

Influencia del nivel nutricional sobre la calidad seminal y el comportamiento sexual de los machos cabríos tratados con días largos artificiales

Influence of nutritional level on seminal quality and sexual behavior of male goats treated with artificial long days

Manuel de Jesús Flores Nájera^{a*}, Cesar Augusto Rosales Nieto^b, Leonardo Iván Vélez Monroy^a, Adán Ulises Chávez Solís^c

^a Campo Experimental La Laguna. INIFAP. Blvd. José Santos Valdés Núm. 1200 Pte. C.P 27440. Matamoros, Coahuila, México.

^b Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Autónoma de San Luis. Ejido Palma de la Cruz S/N. Soledad de Graciano Sánchez. C.P 78321. San Luis Potosí, México.

^c Campo Experimental Bajío. INIFAP. Carretera Celaya-San Miguel de Allende km 6.5. C.P 38010. Celaya, Guanajuato, México.

RESUMEN

Para evaluar si el nivel nutricional modifica la calidad seminal y el comportamiento sexual de los machos cabríos tratados con días largos artificiales. Diez y seis machos cabríos fueron divididos en dos tratamientos difiriendo en su nivel alimenticio. Un grupo de machos recibió el 75 % de sus requerimientos nutricionales de mantenimiento y reproducción (G-75; n=8), mientras que otro grupo recibió el 120 % (G-120; n=8). La circunferencia escrotal fue menor en el grupo G-75 que la registrada en el grupo G-120 ($P < 0.01$). Similarmente, el volumen de eyaculado y el número total de espermatozoides por eyaculado fueron menores en el grupo G-75 (0.5 ± 0.05 mL y 1.9×10^9 , respectivamente) que en el grupo G-120 (0.7 ± 0.1 mL y 3.0×10^9 , respectivamente; $P < 0.001$). La motilidad espermática fue menor en el grupo G-75 (2.6 ± 0.1), que en el grupo G-120 (3.2 ± 0.1 ; $P < 0.001$). La latencia a la eyaculación fue mayor en los machos del grupo G-75, que la registrada en el grupo G-120 ($P < 0.001$). Los resultados del presente estudio demuestran que, en los machos cabríos criollos tratados con 2.5 meses de días largos artificiales, la reducción de un 25% de sus requerimientos nutricionales afectó la calidad seminal y la latencia a la eyaculación durante el periodo de reposo sexual.

Palabras claves: Machos cabríos, Comportamiento sexual, Nutrición, Días largos artificiales, Calidad seminal.

ABSTRACT

The objective was to determine if the nutritional level reduces seminal quality and sexual behavior of the male goats treated with artificial long days. Sixteen male goats were divided into two treatments differing in their nutritional level. A group of males received 75 % of their maintenance and reproduction nutritional requirements (G-75; n=8), while another group received 120 % (G-120; n=8). The results shown that scrotal circumference was lower in the G-75 group, than that of group G-120 ($P < 0.01$). Similarly, the ejaculate volume and total number of sperm per ejaculate

were lower in the G-75 group (0.5 ± 0.05 mL and 1.9×10^9 , respectively) than in the G-120 group (0.7 ± 0.1 mL and 3.0×10^9 , respectively; $P < 0.001$). Sperm motility was lower ($P < 0.001$) in the G-75 group (2.6 ± 0.1) than in the G-120 group (3.2 ± 0.1). The ejaculation latency was higher in males of the G-75 group than that registered in the G-120 group ($P < 0.001$). The results of the present study demonstrate that, in creole male goats treated with 2.5 months of artificial long days, and a 25% reduction in their nutritional requirements, affected seminal quality and latency to ejaculation during the natural nonbreeding season.

Key words: Male goats, Sexual behavior, Nutrition, Artificial long-days, Seminal quality.

INTRODUCCIÓN

En el subtrópico mexicano, la actividad sexual y endocrina de los machos cabríos locales muestra variaciones estacionales a través del año. La actividad sexual inicia en mayo y termina en diciembre, con un periodo de reposo sexual de enero a abril. El periodo de actividad sexual en estos animales, se caracteriza principalmente, por un alto peso testicular, elevadas concentraciones de testosterona y una alta producción espermática (Delgadillo *et al.*, 1999). La estacionalidad reproductiva que presentan estos animales, es controlada por cambios en el fotoperiodo. El peso testicular y las concentraciones de testosterona, se incrementan durante los días cortos y se reducen durante los días largos (Delgadillo *et al.*, 2004a).

En el norte de México, el fotoperiodo es utilizado para inducir la actividad sexual de los machos durante el periodo de reposo sexual (Delgadillo *et al.*, 2004b). En los machos alimentados al 100% de sus necesidades nutricionales y expuestos a 2.5 meses de días largos (16 h luz: 8 oscuridad), a partir del 1 de noviembre, seguido de un implante de melatonina o de días naturales, se estimula su comportamiento sexual (latencia a la monta) y la secreción de testosterona de febrero a abril (Delgadillo *et al.*, 2001, 2002). Además, las características cuantitativas y cualitativas del semen de los ma-

chos tratados son mejores que las obtenidas por los machos no tratados. Similarmente, en los machos alimentados bajo condiciones de pastoreo extensivo, la exposición a un tratamiento fotoperiódico de 2.5 meses de días largos seguido de días naturales, la intensidad del olor y el peso testicular se empieza a incrementar después de la quinta semana de terminar el tratamiento de luz (Cruz-Castrejon *et al.*, 2007). Estos estudios demuestran que la actividad sexual y endocrina de los machos cabríos puede ser estimulada eficazmente durante el período de reposo sexual usando días largos artificiales. Sin embargo, otros estímulos medioambientales tales como la disponibilidad de alimento y las interacciones sociales pueden modificar la calidad de la respuesta de los machos al tratamiento fotoperiódico. Por ejemplo, en algunas razas de cabras (Cashmere) y ovejas (Merino) que presentan una moderada estacionalidad reproductiva, la nutrición, es un fuerte modulador del inicio de la actividad sexual (Martin *et al.*, 2010). En estas razas, la respuesta reproductiva a la nutrición puede ser evaluada en dos niveles; uno llamado de corto plazo (< 10 días), en el cual la nutrición actúa principalmente a nivel sistema neuroendocrino que controla la secreción de gonadotropinas (Martin *et al.*, 1994) y otro llamado de largo plazo (> 3 semanas), en el cual la nutrición tiene un efecto sobre el peso, y la condición corporal, así como también en la circunferencia escrotal y la producción espermática (Walkden-Brown *et al.*, 1994a; Hotzel *et al.*, 2003; Flores *et al.*, 2010). En los carneros y machos cabríos, por ejemplo, está bien documentado que los cambios en la dieta por arriba o por debajo de los requerimientos nutricionales para mantenimiento y reproducción induce cambios importantes en el crecimiento testicular y la producción espermática (Martin *et al.*, 2010). En los carneros de la raza Merino, la producción espermática fue mayor en los machos suplementados con grano de lupino (26×10^6 espermatozoides/g de testículo por día), que en los machos no suplementados (18×10^6 espermatozoides/g de testículo por día; Oldham *et al.*, 1979). Similarmente, en los machos cabríos de la raza Cashmere en Australia, una dieta de baja calidad provocó una disminución del volumen testicular y una baja producción espermática, en comparación a los machos alimentados con una dieta de alta calidad (Walkden-Brown *et al.*, 1994a). Estos hallazgos sugieren que la influencia de la nutrición que actúa sobre la actividad reproductiva del macho puede ser determinante en el éxito del fotoperíodo artificial durante el periodo de reposo sexual.

En este contexto, el objetivo del presente estudio fue evaluar la influencia del nivel nutricional sobre la calidad seminal y el comportamiento sexual de los machos cabríos tratados con días largos artificiales (16 h luz: 8 h oscuridad).

MATERIALES Y MÉTODOS

El procedimiento experimental reportado en la presente publicación cumple con la Norma Oficial Mexicana para las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999) (SAGARPA, 2001).

Localidad

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Campo Experimental La Laguna, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, ubicado a $26^{\circ} 23'N$ y $104^{\circ} 47'O$ y a una altitud de 1,140 msnm, con clima semi-desértico, temperatura media de $20.3^{\circ}C$ y una precipitación media anual de 266 mm.

Diseño experimental

Los machos cabríos ($n=16$; 2 años de edad), utilizados en el presente estudio fueron obtenidos de un rebaño caprino del sistema de producción extensivo característico de la Comarca Lagunera (Coahuila, México). Estos animales derivan de las razas españolas, Granadina, Murciana y Malagueña que fueron importadas a México en el siglo XVI. En esta región, durante los últimos 60 años, esta población de animales ha sido cruzada con razas como la Alpina, Saanen y Anglo-Nubia para mejorar la producción de leche y carne (Delgadillo *et al.*, 2011).

Tratamiento fotoperiódico

El grupo de 16 animales fue dividido en dos grupos experimentales balanceados por peso, condición corporal y circunferencia escrotal (Tabla 1). Ambos grupos fueron sometidos a un tratamiento fotoperiódico para inducir su actividad sexual. El tratamiento consistió de 16 h luz y 8 h oscuridad aplicados del 1 de noviembre al 15 de enero de 2017. Para ello, el corral (10x4m) fue equipado con lámparas fluorescentes que emitían una intensidad luminosa de 300 lux a nivel de los ojos de los animales. Las luces fueron encendidas de 0600 a 0900 h y de 1700 a 2200 h para extender

Tabla 1. Peso vivo inicial y final (media \pm EEM), condición corporal y circunferencia escrotal de machos tratados con días largos artificiales que recibieron el 75% (G-75) o el 120% (G-120) de sus requerimientos nutricionales de mantenimiento y reproducción.

Table 1. Initial and final live weight (mean \pm SEM), body condition score and scrotal circumference of males treated with artificial long days who received 75% (G-75) or 120% (G-120) of their requirements nutritional of maintenance and reproduction.

Mediciones	Grupos experimentales	
	G-75	G-120
Peso vivo (kg)		
Inicial	42.5 \pm 2.5	41.7 \pm 1.8
Final	40.2 \pm 1.2	53.1 \pm 2.7
Condición corporal (puntos)		
Inicial	3.1 \pm 0.1	2.1 \pm 0.1
Final	1.6 \pm 0.1	2.8 \pm 0.1
Circunferencia escrotal (cm)		
Inicial	27.3 \pm 0.8	26.9 \pm 0.9
Final	26.5 \pm 0.1	30.0 \pm 0.8

G-75= Grupos de machos que recibió el 75% de sus requerimientos nutricionales.

G-120= Grupo de machos que recibió el 120% de sus requerimientos nutricionales.

la duración del día natural y obtener un total de 16 h luz por día. Al terminar el tratamiento de luz (16 de enero), los machos percibieron las variaciones naturales del fotoperiodo que, fluctuó en promedio 07:18 h al amanecer a 19:01 h al anochecer, resultando en una duración promedio del día de 11 h 42 min.

Nivel nutricional y manejo

Del 1 de noviembre de 2016 al 15 de enero del 2017 (tratamiento de días largos artificiales), los machos fueron alimentados a libre acceso con heno de alfalfa (18% PC, 1.95 Mcal de EM/kg de MS) y 300 g de concentrado comercial (14% PC, 1.7 Mcal de EM/kg de MS). A partir del 16 de enero y hasta el 15 de abril, un grupo de machos (G-75; n=8), recibió el 75% de sus requerimientos correspondientes al estado de mantenimiento y reproducción (NRC, 2007). En este grupo el consumo diario promedio fue de 1.1 kg MS con 2.1 Mcal de EM y 71 g de proteína. El otro grupo de machos (G-120; n=8), recibió el 120% de sus requerimientos nutricionales de mantenimiento y reproducción. El consumo en este grupo fue de 1.8 kg MS con 3.4 Mcal de EM y 112 g de PC. La dieta base utilizada en ambos tratamientos experimentales estuvo compuesta de heno de alfalfa (10%), heno de avena (30%), concentrado comercial (5%), rastrojo de maíz (50%) y melaza (5%). El consumo de materia seca fue ajustado semanalmente considerando el 3% del peso vivo de los animales. La alimentación fue proporcionada dos veces al día (09:00 h y 16:00 h). Para evitar la dominancia social entre los machos al momento de servir la alimentación, cada uno de los corrales (12 x 6 m, 1 corral/grupo) fue equipado con comederos individuales que permitían que cada uno de los machos consumiera su ración de acuerdo a su peso corporal. Todos los machos tuvieron acceso libre al agua y a las sales minerales que fueron proporcionadas en bloques de 25 kg (Cebú, Salinas del Rey, Torreón, Coahuila, México) conteniendo al menos 17% de P, 2% Mg, 1.5% Ca y 75% NaCl.

Mediciones

Peso corporal

El peso vivo fue medido cada quince días durante el tratamiento de días largos artificiales, y durante el tratamiento nutricional fue medido cada semana. Para ello, se utilizó una báscula móvil con una capacidad de 500 kg y una precisión de 100 g. Antes de llevar a cabo cada medición, todos los animales fueron sometidos a un periodo de 12 horas de ayuno.

Condición corporal

La condición corporal fue determinada cada quince días durante el tratamiento de días largos y al iniciar el tratamiento nutricional, la medición fue realizada cada semana mediante la técnica descrita por Walkden-Brown *et al.* (1997), la cual consistió en palpar la cantidad de tejido muscular y graso de la región lumbar del animal, usando la escala de 1 para animales muy delgados a 4 para animales obesos.

Circunferencia escrotal

La circunferencia escrotal fue determinada cada quince días durante el tratamiento de días largos y a partir de iniciar el tratamiento nutricional la medición fue realizada cada semana usando una cinta métrica flexible graduada en milímetros; la medición fue tomada de la parte más ancha de ambos testículos.

Intensidad del olor

La intensidad del olor fue determinada semanalmente mediante la técnica reportada por Walkden-Brown *et al.* (1994a), que consiste en oler la parte posterior de la región de la base de los cuernos a una distancia de 15 cm, la cual tiene una correlación positiva con la testosterona plasmática responsable de la actividad sexual de los machos. La técnica considera una escala de 0 a 3, donde el valor de 0 corresponde a olor neutro o igual a hembras o macho castrado, el valor de 1 corresponde a olor sexual ligero, 2 olor sexual moderado y el valor de 3 olor sexual intenso.

Medición de glucosa

Durante el tratamiento nutricional, las concentraciones de glucosa fueron determinadas cada semana. Una muestra de sangre (2 gotas) fue colectada a las 7 de la mañana por medio veno-punción yugular y puesta en una tira reactiva. La concentración de glucosa fue determinada usando un glucómetro (Accu Chek Sensor Comfort, Roche, México). El rango del glucómetro usado fue de 20 a 600 mg de glucosa/dL de sangre.

Calidad seminal

La calidad seminal fue evaluada durante cuatro días consecutivos por semana por un periodo de 13 semanas iniciando una semana antes de iniciar el tratamiento nutricional. En cada periodo de evaluación, el semen de los machos fue colectado a las 10:00 h usando una vagina artificial previamente preparada con agua a una temperatura de 40°C. Para la colección del semen, los machos fueron expuestos por un periodo de 5 minutos a una hembra intacta inducida al estro (Delgadillo *et al.*, 1991). La inducción de la hembra al estro fue realizada dos veces por semana mediante una inyección intramuscular de 2 mg de cipionato de estradiol. Inmediatamente después de la colección del semen, la motilidad espermática progresiva fue observada en un microscopio (x400; Cx LABOMED, Inc. USA). Para ello, una gota de semen no diluido fue colocado entre un portaobjetos y un cubreobjetos de vidrio precalentado (37°C). La escala empleada para esta medición fue de 0 a 5, donde 0 indica células sin movimiento y el valor de 5 corresponde a movimiento de células progresivo muy rápido (Delgadillo *et al.*, 1999). La concentración espermática ($\times 10^9$) fue determinada con fotómetro Spermacue (Mexitube). El volumen del eyaculado (mL) se midió leyendo directamente de un tubo graduado, cuya capacidad fue de 15 mL y una graduación de 0.1 mL. El número total de espermatozoides por eyaculado ($\times 10^9$) se obtuvo multiplicando el volumen del eyaculado por

la concentración espermática. Para este estudio, todos los machos fueron entrenados un mes antes de iniciar el estudio y la colección de semen fue realizado y evaluado siempre por la misma persona.

Comportamiento sexual

Además, en cada evaluación del semen, la actividad sexual fue determinada registrando la latencia a la eyaculación. Esta medición se consideró como el tiempo transcurrido entre la entrada del macho con la hembra y la eyaculación en la vagina artificial.

Análisis estadístico

El peso, la circunferencia escrotal y las concentraciones de glucosa fueron analizados mediante un análisis de varianza a dos vías (grupo y tiempo del experimento) con medidas repetidas. Dada la naturaleza ordinal de los datos de condición corporal, esta variable fue analizada para efecto de semana dentro de cada grupo usando la prueba de Friedman y, para la comparación entre los dos grupos en un tiempo determinado se utilizó la prueba de Mann-Whitney. Los datos de la intensidad del olor fueron analizados con la prueba de U de Mann-Whitney. La latencia a la eyaculación, la motilidad espermática progresiva, la concentración espermática, volumen de eyaculado y número total de espermatozoides por eyaculado fueron sometidos a un análisis de varianza a dos vías (grupo y tiempo del experimento). Cuando existió una interacción entre grupo y tiempo, los datos fueron comparados dos a dos con una prueba de "t". Un análisis de correlación simple de Pearson fue desarrollado usando los datos de circunferencia escrotal, peso corporal, volumen de semen y número de espermatozoides por eyaculado. Los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico SYSTAT 12.

RESULTADOS

Peso corporal

Durante el tratamiento de días largos artificiales el peso corporal promedio no difirió entre grupos experimentales ($P > 0.05$). Sin embargo, durante el tratamiento nutricional, el peso fue más alto en el grupo G-120, que el registrado en el grupo G-75 ($P < 0.001$; Figura 1). Además, el efecto del nivel nutricional sobre el peso corporal difirió dependiendo del tiempo de estudio (interacción; $P < 0.0001$). Así, a partir de la tercera semana de iniciado el tratamiento nutricional y hasta finalizar el estudio, el peso corporal fue más alto en los machos del grupo G-120 (52.3 ± 1.8 kg), que el obtenido en el grupo G-75 (42.9 ± 2.1 kg; $P < 0.01$).

Condición corporal

La condición corporal promedio evaluada durante el tratamiento de días largos no difirió entre los tratamientos ($P > 0.05$). No obstante, durante el tratamiento nutricional, la condición corporal fue mayor en los machos del grupo G-120 que la obtenida en los machos del grupo G-75 ($P < 0.05$; Figura 1). En ambos grupos, la condición corporal varió a través de todo el estudio ($P < 0.0001$). De hecho, una interacción fue

encontrada entre el nivel nutricional y el tiempo de estudio ($P < 0.001$). A partir de la cuarta semana de iniciado el tratamiento nutricional, y hasta el finalizar el estudio, la condición corporal fue más alta en los machos del grupo G-120 (3.0 ± 0.06), que la registrada en los machos del grupo G-75 (1.8 ± 0.08 ; $P < 0.001$).

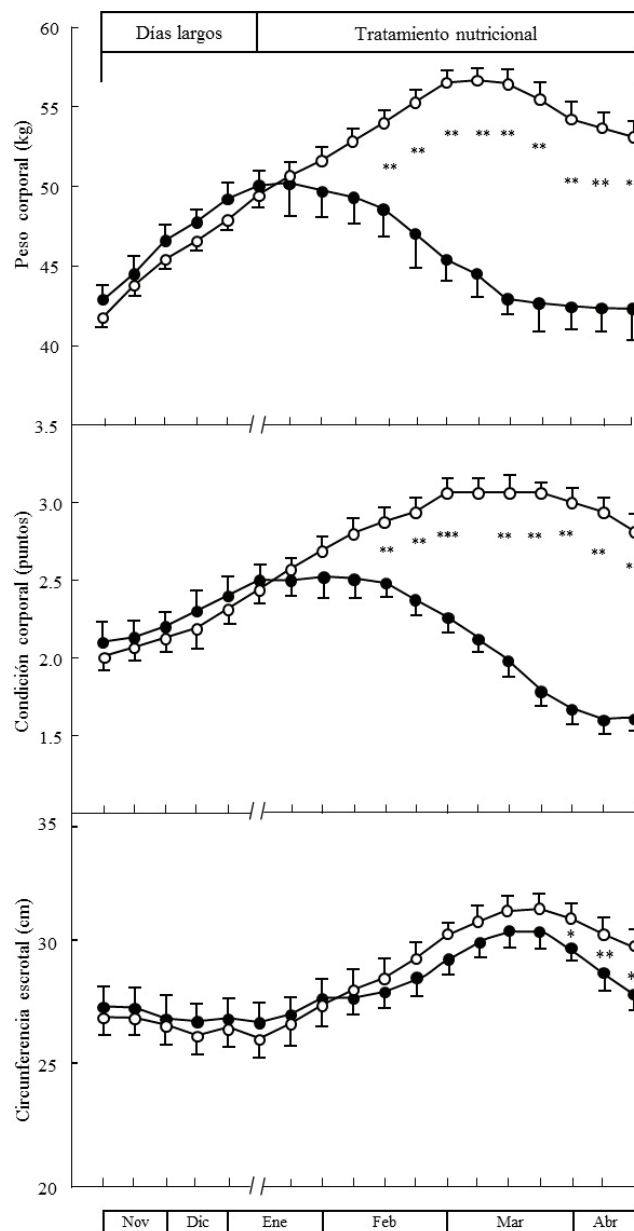


Figura 1. Circunferencia escrotal, peso y condición corporal promedio (\pm EEM) de machos cabrios tratados con días largos que recibieron el 75% (G-75, ●) o el 120% (G-120, ○) de sus requerimientos nutricionales. Diferencias significativas entre tratamientos son indicadas por un asterisco (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$).

Figure 1. Mean scrotal circumference, weight and body condition score (\pm SEM) of male goats treated with artificial long days that received 75% (G-75, ●) or 120% (G-120, ○) of the their nutritional requirements. Significant differences between treatments are indicate by an asterisk (* $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$).

Circunferencia escrotal

Durante el tratamiento de días largos artificiales la circunferencia escrotal promedio no difirió entre grupos ($P > 0.05$). Igualmente, durante el tratamiento nutricional, la circunferencia escrotal no difirió entre tratamientos ($P > 0.05$). Sin embargo, hubo un efecto del tiempo de estudio ($P < 0.001$), así como una interacción entre el tratamiento y el tiempo sobre la circunferencia escrotal ($P < 0.01$; Figura 1). En efecto, durante las últimas tres semanas de estudio, la circunferencia escrotal fue más alta en los machos del grupo G-120 (30.4 ± 0.8 cm) que la registrada en el grupo G-75 (27.0 ± 0.9 cm; $P < 0.01$).

Intensidad del olor

No hubo un efecto del tratamiento nutricional sobre la intensidad del olor ($P > 0.05$; Tabla 2). Tampoco, hubo una interacción entre el tratamiento y el tiempo sobre esta variable ($P > 0.05$). En ambos grupos, la intensidad del olor fluctuó a través del estudio ($P < 0.001$), siendo el valor de 0 (olor neutro) al inicio del estudio a 2.4 al finalizar el estudio (olor sexual moderado a intenso; $P < 0.01$).

Concentraciones de glucosa

Las concentraciones de glucosa promedio fueron más altas en los machos del grupo G-120 que en los del grupo G-75 ($P < 0.001$; Tabla 2). En ambos tratamientos, hubo un efecto del tiempo sobre las concentraciones de glucosa ($P < 0.001$). Ninguna interacción fue observada entre el nivel nutricional y el tiempo de estudio ($P > 0.05$).

Producción espermática

Volumen de eyaculado

El volumen de eyaculado promedio fue mayor en los machos del grupo G-120, que en el grupo G-75 ($P < 0.001$; Tabla 2). Además, el efecto del nivel nutricional sobre el volumen de eyaculado difirió dependiendo del tiempo de estudio ($P < 0.001$). A partir de la segunda semana de marzo y hasta finalizar el estudio, el volumen de eyaculado fue más alto en los machos del grupo G-120 (1.0 ± 0.1 mL), que el obtenido en el grupo G-75 (0.5 ± 0.05 mL).

Concentración espermática

La concentración espermática promedio (espermatozoides/mL) fue mayor en el grupo G-120, que en el grupo G-75 ($P < 0.01$; Tabla 2). Además, la concentración espermática varió a través del tiempo ($P < 0.01$; Figura 2). Ninguna interacción fue encontrada entre el nivel nutricional y el tiempo de estudio sobre la concentración espermática ($P > 0.05$).

Motilidad espermática progresiva

La motilidad espermática progresiva promedio fue más alta en los machos del grupo G-120 (3.2 ± 0.1) que la obtenida en el grupo G-75 (2.6 ± 0.1 ; $P < 0.001$). En ambos grupos, la motilidad incrementó a través del tiempo ($P < 0.001$; Figura 2). Ninguna interacción fue encontrada entre el tratamiento nutricional y el tiempo sobre la motilidad espermática ($P > 0.05$).

Número total de espermatozoides por eyaculado

El número total de espermatozoides por eyaculado promedio fue mayor en el grupo G-120 (3.0×10^9) que en el grupo G-75 ($1.9 \pm 0.3 \times 10^9$; $P < 0.001$). Además, el número de espermatozoides se incrementó a través del tiempo ($P < 0.001$; Figura 2). Ninguna interacción fue encontrada entre el nivel nutricional y el tiempo el tiempo de estudio sobre el número total de espermatozoides por eyaculado ($P > 0.05$).

Comportamiento sexual

Latencia a la eyaculación

La latencia a la eyaculación fue más alta en los machos del grupo G-75 (109.9 ± 13.0 s), que la observada en el grupo G-120 (48.0 ± 4.3 s; $P < 0.001$). Además, en ambos grupos experimentales la latencia varió a través del tiempo ($P < 0.001$; Figura 2). Ninguna interacción fue encontrada entre el tratamiento nutricional y el tiempo sobre la latencia a la eyaculación ($P > 0.05$). En el grupo G-75, la latencia a la eyaculación fue negativamente correlacionada con el peso corporal ($r = -0.63$; $P < 0.02$).

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio demuestran que, la restricción nutricional de un 25% de sus necesidades

Tabla 2. Concentraciones de glucosa (media \pm EEM), intensidad del olor, volumen de eyaculado y concentración espermática de machos cabríos tratados con días largos que recibieron el 75% (G-75) o el 120% (G-120) de sus requerimientos nutricionales.

Table 2. Glucose concentrations (mean \pm SEM), odor intensity, ejaculate volume and sperm concentration of male goats treated with long days that received 75% (G-75) or 120% (G-120) of their nutritional requirements.

Mediciones	Grupos experimentales		Probabilidad		
	G-75	G-120	G	G x T	T
Glucosa (mg/dL)	38.9 ± 0.6	41.2 ± 0.6	0.001	0.160	0.001
Intensidad del olor (puntos)	2.3 ± 0.5	2.6 ± 0.3	0.860	0.535	0.01
Volumen de eyaculado (mL)	0.5 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.001	0.001	0.001
Concentración espermática ($\times 10^9$)	3.9 ± 0.3	4.3 ± 0.9	0.01	0.484	0.01

G= Efecto grupo; GXT= Interacción grupo x tiempo; T= Efecto tiempo

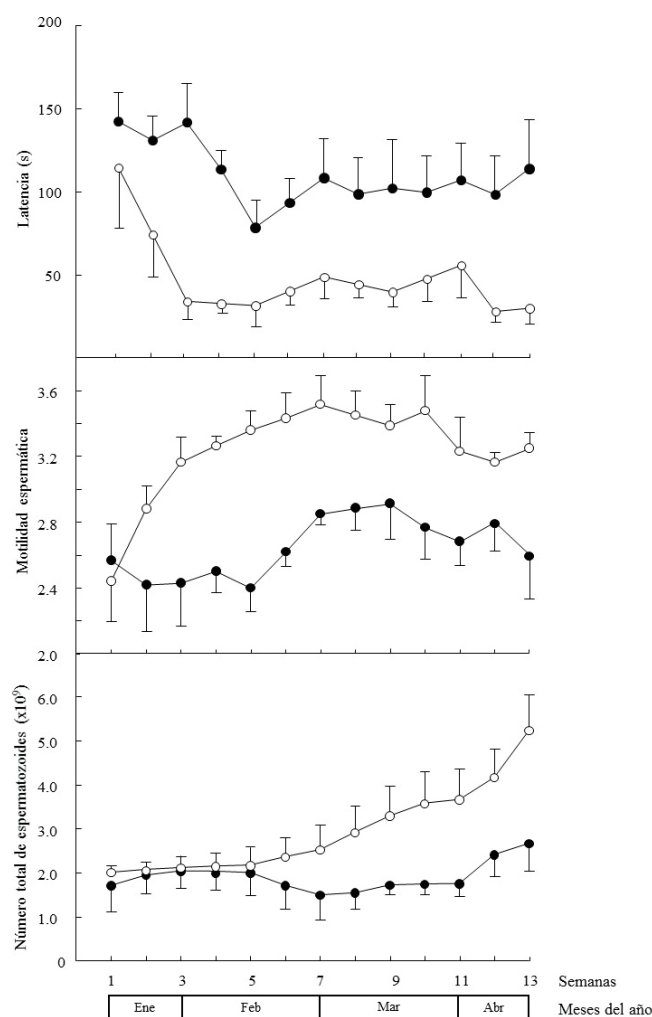


Figura 2. Calidad seminal de machos cabríos tratados con días largos que recibieron el 75% (G-75, ●) o el 120% (G-120, ○) de sus requerimientos nutricionales (media \pm EEM).

Figure 2. Seminal quality of male goats treated with artificial long days that received 75% (G-75, ●) or 120% (G-120, ○) of their nutritional requirements (mean \pm SEM).

nutricionales redujo la calidad seminal y el comportamiento sexual de los machos cabríos criollos tratados con 2.5 meses de días largos artificiales. En efecto, durante el periodo de actividad sexual, los valores de volumen de semen, motilidad espermática progresiva, concentración espermática y el número de espermatozoides por eyaculado fueron menores en los machos del grupo G-75 que los registrados en los machos del grupo G-120, los cuales fueron alimentados con una dieta que cubrió el 120% de sus requerimientos nutricionales. La latencia a la eyaculación (un índice del comportamiento sexual de los machos), fue más alta en los machos del grupo G-75, que la obtenida en los machos del grupo G-120.

La calidad espermática y el comportamiento sexual observado en los machos del grupo G-120 confirman lo previamente reportado por Delgadillo *et al.* (2001). En ese estudio, el cual se desarrolló con machos alimentados al 100% de sus requerimientos nutricionales, las características cuantitativas y cualitativas del semen se incrementaron de

febrero a abril, alcanzando su máximo nivel 10 semanas después de terminar el tratamiento de días largos. En el presente estudio, la motilidad espermática, el volumen de eyaculado y el número de espermatozoides por eyaculado, se empezaron a incrementar a partir del mes de febrero, alcanzando su máximo nivel entre marzo y abril. Estos resultados y los reportados por Delgadillo *et al.* (2001) confirman claramente que, en los machos cabríos alimentados al 120% de sus necesidades nutricionales, la aplicación de 2.5 meses de días largos artificiales seguido de días naturales pueden ser utilizados eficazmente para inducir la actividad sexual e incrementar la calidad espermática durante el periodo de reposo sexual. Sin embargo, en comparación a los machos del grupo G-120, en el grupo G-75, el tratamiento nutricional causó una ligera reducción de la circunferencia escrotal al final del estudio, así como también una reducción de la calidad espermática, y un incremento de la latencia a la eyaculación, principalmente en los meses de marzo y abril. Estos resultados demuestran que a pesar de que los días largos artificiales son efectivos para inducir la actividad sexual de los machos durante el periodo de reposo sexual, la reducción de un 25% de los requerimientos nutricionales al finalizar el tratamiento de luz afectó considerablemente las características cualitativas y cuantitativas del semen. Estos resultados concuerdan con los reportados por otros autores, quienes indican que la reducción de la circunferencia escrotal y, por lo tanto, la producción espermática depende básicamente del estado nutricional de los animales (Walkden-Brown *et al.*, 1994a). En los machos cabríos Cashmere Australianos, por ejemplo, una dieta de baja calidad, redujo la circunferencia escrotal, la intensidad del olor y las concentraciones de testosterona durante los primeros tres meses del estudio. Asimismo, en los carneros de la raza Sardinian en Italia, una dieta de baja calidad proporcionada durante un periodo de 90 días redujo el volumen del eyaculado, la motilidad masal y la concentración espermática (Tufarelli *et al.*, 2011).

El mecanismo mediante el cual la nutrición reduce la calidad espermática en los machos cabríos aún no está totalmente entendido. Sin embargo, una posibilidad puede estar asociada al tamaño de la circunferencia escrotal de los machos, el cual es un fuerte predictor de la producción espermática (Walkden-Brown *et al.*, 1994b). En el presente estudio, a pesar de que en ambos grupos se observó un incremento en la circunferencia escrotal durante el tratamiento nutricional. La circunferencia escrotal fue ligeramente mayor en el grupo G-120, lo cual pudo haber mejorado las características cuantitativas del semen, en comparación a los machos del grupo G-75. Estudios similares han sido reportados en carneros y machos cabríos; en estas especies, el consumo de una dieta de alta calidad incrementó el tamaño testicular y la producción espermática, en comparación a los machos que recibieron una dieta de baja calidad (Walkden-Brown *et al.*, 1994a; Oldham *et al.*, 1978; Murray *et al.*, 1990).

Otra posibilidad puede estar asociada a la eficiencia con la cual los gametos son producidos por el tejido testicular. Por ejemplo, en un estudio desarrollado en carneros,

se encontró que la pérdida de un 25% del peso testicular, condujo a una reducción del 46% en la producción espermática por gramo de testículo por día (Oldham *et al.*, 1978). En nuestro estudio, la disminución de 2.2 cm en la circunferencia escrotal observada en los machos del grupo G-75, puede estar asociado a una reducción del 54% en el número total de espermatozoides por eyaculado.

Además, el efecto de la nutrición sobre la circunferencia escrotal y el número de espermatozoides por eyaculado encontrados en el presente estudio, pueden estar asociados a cambios morfométricos a nivel testicular. En carneros, se demostró que la longitud y diámetro de los túbulos seminíferos fue mayor en los testículos de machos alimentados con una dieta de alta calidad que la de los machos alimentados con una dieta de baja calidad (Hotzel *et al.*, 1998). De hecho, Pisselet *et al.* (1984) encontraron una correlación positiva entre el diámetro testicular y la longitud de los túbulos seminíferos.

Recientes estudios desarrollados en carneros, se encontró que la desnutrición no sólo afecta la producción espermática, sino también perjudica considerablemente la calidad de los espermatozoides (Guan y Martin, 2017). En nuestro estudio, la reducción de un 25% de los requerimientos nutricionales de los machos no solo afectó el número de espermatozoides por eyaculado, sino que podría haber ocasionado un daño del ADN de las células espermáticas y una disminución en la velocidad espermática (Guan *et al.*, 2014). De hecho, en carneros se reportó que el daño ocasionado en el ADN espermático, fue correlacionado inversamente con el cambio en la circunferencia escrotal, con la motilidad espermática progresiva y con el número de espermatozoides por gramo de testículo (Guan *et al.*, 2014). Esta reducción en la calidad del espermatozoide inducida por la desnutrición, es causada al menos en parte, por un aumento de la apoptosis de las células germinales (Guan *et al.*, 2015) y a una alteración en la función de las células de Sertoli (Guan *et al.*, 2016).

Por otro lado, es probable que la respuesta corto plazo del sistema neuroendocrino que controla la actividad testicular de los machos haya sido afectado por el nivel nutricional. En efecto, se ha demostrado que incrementar el nivel nutricional por arriba de los requerimientos de mantenimiento conduce a un rápido aumento en la frecuencia de pulsos de LH (Martín y Walkden-Brown, 1995). En carneros, por ejemplo, la frecuencia de pulsos de LH determinada en un periodo de 6-8 h, se incrementó de 2 a 3 veces más en los animales alimentados con una dieta al doble de su mantenimiento, que los alimentados solo con una dieta de mantenimiento (Martin *et al.*, 1994b). Sin embargo, la alta frecuencia pulsátil de LH fue mantenida sólo por cuatro semanas, posteriormente, los valores volvieron a descender a pesar de mantener el alto consumo de energía. La vía mediante la cual las señales nutricionales periféricas modulan la actividad de las células de GnRH-LH a corto plazo aún no está totalmente determinado. No obstante, parece que en la señalización del intestino al cerebro pueden estar involucradas algunas hormonas metabólicas, especialmente leptina e insulina, así

como las concentraciones de ácidos grasos y glucosa (Blache *et al.*, 2000).

En el presente estudio, el nivel nutricional también modificó el comportamiento sexual de los machos. En el grupo G-75, los machos tardaron más tiempo en eyacular (latencia a la eyaculación) que los machos del grupo G-120. En este último grupo, la latencia a la eyaculación fue similar a la previamente reportada por otros autores, en machos cabríos tratados con días largos artificiales y melatonina (Delgadillo *et al.*, 2001). En ese estudio, el cual se realizó con machos alimentados al 100% de sus necesidades nutricionales, la latencia a la eyaculación fue similar a la obtenida en el grupo G-120 (48 s). La reducción de la latencia a la eyaculación registrada en este grupo de machos, se debió probablemente a un incremento de la secreción de testosterona inducida por el tratamiento fotoperiódico (Hotzel *et al.*, 2003). En cambio, la latencia a la eyaculación determinada en los machos del grupo G-75, concuerda con los datos reportados en machos cabríos de la raza Payoya (Zarazaga *et al.*, 2009). En esta raza, la latencia a la eyaculación fue positivamente influenciada por el nivel nutricional. Así, los machos que recibieron 1.1 veces sus necesidades de mantenimiento, incrementó la latencia a la eyaculación a 61.6 s. En cambio, en los machos alimentados 1.6 veces sus necesidades de mantenimiento, la latencia se redujo a 43.2 s. Aunque el preciso mecanismo mediante el cual la nutrición afecta el comportamiento sexual de los machos aún no está totalmente comprendido. Se ha sugerido que el incremento de la latencia a la eyaculación observada en los machos del grupo G-75 (109 s), se deba a una pérdida de peso, más que un efecto del nivel nutricional sobre los centros neurales que controlan la libido del macho (Parker *et al.*, 1972). En el presente estudio, los machos del grupo G-75 perdieron más peso (20%) que los del grupo G-120. Otra posibilidad puede ser estar asociado a una reducción de los niveles de energía de los animales, puesto que en el grupo G-75, los niveles de glucosa fueron menores a los observados en el grupo G-120, y esta condición pudo haber afectado el rendimiento sexual de los machos.

CONCLUSIONES

Estos resultados sugieren que, a pesar de que los días largos artificiales son efectivos para inducir la actividad sexual de los machos durante el periodo de reposo sexual, una reducción de un 25% de sus necesidades nutricionales proporcionada al finalizar el tratamiento de luz, afectó el comportamiento sexual de los machos, y redujo considerablemente las características cualitativas y cuantitativas del semen. Sin embargo, la alimentación de los machos por arriba de sus necesidades nutricionales (120%), mejoró notablemente el comportamiento sexual y las características del semen.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al INIFAP Campo Experimental La Laguna por el apoyo financiero otorgado a la Unidad de Reproducción Caprina (proyecto: 950512897).

REFERENCIAS

- Cruz-Castrejón, U., Veliz, F.G., Rivas, R., Flores, J.A., Hernández, H., Duarte, G. 2007. Respuesta de la actividad sexual a la suplementación alimenticia de machos cabríos tratados con días largos, con un manejo extensivo a libre pastoreo. *Técnica Pecuaria México*. 45:93-100.
- Blache, D., Chagas, L.M., Blackberry, M.A., Vercoe, P.E., Martin, G.B. 2000. Metabolic factors affecting the reproductive axis in male sheep. Review. *Journal of Reproduction and Fertility*. 230: 1-11.
- Delgadillo, J.A., Leboeuf, B., Chemineau, P. 1991. Decrease in the seasonality of sexually behaviour and sperm production in bucks by exposure to short photoperiodic cycles. *Theriogenology*. 36:755-770.
- Delgadillo, J.A., Canedo, G.A., Chemineau, P., Guillaume, D., Malpoux, B. 1999. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male creole goats subtropical northern Mexico. *Theriogenology*. 52:727-737.
- Delgadillo, J.A., Carrillo, E., Moran, 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. *Journal of Animal Science*. 79: 2245-2252.
- Delgadillo, J.A., Flores, J.A., Veliz, F.G., Hernández, H.F., Duarte, G., Vielma, J., Poindron, P., Chemineau, P., Malpoux, B. 2002. Induction of sexual activity in lactating anovulatory female goats using male goats treated only with artificially long days. *Journal of Animal Science*. 80: 2780-2786.
- Delgadillo, J.A., Cortez, M.E., Duarte, G., Chemineau, P., Malpoux, B. 2004a. Evidence that photoperiod controls the annual changes in testosterone secretion, testicular and body weight in subtropical male goats. *Reproduction Nutrition and Development*. 44: 183-193.
- Delgadillo, J.A., Fitz, G., Duarte, G., Veliz, G., Carrillo, E., Flores, J.A., Vielma, J., Hernández, H., Malpoux, B. 2004b. Management of photoperiod to control caprine reproduction in the subtropics. *Reproduction Fertility and Development*. 16: 471-478.
- Delgadillo, J.A. 2011. Environmental and social cues can be used in combination to developed sustainable breeding techniques for goat reproduction in the subtropics. *Animal*. 5:74-81.
- Guan, Y., Malecki, I.A., Hawken, P.A.R., Linden, M.D., Martin, G.B. 2014. Under-nutrition reduces spermatogenic efficiency and sperm velocity, and increases sperm DNA damage in sexually mature male sheep. *Animal Reproduction Science*. 149: 163-172.
- Guan, Y., Lian, G., Hawken, P.A.R., Malecki, I.A., Cozens, G., Vercoe, P.E., Martin, G.B and Guan, L. 2015. Roles of small RNAs in the effects of nutrition on apoptosis and spermatogenesis in the adult testis. *Scientific Reports*. 5: 10372.
- Guan, Y., Liang, G., Hawken, P. A. R., Meachem, S.J., Malecki, I.A., Ham, S., Stewart, T., Guan, L., Martin, G.B. 2016. Nutrition affects Sertoli cell function but not Sertoli cell numbers in sexually mature male sheep. *Reproduction, Fertility and Development*. 28: 1152-1163.
- Guan, Y and Martin, G.B. 2017. Cellular and molecular responses of adult testis to changes in nutrition: novel insights from the sheep model. *Reproduction*. 154: R133-R141.
- Flores, M.J., Meza-Herrera, C.A., Echavarría, F.G., Villagomez, E., Iñiguez, L., Salinas, H., González-Bulnes, A. 2010. Influence of nutritional and socio-sexual cues upon reproductive efficiency of goats exposed to the male effect under extensive conditions. *Animal Production Science*. 50: 897-901.
- Hotzel, M.J., Markey, C.M., Walkden-Brown, S.W., Blackberry, M.A., Martin, G.B. 1998. Morphometric and endocrine analyses of the effects of nutrition on the testis of mature Merino rams. *Journal of Reproduction and Fertility*. 113:2017-2030.
- Hotzel, M.J., Walkden-Brown, S.W., Fisher J.M., Martin, G.B. 2003. Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Suffolk sheep: responses to a nutritional stimulus in the breeding and non-breeding seasons. *Reproduction Fertility and Development*. 15:1-9.
- Martin, G.B., Tjondronegoro, S., Boukhliq, R., Blackberry, M.A. 1994. Effects of nutrition on testicular size and the concentrations of gonadotrophins, testosterone and inhibin in plasma of mature male sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*. 110:121-128.
- Martin, G.B., Walkden-Brown, S.W., Boukhliq, R., Tjondronegoro, S., Miller, D.W., Fisher, J.S., Hotzel, M.J. 1994b. Non-photoperiodic inputs seasonal breeding in male ruminants. In: *Perspectives in Comparative Endocrinology* (eds: Davey, K.G., Peter, R.E and Tobe, S.S) pp. 574-585.
- Martin, G.B., Walkden-Brown, S.W. 1995. Nutritional influence on reproduction in mature sheep and goats. *Journal of Reproduction and Fertility*. Supplement 49: 437-449.
- Martin, G.B., Blache, D., Miller, D.W., Vercoe, P.E. 2010. Interactions between nutrition and reproduction in the management of the mature male ruminant. *Animal*. 7: 1214-1226.
- Murray, P.J., Rowe, J.B., Pethick, D.W., Adams, N.R. 1990. The effect of nutrition on testicular growth in the Merino ram. *Australian Journal of Agricultural Research*. 41:185-95.
- NRC. *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids*. Washington, DC, USA National Academy Press; 2007.
- Oldham, C.M., Adams, N.R., Gherardi, P.B., Lindsay, D.R., Mackintosh, J.B. 1978. The influence of level of feed intake on sperm producing capacity of testicular tissue in the ram. *Australian Journal of Agricultural Research*. 29:173-179.
- Parker, G.V., Thwaites, C.J. 1972. The effects of undernutrition on libido and semen quality in adult Merino rams. *Australian Journal of Agricultural Research*. 23:109-115.
- Pisselet, C., Perreau, C., Hochereau-de Rievers, M.T. 1984. Relationship between rete testis fluid secretion and testicular structure in the ram. *Reproduction Nutrition and Development*. 24: 483-486.
- Secretaría De Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2001. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. *Diario Oficial de la Federación*, 22 August 2001.
- SYSTAT 12, 2012 Chicago, IL, USA.
- Tufarelli, V., Lacalandra, G.M., Aiudi, G., Binetti, F., Laudadio, V. 2011. Influence of feeding level on live body weight and semen characteristics for Sardinian rams reared under intensive conditions. *Tropical Animal Health and Production*. 43:339-345.
- Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Norton, B.W., Scaramuzzi, R.J., Martin, G.B. 1994a. Effect of nutrition on seasonal patterns of LH, FSH and testosterone concentration, testicular mass, sebaceous gland volume and odour in Australian cashmere goats. *Journal of Reproduction and Fertility*. 102:351-360.

- Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Taylor, W.A. 1994b. Testicular and epididymal sperm content in grazing Cashmere bucks: seasonal variation and prediction from measurements *in vivo*. *Reproduction Fertility and Development*. 6:726-736.
- Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Scaramuzzi, R.J., Martin, G.B., Blackberry, M.A. 1997. Seasonality in male Australian cashmere goats: Long term effects of castration and testosterone or oestradiol treatment on changes in LH, FSH and prolactin concentrations, and body growth. *Small Ruminant Research*. 26:239-252.
- Zarazaga, L.A., Guzmán, J.L., Domínguez, C., Pérez, M.C., Prieto, R. 2009. Effects of season and feeding level on reproductive activity and semen quality in Payoya bucks goats. *Theriogenology*. 71:1316-1325.