas emitidas por las hembras, además del estímulo visual y auditivo. Sumado a las señales químicas, visuales y auditivas existen las táctiles. En este sentido se ha demostrado en ovinos, que la respuesta aguda a la presencia de hembras es mayor cuando se permite el contacto físico entre macho y hembra (Gonzalez et al., 1988). Por lo tanto, la respuesta de los machos depende la integración de todas las señales emitidas por las hembras. Aunque en este trabajo se evitó el contacto físico, el mismo no fue necesario para inducir cambios en las características reproductivas evaluadas.

Los chivos que estuvieron en contacto con hembras en celo, presentaron menor concentración sérica de testosterona en comparación a los chivos que estuvieron aislados. Sin embargo, algunas características del semen fueron mejores. La testosterona es imprescindible para iniciar y mantener la espermatogénesis y su concentración se encuentra relacionada con la calidad y la cantidad del semen producido (Hafez y Hafez, 2005). Por lo tanto, es de esperar que cuanto menor sea la concentración de testosterona menor sea la calidad y cantidad seminal. Sin embargo, es posible que a baja concentración de testosterona se haya alcanzado el umbral mínimo y necesario para promover una espermatogénesis normal. Además, otras hormonas o factores diferentes a la testosterona pueden influir en la espermatogénesis.

La cantidad de fluido testicular en relación al parénquima testicular, así como la circunferencia testicular, no fueron diferentes en ambos grupos. Se ha observado que la ecogenicidad y el tamaño testicular están relacionados con la concentración de testosterona. En este sentido, cuanto mayor concentración de la testosterona, mayor cantidad de fluido testicular (Ungerfeld y Fila, 2011). Como se ha mencionado anteriormente, los chivos que estuvieron en contacto con hembras en celo, tuvieron menor concentración de testosterona que los chivos que estuvieron aislados de hembras, pero la cantidad de fluido en relación al parénquima testicular fue similar. Esto podría deberse a que aún teniendo menor concentración de testosterona, en los chivos con hembras ésta fue suficiente para obtener los mismos resultados en cuanto a circunferencia escrotal y fluido testicular. Por otra parte, es posible que el efecto de la testosterona sobre el fluido testicular sea agudo y no crónico como se realizó en este ensayo.

La bioestimulación tiene como ventaja frente a otros métodos que es libre de hormonas. Al mismo tiempo, sería conveniente identificar cuáles son las señales a los que los machos responden frente al estímulo de hembras en celo y determinar la importancia de cada uno de ellos.

7. CONCLUSIONES

La presencia permanente (auditivo, visual y químico) con hembras en celo estimuló la actividad reproductiva de los chivos adultos de Gabón fuera de la estación reproductiva.

Algunas características del semen mejoraron en los chivos en contacto con hembras fuera de la estación reproductiva, a pesar de que la concentración de testosterona fue menor que en los chivos aislados de hembras.

8. BIBLIOGRAFÍA

- 1) Arendt, J., Symons, A.M Laud, C.A., Pryde, S.J., (1983). Melatonin can induce early onset of the breeding season in ewes. *Journal of Endocrinology*, 97(3): 395-400.
- 2) Arroyo, J., (2011). Reproductive seasonality of sheep in Mexico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14(3): 829-845.
- 3) Bronson, F.H., (1985). *Mammalian Reproduction: An Ecological Perspective Biology of Reroduction*, 32(1): 1-26.
- 4) Bronson, F.H., Heideman, P.D., (1994). Seasonal regulation of reproduction. En: Knobil E, Neil JD, (ed). *The Physiology of Reproduction*. New York: Reven Press, p: 541-584.
- 5) Carrillo, E., Meza-Herrera, C.A., Véliz, F.G., (2010). Reproductive seasonality of young French-Alpine goat bucks adapted to subtropical conditions in Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 48(2): 169-178.
- 6) Delgadillo, J.A., Leboeuf, B., Chemineau, P., (1991). Decrease in the seasonality of sexual behavior and sperm production in bucks by exposure to short photoperiodic cycles. *Theriogenology*, 36: 755-770.
- 7) Duarte, G., Flores, J.A., Malpaux, B., Delgadillo, J.A., (2008). Reproductive seasonality in female goats adapted to a subtropical environment persists independently of food availability. *Domestic Animal Endocrinology*, 35(4): 262-370.
- 8) Duygu, D., Köker, A., (2011). The effect of estrus synchronization on the reproductive characteristics of Turkish Saanen goats and growth

- characteristics of kids under extensive conditions. *African Journal of Agricultural Research*, 6 (26): 5715-5719.
- 9) Gatica, M.C., (2012). Utilización de fotoperiodo artificial, melatonina exógena y/o efecto macho para la mejora de los parámetros reproductivos de caprinos mediterráneos. Tesis Doctoral. Universidad de Huelva, España, p. 233.
- 10) Gonzalez, R., Poindron, P., Signoret, J.P., (1988). Temporal variation in LH and testosterone responses of rams after the introduction of oestrus females during the breeding season. *Journal of Reproduction and Fertility*, (82): 201-208.
- 11) Gonzalez, R., Oregur, P., Signoret, J.P., (1991). Female effect in sheep. I. The effects of sexual receptivity of females and the sexual experience of rams *Reproduction Nutrition Development*, 31(1): 97-102.
- 12) Hafez, E.S.E., (1996). Ciclos Reproductivos. En: Hafez, ESE. *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. 6a. ed. México, Nueva Editorial Interamericana, p: 87-107.
- 13) Hafez, E.S.E., Hafez, B., (2005). *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. 7a. ed. México, Mac Graw- Hill, p: 519.
- 14) Hattar, S., Liao, H.W., Takao, M., Berson, D.M., Yau, K.W., (2002). Melanopsin containing ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science*, 295 (10): 65-70.
- 15) Lacuesta, L., Orihuela, A., Ungerfeld, R., (2015). Reproductive development of male goat kids with or without permanent contact with adult females until 10 month of age. *Theriogenology*, 83 (1): 139-143.

- 16) Martin, G.B., Milton, J.T.B., Davidson, R.H., Banchemo Hunzicker, G.E., Lindsay, D.R., Blache, D., (2004). Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants, *Animal Reproduction Science*, 82-83: 231-245.
- 17) Ortavant, R., Pelletier, J., Ravault, J.P., Thimonier, J., Volland-Nail, P., (1985). Photoperiod: main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm mammals. *Oxford Reviews of Reproductive Biology*, Clarendon Press, Oxford, 7: 305-345.
- 18) 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. *Journal Neuroendocrinology*, 22 (7): 825-832.
- 19) Poulton, A.L., Robinson, T.J., (1987). The response of rams and ewes of three breeds to artificial photoperiod. *Journal of Reproduction and Fertility*, 79: 609-626.
- 20) Prado, V., Orihuela, A., Lozano, S., Pérez-León, I., (2003). Effect on ejaculatory performance and semen parameters of sexually-satiated male goats (*Capra hircus*) after changing the stimulus female. *Theriogenology*, 60(2): 261–267.
- 21) Rekwot, P.I., Ogwub, D., Oyedipe, E.O., Sekoni, V.O., (2001). The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. *Animal Reproduction Science*, 65(3): 157–170.
- 22) Rivera, G.M., Alanis, G.A., Chaves, M.A., Ferrero, S.B., Morello, H.H., (2003). Seasonality of estrus and ovulation in Creole goats of Argentina. *Small Ruminant Research*, 48(2): 109-117.

- 23) Rosa, H.J., Juniper, D.T., Bryant, M.J., (2000). The effect of exposure to oestrous ewes on rams sexual behaviour, plasma testosterone concentration and ability to stimulate ovulation in seasonally anoestrous ewes. *Applied Animal Behaviour Science*, 67(4): 293-305.
- 24) Santiago Moreno, J., López Sebastián, A., (2010). Ungulados silvestres de España: biología y tecnologías reproductivas para su conservación y aprovechamiento cinegético. *Monografías INIA. Serie Medio-ambiental*, N°2, p. 63-84.
- 25) Şogorescu, E., Zamfirescu, S., Anghel, A.H., Nadolu, D., (2011). Seasonal variations of plasma testosterone levels and testicular volume in Carpathian bucks. *African Journal of Agricultural Research*. 6 (32): 6735-6740.
- 26) Trejo, J.A., Ponce, L.C., Vidal, G.M., (2000). Use of melatonin and GnRH treatment on semen quality in male goats. 7 International Conference of goats, France, p: 444-445.
- 27) Ungerfeld, R., Silva, L., (2004) Ewe effect: endocrine and testicular changes in experienced adult and inexperienced young Corridale rams used for the ram effect. *Animal Reproduction Science*, 80(3-4): 251-259.
- 28) Ungerfeld, R., Fila, D., (2011). Testicular fluid content evaluated by ultrasound image computer-assisted analysis increases with small-dose multiple GnRH injections in rams. *Reproduction in Domestic Animals*, 46(4): 720-723.
- 29) Ungerfeld, R., Fila, D., (2012). Testicular fluid content and scrotal surface temperature increase with rams sexual activity. *Reproduction in Domestic Animals*, 47(4): 56–58.

- 30) Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Norton, B.W., Scaramuzzi, R.J., (1994). The “female effect” in Australian cashmere goats: effect of season and quality of diet on the LH and testosterone response of bucks to oestrous does. *Journal of Reproduction and Fertility*, 100 (2): 521-31.
- 31) Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., (1996). Environmental and social factors affecting reproduction. *International Conference of Goats*. Beijing, China, p: 762-775.
- 32) Young, K.A., Nelson, R.J., (2001). Mediation of seasonal testicular regression by apoptosis. *Reproduction*, 122(5): 677-85.