Función reproductiva de sementales ovinos importados de Nueva Zelanda durante su primera época reproductiva en México

Reproductive function in rams imported from New Zealand during their first reproductive season in Mexico

Guadalupe Méndez Villalobos* Gerardo Jaramillo Escutia* Andrés Aragón Martínez*
María Elena Ayala Escobar** Ignacio Arturo Domínguez-Vara*

Abstract

Importation of rams of high genetic value is a common practice in Mexico; nevertheless, reproductive variables of imported animals have not been followed along. The objective of this study was to evaluate the reproductive function of Suffolk rams along their first reproductive season in Mexico (October to February). The behavior of values of scrotal circumference, sperm count and morphology, and circulating testosterone in Suffolk ram during its first reproductive season in Mexico are in line with the ones reported for Suffolk rams in other latitudes; however, in Mexico such changes are lower in magnitude. Neuroendocrine-reproductive changes induced by environmental stimuli such as changes in duration of light-dark cycles have been broadly documented and are accepted as inducers of seasonal changes in the ram's behavior. In this work, both testosterone concentration and sperm production were observed in December. These results show that Suffolk ram imported to Mexico maintain their cyclic testicular function, although it has a lower magnitude than in other latitudes. Causes of this condition are unknown, but they may be related to changes in the duration of the light-dark cycles prevailing in Mexico.

Key words: REPRODUCTIVE FUNCTION, SPERM, SEXUAL STEROID HORMONES, PROGESTERONE, TESTOSTERONE, ESTRADIOL, SUFFOLK RAMS

Resumen

La importación de sementales de alto valor genético ha sido una estrategia común en México. Sin embargo, debido a que no se le ha dado seguimiento al desempeño reproductivo de tales sementales se llevó a cabo el presente trabajo para realizarlo en sementales Suffolk durante su primera época reproductiva en México (octubre a febrero). El comportamiento de los valores de la circunferencia escrotal, la cuenta y la morfología espermática, así como las concentraciones circulantes de testosterona de los sementales Suffolk durante su primera época reproductiva en México, coinciden con las que se notifican en la literatura para esos animales en otras latitudes, aunque en México son de menor magnitud. Los cambios neuroendocrinos-reproductivos derivados de los estímulos ambientales, como las variaciones en la duración de los ciclos luz-oscuridad, han sido ampliamente documentados y se aceptan como responsables de los cambios estacionales en el comportamiento reproductivo de los carneros. En este trabajo, la mayor concentración de testosterona, así como la mayor producción de espermatozoides se observó en diciembre. Estos resultados indican que los sementales Suffolk importados son capaces de mantener su función testicular cíclica, aunque ésta se manifiesta con menor magnitud que en otras latitudes. Se desconocen las causas de este comportamiento, aunque pueden estar relacionadas con los cambios en la duración de los ciclos luz-oscuridad que ocurren en México.

Palabras clave: FUNCIÓN REPRODUCTIVA, ESPERMATOZOIDES, HORMONAS ESTEROIDES SEXUALES, PROGESTERONA, TESTOSTERONA, ESTRADIOL, SEMENTAL OVINO SUFFOLK.

Recibido el 7 de enero de 2008 y aceptado el 20 de noviembre de 2008.
*Departamento de Biología de la Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, 50090, El Cerrillo, Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, México.
**Unidad Multidisciplinaria de Investigación, Laboratorio de Pubertad, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 9-020, CP 15000, México, D. F.
Correspondencia: Ignacio Arturo Domínguez Vara, igy92@hotmail.com Tel/Fax: (01)722 2965542, (01) 722 2965548.
Nota: El trabajo es resultado de la tesis de maestría del primer autor.

Introduction

The testicular function of males from any species may be defined as the capacity to produce sufficient gametes in quantity and quality to fulfill fertilization, besides producing sexual hormones which will accomplish the individual sexual maturity.[1] With the aim to improve ovine genetic and production in the State of Mexico, Suffolk rams were imported from New Zealand in March 2005, through the Strategic Sheep Rearing Program.[2] The imported sheep were not previously submitted to sperm quality tests; nevertheless, literature that describes different indicator values of Suffolk rams sperm quality is numerous.[3-5] Ovines are seasonal reproductive animals, and this biological behavior is increased in high latitudes, where light-darkness cycles are more accentuated.[6] Such light-darkness cycle changes can affect reproductive function in rams by neuroendocrine mechanisms already described.[7-9] In spite the previous information, the testicular response of the rams, brought to Mexico from other latitudes, to the environmental conditions prevailing in the country is unknown. Therefore, the testicular function analysis of the imported rams, after their arrival and adaptation to Mexico, will allow their reproductive status identification. The aim of this study was to analyze Suffolk rams testicular function, brought from New Zealand to Mexico, during their first reproductive season (October of 2005 to February of 2006) in the Toluca valley, Mexico.

Material and methods

Thirteen Suffolk breed rams were utilized, imported from New Zealand in 2005 by the Ovine Repopulation and Improvement Program of SEDAGRO. At the moment of arrival to Mexico (March), the animals were 22 months old and 29 months at the start of the study, with a body weight of 105 to 113 kg. They were kept in three production units located in Almoloya de Juarez (n = 7), Ixtlahuaca (n = 3) and Toluca (n = 3), State of Mexico. All the animals were kept stabulated and were given a concentrate (2.8 Mcal ME/kgms, 14.5 % CP) at a ratio of 1% of body weight plus maize ensilage (whole plant, 2.3 Mcal MEkgms, 9.2% CP) and water *ad libitum*.

From October of 2005 to February of 2006 a weekly semen sample was taken from each ram. The ejaculates were obtained by means of an immobilized female and artificial vagina, and were collected in graduated polypropylene sterile tubes* previously tempered at 37°C. The ejaculates were obtained between 09:00 and 10:00 h. With the aim to minimize rams' stress the technicians in charge of the ejaculates obtaining were

Introducción

La función testicular de los machos de cualquier especie puede definirse como la capacidad para producir gametos en cantidad y con la calidad suficientes para llevar a cabo la fertilización, además de producir las hormonas sexuales que llevarán a la maduración sexual del individuo.[1] Con el propósito de mejorar la genética y producción de los ovinos del Estado de México, mediante el Programa Estratégico de Ovinocultura,[2] se importaron en marzo de 2005, sementales de la raza Suffolk de Nueva Zelanda. Los ovinos importados no fueron sometidos previamente a pruebas de calidad espermática; no obstante, es numerosa la literatura que describe los valores de distintos indicadores de la calidad espermática de los sementales Suffolk.[3-5] Los ovinos son animales de reproducción estacional, y este comportamiento biológico es más acentuado en los ejemplares de latitudes elevadas, donde los cambios en la duración de los ciclos luz-oscuridad son más acentuados.[6] Tales cambios en los ciclos de luz-oscuridad pueden afectar la función reproductiva de los sementales ovinos por mecanismos neuroendocrinos ya descritos.[7-9] No obstante la información anterior, se desconoce la respuesta testicular de los sementales ovinos, traídos a México desde otras latitudes, a las condiciones ambientales que prevalecen en el país. Por lo tanto, el análisis de la función testicular de los sementales importados, después de su arribo y adaptación a México, permitirá identificar su estado reproductivo. El objetivo de este trabajo fue analizar la función testicular de sementales Suffolk, traídos de Nueva Zelanda a México, durante su primera época reproductiva (octubre de 2005 a febrero de 2006) en el valle de Toluca, Estado de México, México.

Material y métodos

Se utilizaron 13 sementales de la raza Suffolk, importados de Nueva Zelanda en 2005 por el Programa de Repoblación y Mejoramiento Ovino de la Secretaría de Desarrollo Agropecuario (Sedagro), del Estado de México. Al momento de llegar a México (marzo), los animales contaban con 22 meses de edad y con 29 meses al inicio del estudio y peso corporal de 105 a 113 kg. Se mantuvieron en tres unidades de producción ubicados en Almoloya de Juárez (n = 7), Ixtlahuaca (n = 3) y Toluca (n = 3), Estado de México. Todos los animales se mantuvieron estabulados y recibieron diariamente un concentrado (2.8 Mcal EM/kgms, 14.5 % PC) a razón de 1% de su peso corporal más ensilado de maíz (planta completa, 2.3 Mcal EM/kgms, 9.2% PC) y agua a libre acceso.

De octubre de 2005 a febrero de 2006 se obtuvo

always the same ones. Before obtaining each ejaculate body weight was evaluated with an electronic balance** and body condition was quantified according to the described by Russell.[10] The scrotal circumference was measured with a metric tape, both testicles were pushed into the scrotum and kept in this position during measurement.

Sperm evaluations

Color and volume was evaluated from the ejaculates kept in the collection tubes.[11,12] Mass motility was evaluated in a bright field microscope*** at 100X according to the described by other authors. The sperm concentration was quantified in a Neubauer† chamber. To evaluate the presence of abnormalities in sperm morphology, smears from each ejaculate were prepared, let to air dry and stained with eosine-nigrosine. The smears were observed at 400X; 200 cells from each semen sample were evaluated and the sperm abnormalities were classified according to Barril *et al.*[12] and Vijil *et al.*[13]

Hormonal measurements

From November, blood samples from the jugular vein were taken once a week from each ram, these were kept in ice for approximately two hours, until transported to the laboratory to be processed. The samples were centrifuged at 1000 *g* for 15 minutes; serum was obtained and kept at –20ºC until processed.

The progesterone, testosterone and estradiol concentrations in serum were determined by double antibody radioimmunoanalysis, with a commercial package,‡ following the manufacturer instructions. The detection limits for the assays were 0.0013 and 0.0009 ng/mL for progesterone and testosterone, respectively, and 0.8205 pg/mL for estradiol. The inter-assay variability for progesterone, testosterone and estradiol was 9.8%, 8.7% and 10.8%, respectively; the intra-assay variability was 5.3%, 5.6% and 6.9%, respectively. All samples were evaluated the same day.

Statistics

Data of all analyzed variables in the study were grouped by month of collection and the unit of production was considered as block over all variables of the Suffolk rams reproductive function. The body condition, ejaculate color and mass motility were analyzed by means of the Kruskall-Wallis test, followed by Dunn's multiple comparisons,[14] to identify differences among groups. Body weight, scrotal circumference, volume, sperm count and hormonal concentrations in serum were analyzed by means of analysis of vari-

semanalmente una muestra de semen de cada semental. Los eyaculados se obtuvieron con ayuda de una hembra inmovilizada y una vagina artificial, fueron recolectados en tubos estériles de polipropileno graduados,* previamente atemperados a 37ºC. Los eyaculados se obtuvieron entre las 09:00 y 10:00 h. Con el propósito de minimizar el estrés de los sementales siempre fueron los mismos técnicos los encargados de la obtención de los eyaculados. Antes de la obtención de cada eyaculado se evaluó el peso corporal de los animales con una balanza electrónica** y la condición corporal se cuantificó de acuerdo con lo descrito por Russell.[10] La circunferencia escrotal se midió con una cinta métrica, ambos testículos fueron empujados hacia el escroto y mantenidos en esa posición durante la medición.

Evaluaciones espermáticas

Al eyaculado contenido en el tubo de recolección se le valoró el volumen y el color.[11,12] La movilidad masal se evaluó en un microscopio de campo claro*** a 100X de acuerdo con lo descrito por otros autores.[11,12] La concentración espermática se cuantificó en una cámara de Neubauer.† Para evaluar la presencia de anormalidades en la morfología espermática, se prepararon frotis de cada eyaculado, se dejaron secar al aire y se tiñeron con eosina-nigrosina. Los frotis se observaron a 400X; se evaluaron 200 células por cada muestra de semen y las anormalidades espermáticas se clasificaron de acuerdo con lo descrito por Barril *et al.*[12] y Vijil *et al.*[13]

Mediciones hormonales

A partir de noviembre, una vez por semana, se obtuvieron muestras sanguíneas de la vena yugular de cada semental, éstas se mantuvieron en hielo aproximadamente dos horas, hasta su traslado al laboratorio para ser procesadas. Las muestras se centrifugaron a 1000 *g* durante 15 minutos, se obtuvo el suero y se mantuvieron a –20ºC hasta su procesamiento.

Las concentraciones de progesterona, testosterona y estradiol en el suero se determinaron mediante radioinmunoanálisis de doble anticuerpo, con un paquete comercial‡ y siguiendo las instrucciones del fabricante. Los límites de detección para los ensayos fueron de 0.0013 y 0.0009 ng/mL para la progesterona y la testosterona, respectivamente, y de 0.8205

*Corning Corp., Midland, MO, Estados Unidos de América.
**EQM-200/400, Torrey, México
***Eclipse 90i, Nikon Instruments Co. Melville, Estados Unidos de América.
†Proper, Lumicyte, Fremont, CA, Estados Unidos de América.
‡Coat-A-Count Diagnostics Products Co., Estados Unidos de América.

ance (ANOVA) followed by Tukey test.[15] In all cases a $P < 0.05$ was considered significant. Data in the text are shown as the mean ± standard error. The analyses were performed with the R 1.16* package.

Results

Rams' weight and body condition were kept constant throughout the study (Figure 1A and 1B). Nevertheless, the scrotal circumference that presented no variation during October, November and December (means of 35.8 ± 0.24, 36.6 ± 0.20 and 35.5 ± 0.22 with intervals of 32-39, 33-40 and 32-38 cm, respectively), decreased significantly in January and February with respect to December (33.1 ± 0.3 and 32.5 ± 0.33 with intervals of 29-37 and 28-36 cm, respectively) (Figure 1C).

Ejaculate and sperm

Rams´ ejaculated volume used in this study changed along the time. The greatest volume was obtained in December (1.26 ± 0.10 mL), this value was significantly different to the one obtained in October, January and February (0.86 ± 0.11, 0.86 ± 0.08 and 0.76 ± 0.06 mL, respectively) (Figure 2A). The color of the ejaculate and the sperm count showed a similar behavior along the study; that is, the higher values were shown in December and the lowest in January and February. A significant difference in color was observed in ejaculates obtained in December and February (3.38 ± 0.13 *vs* 3.10 ± 0.16, respectively) and in the sperm count (2 930 ± 209 vs 1 951 ± 180 × 10^6, respectively) (Figures 2B and 2C). The abnormal sperm morphology showed an inverse behavior in relation to the sperm count and ejaculate color; that is, high percentages in October, November, January and February with respect to December. In this case, a significant reduction in the abnormality percentage in December with respect to October, January and February was showed (3.40 ± 3.07, 6.20 ± 4.47, 4.01 ± 2.18 and 4.13 ± 2.56%, respectively) (Figure 2D).

Sexual steroids

No authorization was given by the animal owners to obtain blood samples since October 2005; therefore, progesterone, testosterone and estradiol steroid hormones were only quantified from November 2005 to February 2006. The progesterone concentrations were not modified along the study. Nevertheless, a non significant increase was observed in February (Figure 3A). The temporary behavior of testosterone and estradiol concentrations was similar to the months evaluated in this study, high in December and low in

pg/mL para el estradiol. La variabilidad interensayo para la progesterona, la testosterona y el estradiol fue de 9.8%, 8.7% y 10.8%, respectivamente; la variabilidad intraensayo fue de 5.3%, 5.6% y 6.9%, respectivamente. Todas las muestras se evaluaron el mismo día.

Estadística

Los datos de todas las variables analizadas en el estudio se agruparon por mes de recolección, y se consideró a la unidad de producción como bloque sobre todas las variables de la función reproductiva de los machos Suffolk. La condición corporal, el color del eyaculado y la movilidad masal se analizaron mediante la prueba de Kruskall-Wallis, seguida de comparaciones múltiples de Dunn,[14] para identificar diferencias entre grupos. El peso corporal, la circunferencia escrotal, el volumen, la cuenta espermática y las concentraciones hormonales en el suero se analizaron mediante análisis de varianza (ANDEVA) seguido de la prueba de Tukey.[15] En todos los casos una $P < 0.05$ se consideró significativa. Los datos en el texto se presentan como la media ± error estándar. Los análisis se realizaron con el paquete R 1.16.*

Resultados

El peso y la condición corporal de los sementales se mantuvieron constantes a lo largo del estudio (Figuras 1A y 1B). Sin embargo, la circunferencia escrotal que no tuvo variación en octubre, noviembre y diciembre (medias de 35.8 ± 0.24, 36.6 ± 0.20 y 35.5 ± 0.22 con intervalos de 32-39, 33-40 y 32-38 cm, respectivamente), disminuyó en forma significativa en enero y febrero con respecto a diciembre (33.1 ± 0.3 y 32.5 ± 0.33 con intervalos de 29-37 y 28-36 cm, respectivamente) (Figura 1C).

Eyaculado y espermatozoides

El volumen eyaculado por los sementales utilizados en este estudio se modificó a lo largo del tiempo. El mayor volumen se obtuvo en diciembre (1.26 ± 0.10 mL), este valor fue significativamente diferente de los obtenidos en octubre, enero y febrero (0.86 ± 0.11, 0.86 ± 0.08 y 0.76 ± 0.06 mL, respectivamente) (Figura 2A). El color del eyaculado y la cuenta espermática mostraron un comportamiento similar a lo largo del estudio; esto es, los valores más altos se presentaron en diciembre y los menores en enero y febrero. Se observó una diferencia significativa en los eyaculados obtenidos en diciembre y febrero en el color del eyaculado (3.88 ± 0.13 *vs* 3.10 ± 0.16, respectivamente) y

*R Foundation for Statistical Computing http://www.R-project.org) en una Macbook con MacOS X 10.4.10.

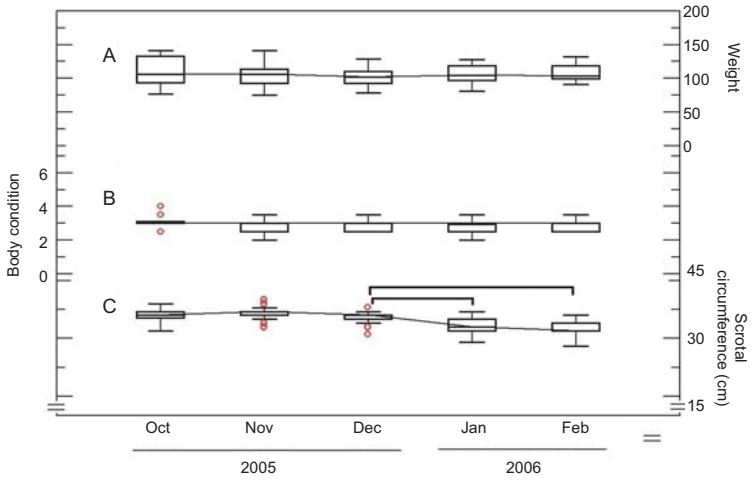

Figura 1: Gráficos de caja con bigotes de variables corporales y testiculares de sementales ovinos neozelandeses durante su primera época reproductiva en México. La línea continua entre las cajas une las medianas de cada grupo. Las líneas gruesas sobre las cajas indican diferencias entre grupos; peso corporal (A) y circunferencia escrotal (C) ANDEVA seguida de la prueba de Tukey; condición corporal (B), Kruskall Wallis y comparaciones múltiples, $P < 0.05$.

Figure 1: Box and whisker plots of body and testicular variables of New Zealander rams during their first reproductive season in Mexico. The continuous line between the boxes joins the median of each group. The thick lines over the boxes indicate differences among groups; body weight (A) and scrotal circumference (C) ANOVA followed by Tukey's test; body condition (B), Kruskall Wallis and multiple comparisons, $P < 0.05$.

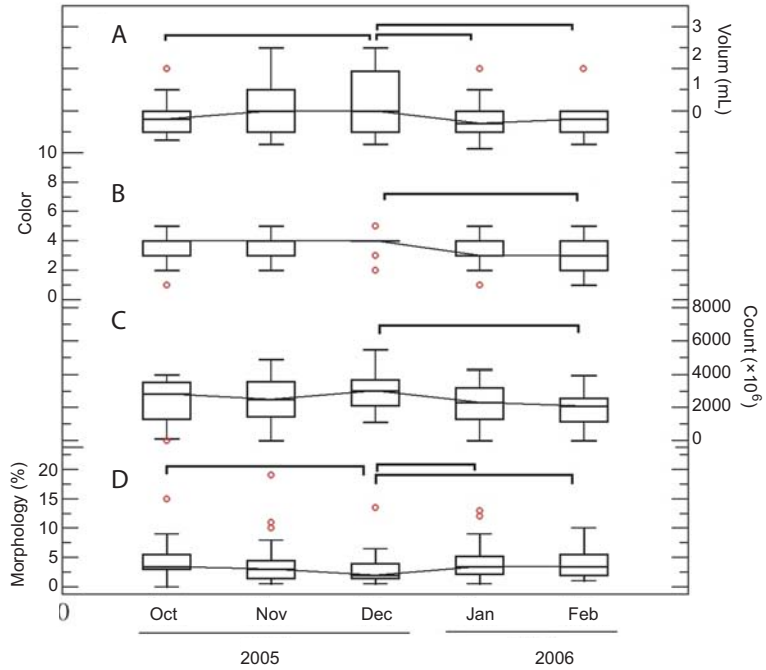

Figura 2: Gráficos de caja con bigotes de las variables espermáticas y del eyaculado de ovinos neozelandeses durante su primera época reproductiva en México. La línea continua entre las cajas une las medianas de cada grupo. Las líneas gruesas sobre las cajas indican diferencias entre grupos; volumen (A) y cuenta espermática (C), ANDEVA seguida de la prueba de Tukey; color (B) y morfología espermática (D), Kruskall Wallis y comparaciones múltiples, $P < 0.05$.

Figure 2: Box and whisker plots of sperm and ejaculate variables of New Zealander rams during their first reproductive season in Mexico. The continuous line between boxes joins the median of each group. The thick lines over the boxes indicate differences among groups; volume (A) and sperm count (C), ANOVA followed by Tukey's test; color (B) and sperm morphology (D), Kruskall Wallis and multiple comparisons, $P < 0.05$.

November, January and February. A significant reduction in testosterone concentrations was observed in November and January in relation to December (2.45 ± 0.78, 3.12 ± 0.95 and 8.60 ± 1.20 ng/mL, respectively). Although the mean estradiol concentration increased approximately three times in December with respect to November, January and February (~15 *vs* 3 pg/mL) no significant differences were observed (Figure 3).

Discussion

In this study, changes in reproductive function indicators from imported New Zealand rams during their first reproductive season in Mexico were described. The animals kept in the different production units presented no health alterations along the study; nei-

en la cuenta espermática (2 930 ± 209 *vs* 1 951 ± 180 × 10^6, respectivamente) (Figuras 2B y 2C). La morfología espermática mostró un comportamiento inverso al de la cuenta espermática y al color del eyaculado; esto es, altos porcentajes en octubre, noviembre, enero y febrero con respecto a diciembre. En este caso se presentó una reducción significativa en el porcentaje de anormalidades en diciembre con respecto a octubre, enero y febrero (3.40 ± 3.07, 6.20 ± 4.47, 4.01 ± 2.18 y 4.13 ± 2.56%, respectivamente) (Figura 2D).

Esteroides sexuales

No se obtuvo la autorización de los propietarios de los animales para obtener muestras sanguíneas a partir del mes de octubre de 2005; por ello, las hormonas

ther the weight or body condition were modified, so the changes in the reproductive function indicators (sperm production and sexual steroids) observed in the present study are attributed to endogenous biological changes.

The evaluated reproductive function values in the present work are modified in accordance to the start of the short days towards the end of the year and decrease as light-darkness cycles become longer. In this sense, it is known that ovine breeds native from temperate climates in medium and high latitudes are seasonal breeders and the variation in the daily light period synchronizes the reproductive cycle.[16]

It is inferred that the rams used in this work were found gonad active when reaching Mexico, since they were shipped from New Zealand at the beginning of the reproductive season (short days). Nevertheless, light-darkness conditions in Mexico were inverted with respect to those in New Zealand (long days). Animals had an environment adaptation period of seven months, in which it is uncertain if they passed through a regression stage and another one of testicular recrudescence. Photoperiod has great effect in regulating neuroendocrine reproductive function; although the responses to the photoperiod depend on the duration of this (critical response window) and each species responds in a different way to the duration changes, as recently observed in Soay sheep.[9]

Testicles are easily palpable endocrine organs which reflect seasonal changes and ram reproductive physiology;[17] in this organs is where sperm and steroid hormones production is taken place. During October and November the animals used in this work presented a scrotal circumference similar to the recorded in other studies.[4,5] Nevertheless, sperm count in this study decreased in relation to the observed by Dufour *et al.*[3] and Sanford *et al.*[18] in Suffolk rams. Sperm pro-

esteroides progesterona, testosterona y estradiol se cuantificaron sólo de noviembre de 2005 a febrero de 2006. Las concentraciones de progesterona no se modificaron a lo largo del estudio. Sin embargo, se aprecia un incremento no significativo en febrero (Figura 3A). El comportamiento temporal de las concentraciones de las hormonas testosterona y estradiol fue semejante en los meses evaluados en este trabajo, alto en diciembre y bajo en noviembre, enero y febrero. Se observó una reducción significativa en las concentraciones de testosterona en noviembre y enero con respecto a diciembre (2.45 ± 0.78, 3.12 ± 0.95 y 8.60 ± 1.20 ng/mL, respectivamente). Aunque la concentración media de estradiol incrementó aproximadamente tres veces en diciembre con respecto a noviembre, enero y febrero (~15 *vs* 3 pg/mL) no se presentaron diferencias significativas (Figura 3C).

Discusión

En este estudio se describen los cambios ocurridos en los indicadores de la función reproductiva de sementales ovinos, importados de Nueva Zelanda durante su primera época reproductiva en México. Los animales mantenidos en las diferentes unidades de producción no presentaron alteraciones en la salud a lo largo del estudio; tampoco se modificó su peso ni la condición corporal, por lo que los cambios en los indicadores de la función reproductiva (producción de espermatozoides y de esteroides sexuales) observados en el presente trabajo son atribuibles a cambios biológicos endógenos.

Los valores de la función reproductiva evaluados en el presente trabajo se modifican de acuerdo con el inicio de los días cortos hacia el fin de año y disminuyen conforme los ciclos de luz-oscuridad se alargan. En este sentido, se sabe que las razas de ovinos origi-

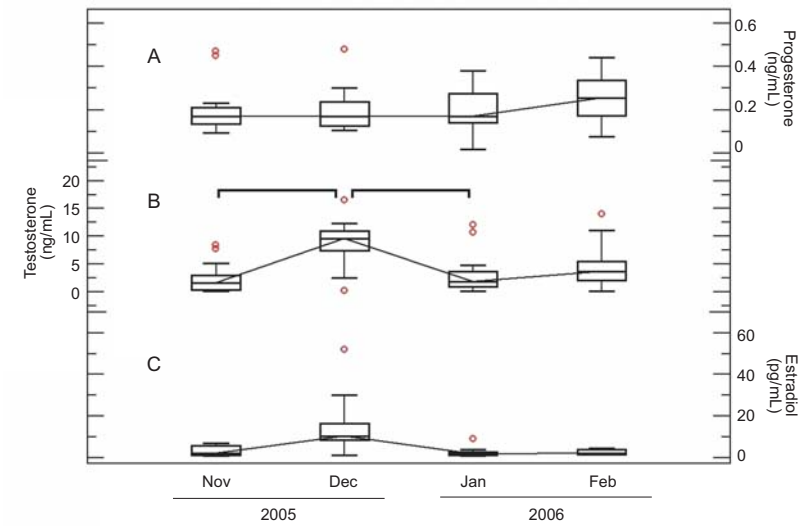

Figura 3: Gráficos de caja con bigotes de las concentraciones de hormonas esteroides sexuales en ovinos neozelandeses durante su primera época reproductiva en México. La línea continua entre las cajas une las medianas de cada grupo. Las líneas gruesas sobre las cajas indican diferencias entre grupos. ANDEVA seguida de la prueba de Tukey, $P < 0.05$.

Figure 3: Box and whisker plots of body and testicular variables of New Zealander rams during their first reproductive season in Mexico. The continuous line between the boxes joins the median of each group. The thick lines over the boxes indicate differences among groups; ANOVA followed by Tukey's test, $P < 0.05$

duction is related with testicular parenchyma[19] and it has been observed that an increase in the circumference coincides with an increase in the number of sperm ejaculated.[3] Seminiferous tubules constitute the major part of testicular tissue; therefore, in seasonal reproductive animals the seminiferous tubules volume changes are strictly related to total size and testicular weight changes.[20] The seasonal modifications in the volume of seminiferous tubules are consequence of the proliferation processes activity and differentiation of germ cells; therefore, cellularity analysis in the testicular tissue could explain the cause of the differences in the sperm count.

A greater sperm abnormality percentage has been reported for Suffolk rams towards the end of the reproductive season than the ones recorded in this work.[5,21] The presence of sperm morphology abnormalities is a common situation towards the beginning and end of the reproductive season, that is, during testicular recrudescence and regression.[20] Some genetic factors are of importance in the sperm head morphogenesis,[22,23] therefore, the low abnormal sperm observed here could be explained by the genetics of the imported animals in this work.

Progesterone, testosterone and estradiol steroid hormones are produced in Leydig's cells by sequential enzymatic reactions, while estradiol is produced in the germ cells.[24,25] Testicular size follows almost the same profile as testosterone and estradiol secretions.[3,18,20,26] The concentrations of circulating progesterone did not change along the study, although testosterone and estradiol showed a similar behavior, increasing in December, which indicates that the seasonal change induced gonadal changes which led to a greater testosterone and estradiol synthesis. The importance of testosterone in spermatogenesis is widely recognized; nevertheless, it has been observed that estradiol is also an important factor in cell death by apoptosis and in male germ cell differentiation.[27] The sudden concentration increase of estradiol in December, evidences the importance of estradiol in ram reproductive physiology, since it is implicit with testosterone concentration increment and with sperm production. In this study, changes in estradiol concentration during reproduction season are discreet compared with the testosterone ones, which adjusts to the results obtained by Sanford *et al.*[18]

It is not known whether the reproductive function values, observed in this work, alter fertility of the evaluated animals, although it has been reported that there is no direct relation with scrotal circumference, motility and sperm morphology.[5] In addition to the aforementioned, rams did not go through a reproductive function evaluation process in their place of origin or once their arrival to Mexico; therefore, the magnitude

narias de climas templados en latitudes medias y altas son reproductores estacionales y que la variación en el fotoperiodo diario sincroniza el ciclo reproductivo.[16]

Se infiere que los carneros utilizados en este trabajo se encontraban gonadalmente activos al llegar a México, puesto que al ser embarcados en Nueva Zelanda se encontraban al inicio de la época reproductiva (días cortos). Sin embargo, en México las condiciones de luz-oscuridad se encontraban invertidas con respecto a las de Nueva Zelanda (días largos). Los animales tuvieron un periodo de adaptación al ambiente de siete meses, durante los cuales es incierto si pasaron por una etapa de regresión y otra de reactivación testicular. El fotoperiodo tiene grandes efectos en la neuroendocrinología reguladora de la función reproductiva; aunque las respuestas al fotoperiodo dependen de la duración de éste (ventana crítica de respuesta) y cada especie responde de manera diferencial a los cambios en su duración, como se observó recientemente en las ovejas Soay.[9]

Los testículos son órganos endocrinos fácilmente palpables que reflejan cambios en la estación y en la fisiología reproductiva del carnero;[17] en estos órganos es donde se lleva a cabo la producción de espermatozoides y de hormonas esteroides. Durante octubre y noviembre los animales utilizados en este trabajo presentaron una circunferencia escrotal semejante a lo notificado en otros estudios.[4,5] No obstante, la cuenta espermática de los animales de este trabajo disminuyó con respecto a lo observado por Dufour *et al.*[3] y Sanford *et al.*[18] en sementales Suffolk. La producción de espermatozoides se encuentra relacionada con el peso del parénquima testicular[19] y se ha observado que un aumento en la circunferencia coincide con un incremento en el número de espermatozoides eyaculados.[3] Los túbulos seminíferos constituyen la mayor parte del tejido testicular, por lo que en los animales de reproducción estacional los cambios en el volumen de los túbulos seminíferos se encuentran estrechamente relacionados con los cambios en el tamaño total y con el peso de los testículos.[20] Las modificaciones estacionales en el volumen de los túbulos seminíferos es consecuencia de la actividad en los procesos de proliferación y diferenciación de las células germinales; por lo que el análisis de la celularidad en el tejido testicular podría ayudar a explicar la causa de las diferencias en la cuenta espermática.

Se ha notificado un porcentaje de anormalidades espermáticas mayor para los sementales Suffolk hacia el final de la estación reproductiva que los observados en el presente trabajo.[5,21] La presencia de anormalidades en la morfología espermática es una situación común hacia el inicio y el final de la estación reproductiva, esto es, durante la reactivación y la regresión testicular.[20] Algunos factores genéticos

of the change is unknown, if it occurred, in the reproductive function values of the variables.

Nowadays there are methods which allow to evaluate sperm function indicators in a more specific way and that are in relation with fertility, for instance, cytoplasmatic membrane integrity, mitochondrial function, apoptosis marker expression or the denaturalization of sperm chromatine sensitivity.[28-31] It is not known if one or more of those indicators are found modified in rams used in the present study. The aforementioned evidences the necessity to evaluate the reproductive function of rams used for genetic improvement, with more specific markers in sperm function.

Reproductive function variables in Suffolk rams imported from New Zealand in 2005 by the Strategic Sheep Rearing Program from the State of Mexico, in their first reproductive season in Mexico, follow general patterns similar to the described for this breed, independently from the production unit in which they are located.

Acknowledgements

Special thanks from the authors to the Autonomous University of the State of Mexico (project 2019/2005U), to the Agricultural, Aquiculture and Forestry Research and Capacitating Institute from the State of Mexico (project 175 ICAMEX) and National Council of Science and Technology, (CONACyT), (Researchers Retention Program), for the support given for this research fulfillment.

Referencias

1. SHARPE M. Regulation of spermatogenesis. In: KNOBIL E, NEIL J, editors. The Physiology of Reproduction. New York: Raven Press Ltd, 1994:1363–1434.
2. GEM. Programas de la Secretaría de Desarrollo Agropecuario. Repoblación y mejoramiento genético ovino. México DF: SEDAGRO, 2005.
3. DUFOUR JJ, FAHMY MH, MINVIELLE F. Seasonal changes in breeding activity, testicular size, testosterone concentration and seminal characteristics in rams with long or short breeding season. J Anim Sci 1984; 58:416–422.
4. MICKELSEN WD, PAISLEY LG, DAHMEN JJ. The effect, sperm motility and morphology in the ram on conception rates and lambing percentage in the ewe. Theriogenology; 1981, 16:53–59.
5. MICKELSEN WD, PAISLEY LG, DAHMEN JJ. The scrotal circumference and sperm motility and morphology in rams. Theriogenology 1981;16:45–51.
6. PELLETIER J, ALMEIDA G. Short light cycles induce persistent reproductive activity in Ile-de-France rams. J Reprod Fertil Suppl 1987;34:215–226.
7. LINCOLN GA, RICHARDSON M. Photo-neuroendocrine control of seasonal cycles in body weight, pelage

son de importancia en la morfogénesis de la cabeza del espermatozoide,[22,23] por lo que el bajo número de espermatozoides anormales observado en los animales de este trabajo podría explicarse por la genética de los animales importados.

En las células de Leydig se producen, mediante reacciones enzimáticas secuenciales, las hormonas esteroides progesterona, testosterona y estradiol, mientras que en las células germinales se produce estradiol.[24,25] El tamaño testicular sigue casi el mismo perfil que las secreciones de testosterona y de estradiol.[3,18,20,26] A lo largo de este estudio no se modificaron las concentraciones circulantes de progesterona; aunque las concentraciones de testosterona y de estradiol presentaron un comportamiento semejante, incrementándose en diciembre, lo cual indica que el cambio estacional indujo cambios gonadales que llevaron a una mayor síntesis de testosterona y de estradiol. Es ampliamente reconocida la importancia de la testosterona en la espermatogénesis, no obstante se ha observado que el estradiol es también un factor importante en los eventos de muerte celular por apoptosis y de diferenciación de las células germinales masculinas.[27] El aumento brusco de las concentraciones de estradiol observado en diciembre, evidencia la importancia del estradiol en la fisiología reproductiva de los carneros ya que va aparejado con el incremento en la concentración de testosterona y con la producción de espermatozoides. Los cambios en las concentraciones de estradiol durante la época reproductiva en este trabajo son discretos, comparados con los de testosterona, lo cual se ajusta a los resultados de Sanford *et al.*[18]

No se sabe si los valores de la función reproductiva, observados en el presente trabajo, alteren la fertilidad de los animales evaluados, aunque se ha informado que no existe una relación directa de la circunferencia escrotal, la movilidad y la morfología espermática con la fertilidad.[5] Aunado a lo anterior, los sementales no pasaron por un proceso de evaluación de la función reproductiva en su lugar de origen ni a su llegada a México, por lo que se desconoce la magnitud del cambio, si es que ocurrió, en los valores de las variables de la función reproductiva.

Actualmente existen métodos que permiten evaluar algunos indicadores de la función espermática de manera más específica y que tienen relación con la fertilidad; por ejemplo, la integridad de la membrana citoplasmática, la función mitocondrial, la expresión de marcadores de apoptosis o la sensibilidad de la cromatina espermática a la desnaturalización.[28-31] No se sabe si los valores de uno o más de esos indicadores se encuentran modificados en los sementales utilizados en el presente trabajo. Ello evidencia la necesidad de evaluar la función reproductiva de los sementales utilizados para mejoramiento genético, con mar-

growth and reproduction: lessons from the HPD sheep model. Comp Biochem Physiol C: Pharmacol Toxicol Endocrinol 1998;119:283–294.
8. LINCOLN GA. Neuroendocrine regulation of seasonal gonadotrophin and prolactin rhythms: lessons from the Soay ram model. Reprod Suppl 2002;59:131–147.
9. WAGNER GC, JOHNSTON JD, CLARKE IJ, LINCOLN GA, HAZLERIGG DG. Redefining the limits of day length responsiveness in a seasonal mammal. Endocrinology 2007;149:32-39.
10. RUSSEL A. Body condition scoring of sheep. In: E. BODEN, editor. Sheep and Goat Practice, Philadelphia, USA: Bailliere Tindal: 1991:156–162.
11. EVANS G, MAXWELL W. Inseminación artificial en ovejas y cabras. Zaragoza, España: Acribia, 1990.
12. BARRIL G, CHEMINEAU P, COGNIE Y, LEBOEUF B, ORGEUR P, VALLET J. Manuel de formation pour l'insemination artificielle chez les ovins et les caprins. Monnaie, France: Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, 1993.
13. VIJIL E, GONZALO C, RUIZ-POVEDA J, CIUDAD C. Entrenamiento del morueco; 1986, septiembre (SIN DATOS DE DÍAS); Palencia, España: Actas de las Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, 1986.
14. ZAR J. Biostatistical analysis. 4th ed. New York, USA. Prentice Hall. 1999.
15. STEEL RGD, TORRIE JH. Bioestadística: Principios y Procedimientos. 4ª ed. México DF: MacGraw Hill, Interamericana, 1997.
16. AVDI M, BANOS G, STEFOS K, CHEMINEAU P. Seasonal variation in testicular volume and sexual behavior of Chios and Serres rams. Theriogenology 2004;62:275–282.
17. FITZGERALD J, MORGAN G. Reproductive Physiology of the Ram. In: YOUNGQUIST SR, THRELFALL RW, editors. Current Therapy in Large Animal Theriogenology. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier, 2007: 617–620.
18. SANFORD LM, VOGLMAYR JK, VALE WW, ROBAIRE B. Photoperiod-mediated increases in serum concentrations of inhibin, follicle-stimulating hormone, and luteinizing hormone are accentuated in adult shortened-scrotum rams without corresponding decreases in testosterone and estradiol. Biol Reprod 1993;49:365–373.
19. BERNDTSON WE, IGBOELI G. Numbers of Sertoli cells, quantitative rates of sperm production, and the efficiency of spermatogenesis in relation to the daily sperm output and seminal quality of young beef bulls. Am J Vet Res 1989; 50:1193–1197.
20. LINCOLN G. Seasonal aspects of testicular function. In: BURGER H, DEKRETSER D, editors. The Testis. Comprehensive Endocrinology Revised Series, 2nd ed. New York, USA: Raven Press, 1989: 329–386.
21. MICKELSEN WD, PAISLEY LG, DAHMEN JJ. Seasonal variations in scrotal circumference, sperm quality, and sexual ability in rams. J Am Vet Med Assoc 1982;181:376–380.

cadores de la función espermática más específicos.

Las variables de la función reproductiva de los sementales Suffolk importados de Nueva Zelanda en 2005 por el Programa Estratégico de Ovinocultura del Estado de México, en su primera época reproductiva en México, siguen patrones generales semejantes a lo descrito para esta raza, independientemente de la unidad de producción en que se localizan.

Agradecimientos

Se agradece a la Universidad Autónoma del Estado de México (proyecto 2019/2005U), al Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México (Proyecto 175 ICAMEX) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) (Programa de Retención de Investigadores), de México, el apoyo para la realización de este trabajo.

22. WYROBEK AJ, BRUCE WR. Chemical induction of sperm abnormalities in mice. Proc Natl Acad Sci USA 1975;72:4425–4429.
23. MEISTRICH M, COLE A, CHERRY M, TROSTLE-WEIGE P. Nuclear and manchette development during spermiogenesis of normal and azh mutant mice. In: M ORGEBIN, DANZO B, editors. Cell Biology of Testis and Epididimys. New York, USA: Ann New York Acad Sci. 1987; 513:304–307.
24. AKINGBEMI BT. Estrogen regulation of testicular function. Reprod Biol Endocrinol 2005;3:51.
25. HESS RA. Estrogen in the adult male reproductive tract: a review. Reprod Biol Endocrinol 2003;1:52.
26. LINCOLN GA, LINCOLN CE, MCNEILLY AS. Seasonal cycles in the blood plasma concentration of FSH, inhibin and testosterone, and testicular size in rams of wild, feral and domesticated breeds of sheep. J Reprod Fertil 1990;88:623–633.
27. ARAGON M, REYES L, PESCADOR S. Chemical messengers as male germ cell apoptosis inducers. In: ERLICH SR, editor. Frontiers in cell apoptosis research. New York, USA: Nova Science Publishers, Inc. 2007:105–123.
28. ANZAR M, HE L, BUHR MM, KROETSCH TG, PAULS KP. Sperm apoptosis in fresh and cryopreserved bull semen detected by flow cytometry and its relationship with fertility. Biol Reprod 2002;66:354–360.
29. GRUNEWALD S, MISKA W, MISKA G, RASCH M, REINHARDT M, GLANDER HJ et al. Molecular glass wool filtration as a new tool for sperm preparation. Hum Reprod 2007;22:1405–1412.
30. MARTI E, PEREZ-PE R, COLAS C, MUIÑO-BLANCO T, CEBRIAN-PEREZ JA. Study of apoptosis-related markers in ram spermatozoa. Anim Reprod Sci 2007;106:113-132.
31. EVENSON D, JOST L. Sperm chromatin structure assay is useful for fertility assessment. Methods Cell Sci 2000;22:169–89.