

LA PRESENCIA DE CABRAS EN ESTRO MEJORA LA ACTIVIDAD SEXUAL EN LOS MACHOS EN REPOSO SEXUAL ESTACIONAL

THE PRESENCE OF FEMALE GOATS IN ESTRUS IMPROVE SEXUAL ACTIVITY IN MALES ON SEASONAL SEXUAL REST

Erika **Grimaldo-Viesca**, Gerardo **Duarte-Moreno**, Horacio **Hernández-Hernández**,
José A. **Flores-Cabrera**, José A. **Delgadillo-Sánchez**, Jesús **Vielma-Sifuentes***

Centro de Investigación en Reproducción Caprina, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Periférico Raúl López Sánchez y Carretera a Santa Fe, 27054. Torreón, Coahuila, México. (jesus_vielm@hotmail.com).

RESUMEN

El reposo sexual en *Capra hircus* se caracteriza por concentraciones bajas de hormona luteinizante (LH) y testosterona, volumen testicular menor, comportamiento sexual reducido, cantidad menor y baja calidad del semen; todas características que, en contraste, aumentan durante la temporada sexual. El objetivo fue determinar la actividad sexual y la producción cuantitativa y cualitativa de semen de los machos en contacto con cabras inducidas artificialmente al estro durante el reposo sexual. La hipótesis plantea que las señales socio-sexuales emitidas por las hembras pueden estimular la actividad sexual de los machos durante el reposo sexual estacional. Diez machos cabríos criollos se dividieron en dos grupos completamente al azar: cinco estuvieron aislados y cinco estuvieron en contacto con cabras en estro. Al inicio del estudio dos cabras inducidas al estro se introdujeron en el grupo de machos, y se reemplazaron por otras dos hembras en estro la semana siguiente. Cada semana se midieron el volumen, la concentración espermática, el número total de espermatozoides, la motilidad, el número de células vivas, latencia a la eyaculación, el porcentaje de machos que eyacularon y el olor del macho (en la base posterior de los cuernos). En machos con hembras en estro: el olor fue más intenso ($p \leq 0.05$) de enero a marzo; la latencia a la eyaculación siempre fue menor ($p \leq 0.05$); la disposición a la eyaculación fue mayor ($p \leq 0.05$), siempre excepto en junio; el volumen eyaculado fue mayor de enero a marzo ($p \leq 0.05$); la concentración espermática y el número total de espermatozoides por volumen eyaculado no fueron diferentes entre los grupos ($p > 0.05$). Con machos caprinos del subtrópico mexicano, la presencia de hembras en estro durante el reposo sexual natural no mejora la producción cuantitativa y cualitativa del semen, sin embargo, mejora la actividad sexual porque disminuye la latencia

ABSTRACT

Sexual rest in *Capra hircus* is characterized by low concentrations of luteinizing hormone (LH) and testosterone, lower testicular volume, reduced sexual behavior, lower quantity and low quality of semen. All these characteristics increase during the sexual season. The objective was to determine the sexual activity and the quantitative and qualitative production of semen of males in contact with artificially estrus-induced goats during sexual rest. The hypothesis states that the socio-sexual signals emitted by females can stimulate the sexual activity of males during seasonal sexual rest. Ten Creole goats were divided into two completely random groups: five were isolated and five were in contact with goats in estrus. At the beginning of the study two estrus-induced goats were introduced into the male group and replaced by two estrus-induced female goats the following week. Volume, sperm concentration, total number of spermatozoa (sperm cells), motility, number of live cells, ejaculation latency, percentage of males that ejaculated and the smell of the male (at the rear base of the horns) were measured each week. The odor was more intense ($p \leq 0.05$) in males with females in estrus from January to March; ejaculation latency was always lower ($p \leq 0.05$); ejaculation readiness was higher ($p \leq 0.05$), always except in June; ejaculated volume was higher from January to March ($p \leq 0.05$); sperm concentration and total number of sperm per ejaculated volume were not different between groups ($p > 0.05$). The presence of females in estrus during natural sexual rest does not improve the quantitative and qualitative production of semen in goat males from the Mexican subtropics. However, it improves sexual activity because it decreases the latency to ejaculation, increases the percentage of males that ejaculate, and increases the ejaculated volume.

* Autor para correspondencia ♦ Author for correspondence.
Recibido: junio, 2018. Aprobado: octubre, 2018.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 54: 31-42. 2020.

Key words: goats, *Capra hircus*, seasonality, females in estrus, males, sexual activity.

a la eyaculación, aumenta el porcentaje de machos que eyaculan y aumenta el volumen eyaculado.

Palabras clave: cabras, *Capra hircus*, estacionalidad, hembras en estro, machos, actividad sexual.

INTRODUCCIÓN

La estacionalidad reproductiva ocasiona una producción estacional en los rebaños de cabras en los subtrópicos, en la Comarca Lagunera ocurre una gran proporción de los partos del año en los meses de noviembre a febrero (Escareño *et al.*, 2011). En caprinos, la temporada de reposo sexual de los machos ocurre de enero a junio (Delgadillo *et al.*, 1999). Durante esos meses la secreción de LH y testosterona, el volumen testicular, el comportamiento sexual, la cantidad y la calidad de la producción del semen se reducen; en las hembras ocurre de marzo a agosto y se caracteriza por la ausencia de estro y ovulaciones (Duarte *et al.*, 2008). Estas variables aumentan durante la temporada sexual que ocurre de mayo a diciembre en machos (Delgadillo *et al.* 1999, Delgadillo *et al.*, 2001) y septiembre a febrero en las hembras y se caracteriza por la manifestación de ciclos ovulatorios y estro cada 21 días (Duarte *et al.*, 2010).

Las variaciones en el fotoperiodo controlan la estacionalidad reproductiva en cabras (Duarte *et al.*, 2010). Mientras que en hembras en anestro, la actividad sexual puede estimularse y sincronizarse con la introducción de machos sexualmente activos que provocan el estro y la ovulación (“efecto macho” descrito por Delgadillo *et al.*, 2015). En machos cabríos en reposo sexual, el contacto directo con cabras en estro incrementa las concentraciones plasmáticas de LH y testosterona, fenómeno denominado “efecto hembra” (Walkden-Brown *et al.*, 1994).

Giriboni *et al.* (2017) demostraron que, actuando aisladas, las señales olfativas, auditivas y visuales de hembras en estro, no son suficientes para incrementar la concentración de testosterona o mejorar la cantidad y calidad espermática en machos cabríos en reposo sexual. Sin embargo, se desconoce si el contacto físico total y constante de hembras en estro con machos cabríos en reposo sexual modifique la conducta sexual, producción y calidad espermática.

INTRODUCTION

Seasonality of reproduction causes seasonal production in goat herds in the subtropics. In the Comarca Lagunera, a large proportion of the year's births occur in the months of November to February (Escareño *et al.*, 2011). In goats, the sexual rest season for males occurs from January to June (Delgadillo *et al.*, 1999). During these months the secretion of LH and testosterone, testicular volume, sexual behavior, quantity and quality of semen production are reduced. In females it occurs from March to August and is characterized by the absence of estrus and ovulation (Duarte *et al.*, 2008). These variables increase during the sexual season which occurs from May to December in males (Delgadillo *et al.* 1999, Delgadillo *et al.*, 2001), and in September to February in females and is characterized by the manifestation of ovulatory cycles and estrus every 21 days (Duarte *et al.*, 2010).

Variations in the photoperiod control reproductive seasonality in goats (Duarte *et al.*, 2010). While sexual activity in females in anestrus may be stimulated and synchronized with the introduction of sexually active males that cause estrus and ovulation (“male effect” described by Delgadillo *et al.*, 2015). In sexually resting goats, direct contact with goats in estrus increases plasma concentrations of LH and testosterone, a phenomenon called the “female effect” (Walkden-Brown *et al.*, 1994).

Giriboni *et al.* (2017) demonstrated that, acting in isolation, the olfactory, auditory and visual signals of females in estrus are not enough to increase testosterone concentration or improve sperm quantity and quality in sexually resting goats. However, it is not known whether total and constant physical contact of females in estrus with resting goats modifies sexual behavior, sperm production, and sperm quality.

This research was conducted on the hypothesis that the presence of females in estrus would enhance and maintain sexual activity in resting male goats. The objective was to determine whether the sexual activity and quantitative and qualitative production of semen by male goats improve when they are in direct, complete, and constant physical contact with females in estrus during the sexual rest period.

Con la hipótesis de que la presencia de hembras en estro mejoraría y mantendría la actividad sexual de los machos cabríos en reposo sexual, se llevó a cabo esta investigación. El objetivo fue determinar si la actividad sexual y la producción cuantitativa y cualitativa del semen de los machos cabríos mejoran cuando están en contacto físico directo, completo, y constante, con hembras en estro durante el periodo de reposo sexual.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los caprinos utilizados para esta investigación se mantuvieron en condiciones de manejo que cumplieron con la nutrición y los procedimientos utilizados según lo estipulado en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (Diario Oficial de la Federación, 2001).

Condiciones generales del experimento

Este estudio se realizó en el Centro de Investigación de Reproducción Caprina (CIRCA), de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicado en el municipio de Torreón, Coahuila, México. Esta área es parte de la Comarca Lagunera (26° N, 103° O y una altitud de 1110 a 1500 m), donde el fotoperiodo varía entre 13:41 h de luz durante el solsticio de verano y 10:19 h de luz durante el solsticio de invierno. El clima es seco con una temperatura media anual de 21 °C, que varía de 42 °C (mayo-agosto) a 6 °C (diciembre-enero). La precipitación media anual es de 266 mm (amplitud: de 163 a 504 mm), y la estación seca ocurre de noviembre a mayo (Climate-data.org).

En la investigación, se utilizaron machos y hembras caprinos de la Comarca Lagunera, cuyas características se han descrito antes (Escareño *et al.*, 2011). El estudio se realizó de enero a junio de 2017, meses que corresponden a la temporada de reposo sexual de los machos. Los machos y hembras se alimentaron cada uno con 1.5 kg de heno de alfalfa (18% de PC, 2.2 Mcal kg⁻¹ EM) y 100 g de concentrado comercial (14% PC, 1.7 Mcal kg⁻¹ ED) con acceso libre al agua y sales minerales (cloruro de sodio 87%, calcio 7.4%, azufre 0.4%, magnesio 0.4%, yodo 3.6%) durante el estudio.

Descripción de los caprinos del experimento

Hembras

Seis cabras criollas adultas, dos meses antes del inicio del experimento, se sometieron a ovariectomización (OVX) por laparotomía media posterior, previa sedación (xilacina) y anestesia

MATERIALS AND METHODS

The goats used for this research were kept in handling conditions that complied with the nutrition and procedures used as stipulated in the Mexican Official Standard NOM-062-ZOO-1999 (Diario Oficial de la Federación, 2001).

General conditions of the experiment

This study was conducted at the Research Center for Goat Reproduction (CIRCA), under the Antonio Narro Autonomous Agrarian University, located in the municipality of Torreón, Coahuila, Mexico. This area is part of the Comarca Lagunera (26 °N, 103 °W and an altitude of 1110 to 1500 m). Photoperiod varies between 13:41 hours of light during the summer solstice and 10:19 hours of light during the winter solstice. The climate is dry with an average annual temperature of 21 °C, ranging from 42 °C (May-August) to 6 °C (December-January). The average annual rainfall is 266 mm (range: 163 to 504 mm), and the dry season occurs from November to May (Climate-data.org).

Males and females from the Comarca Lagunera were used in the research, whose characteristics have been described above (Escareño *et al.*, 2011). The study was carried out from January to June 2017, months that correspond to the sexual rest season of the males. Males and females were each fed 1.5 kg of alfalfa hay (18% CP, 2.2 Mcal kg⁻¹ EM) and 100 g of commercial concentrate (14% CP, 1.7 Mcal kg⁻¹ ED) with free access to water and mineral salts (sodium chloride 87%, calcium 7.4%, sulfur 0.4%, magnesium 0.4%, iodine 3.6%) during the study.

Description of the goats in the experiment

Females

Six adult Creole goats underwent ovariectomy (OVX) by posterior mid-laparotomy, after sedation (xylazine) and anesthesia (ketamine), two months before the beginning of the experiment. A veterinary doctor specialized in surgery performed the procedure. All six goats received hormonal treatment. Each week, two goats were alternately induced to estrus with the subcutaneous application of 10 and 5 mg of progesterone with a 24-hour interval, followed by the application of 1 mg of estradiol cypionate 72 h later (Billings and Katz, 1997).

The other four goats, which did not have estrus induction each week, were housed in a corral adjacent to the group of goats that had full contact with females in heat, where the males perceived the visual signals, smell and sounds emitted by the females. Each female had 14 d without treatment before being induced back into estrus.

(ketamina); un médico veterinario especializado en cirugía realizó el procedimiento. Las seis cabras recibieron tratamiento hormonal. Cada semana, en forma alterna dos cabras se indujeron al estro con la aplicación subcutánea de 10 y 5 mg de progesterona con 24 h de intervalo, seguida de la aplicación de 1 mg de cipionato de estradiol 72 h más tarde (Billings y Katz, 1997).

Las otras cuatro cabras a las cuales no les correspondía inducción al estro cada semana, se alojaron en un corral adyacente al grupo de machos cabríos que tenían contacto completo con hembras en celo, donde los machos percibieron las señales visuales, el olor y los sonidos emitidos por las hembras. Cada hembra disponía de 14 días sin tratamiento antes de inducir la de nuevo al estro.

Machos

Diez machos criollos de dos a cuatro años de edad se usaron en el estudio, con experiencia sexual por haber interactuado previamente con las hembras en estro. Los machos se dividieron en dos grupos de acuerdo con su condición corporal (CC) y su circunferencia escrotal (CE), considerando que esta última variable influye en la producción de semen (Senger, 2005): un grupo de machos se alojó en un corral de 5 x 5 m provisto de sombra y permaneció aislado de las hembras (n=5; CC: 2.3 ± 0.1; CE 25.7 ± 0.7 cm, promedio ± SEM). El otro grupo de machos se alojó en un corral abierto de 5 x 5 m provisto de sombra y permaneció en pleno contacto físico con dos hembras inducidas al estro (n=5; CC: 2.5 ± 0.2; CE 26.5 ± 2.2 cm).

Para el contacto con las hembras, se introdujeron dos cabras inducidas al estro en el grupo de machos y se reemplazaron por otras dos hembras en estro a la semana siguiente. El estro artificial tuvo una duración de 72 h, y las hembras permanecían con los machos durante 6 d antes de reemplazarlas. Al momento de la primera recolección de semen, las cabras ya tenían tres días de contacto. Este procedimiento se efectuó de enero a junio. La distancia entre los dos grupos era mayor de 200 m y había edificios entre ellos, para evitar cualquier riesgo de interferencia entre los tratamientos.

Mediciones

Comportamiento sexual

La intensidad del olor se midió semanalmente de acuerdo con la técnica descrita por Walkden-Brown *et al.* (1997). Esta técnica consiste en determinar el olor de los machos cabríos a una distancia de 10-15 cm de la base posterior de los cuernos, donde se encuentran las glándulas sebáceas. La escala incluyó: 0 que equivalió a olor neutro, no diferente de la hembra, o macho

Males

Ten two to four-year-old Creole males were used in the study, all of whom were sexually experienced because they had previously interacted with the females in estrus. Males were divided into two groups according to their body condition (CC) and scrotal circumference (CE), considering that the latter variable influences semen production (Senger, 2005): one group of males was housed in a 5 x 5 m shaded corral and remained isolated from the females (n=5; CC 2.3 ± 0.1; CE 25.7 ± 0.7 cm, mean ± SEM). The other group of males were housed in an open, shaded 5 x 5 m corral and were in full physical contact with two estrus-induced females (n=5; CC: 2.5 ± 0.2; CE 26.5 ± 2.2 cm.).

For contact with the females, two estrus-induced goats were introduced into the male group and replaced by two more estrus-induced females the following week. The artificial estrus lasted 72 h, and the females remained with the males for 6 d before replacing them. At the time of the first semen collection, the goats already had three days of contact. This procedure was carried out from January to June. The distance between the two groups was over 200 m and there were buildings between them, to avoid any risk of interference between treatments.

Measures

Sexual behavior

Odor intensity was measured weekly according to the technique described by Walkden-Brown *et al.* This technique consists of determining the smell of the goats at a distance of 10-15 cm from the rear base of the horns, where the sebaceous glands are located. The scale included: 0 which was equivalent to neutral odor, not different from the female, or castrated male; 1 which was equivalent to light odor; 2 to moderate odor; and 3 to intense odor.

Prior to the experiment, males were not trained to ejaculate in the artificial vagina. Ejaculation latency was considered to be the time elapsed between male entering with the female and the "hit of the kidney" (copulation). Semen samples were collected once a week, each time at 08:00 hours, using an artificial vagina and the presence of an artificially estrus-induced goat.

For semen collection, males that were in direct contact with the estrus females were separated from them for 24 hours in an adjacent corral, to avoid copulation and ejaculation at that time, although they maintained visual and auditory contact. Each male had 180 seconds with the female in estrus to ejaculate. After this time, if the male did not ejaculate, he was returned to his corral and it was recorded as a failure to ejaculate. In addition,

castrado; 1 que equivalió a olor ligero; 2 a olor moderado; y 3 a olor intenso.

Antes del experimento, no se entrenó a los machos para eyacular en la vagina artificial. La latencia a la eyaculación se consideró como el tiempo transcurrido entre la entrada del macho con la hembra y el “golpe del riñón”. Las muestras de semen se recolectaron una vez por semana, cada vez a las 08:00 h, utilizando una vagina artificial y la presencia de una cabra inducida artificialmente al estro.

Para la recolección del semen, los machos que estaban en contacto directo con las hembras en estro, se separaron de ellas durante 24 h en corral adyacente, para evitar cópulas y eyaculaciones en ese momento, sin embargo, mantenían contacto visual y auditivo. Cada macho disponía de 180 s con la hembra en estro para eyacular. Después de este tiempo, si el macho no eyaculaba, fue devuelto a su corral y se registró como una falla en la eyaculación. Además, en cada ocasión, el comportamiento sexual de los machos se evaluó mediante el registro de la latencia de la eyaculación.

Calidad seminal

El volumen de la eyaculación (mL) se midió leyendo directamente desde el tubo de recolección, que tenía una capacidad de 15 mL y una graduación de 0.1 mL.

La concentración ($\times 10^9$, espermatozoides por mL) se calculó con un espectrofotómetro (Bausch & Lomb, 2001) calibrado a una longitud de onda de 550 nm. Para este propósito, se diluyeron 50 μL de semen fresco en 9.95 mL de solución salina fisiológica con formaldehído (cloruro sódico al 0.9% y formaldehído 0.1%, diluido en agua bidestilada). Una curva estándar que se construyó de acuerdo con un protocolo validado (Chemineau *et al.*, 1991) se utilizó para esta determinación.

El número total de espermatozoides por volumen eyaculado ($\times 10^9$) se obtuvo multiplicando dicho volumen por su concentración de células espermáticas (Delgadillo *et al.*, 1999).

El movimiento masal se evaluó en una gota de semen fresco sin diluir que se depositó, inmediatamente después de obtener la muestra, entre un portaobjetos de vidrio y un cubreobjetos nuevo y limpio. La muestra se calentó y mantuvo entre 37 y 38 °C y se observó bajo el microscopio con un aumento de 80 X. La escala de calificación del movimiento fue de 0 a 5 (0 = inmovilidad total; 5 = movimientos fuertes y remolinos (Chemineau *et al.*, 1991).

El porcentaje de espermatozoides vivos se determinó con una gota de semen depositada en el portaobjetos y el cubreobjetos antes mantenido en 37 a 38 °C, y se observó bajo el microscopio con un aumento de 200 X. La estimación visual del porcentaje de células móviles se realizó en diferentes áreas de la muestra (Delgadillo, 2005).

on each occasion, the sexual behavior of the males was evaluated by recording ejaculation latency.

Seminal quality

The ejaculate volume (mL) was measured by reading directly from the collection tube, which had a capacity of 15 mL and a graduation of 0.1 mL.

The concentration ($\times 10^9$, sperm cells per mL) was calculated with a spectrophotometer (Bausch & Lomb, 2001) calibrated at a wavelength of 550 nm. For this purpose, 50 μL of fresh semen was diluted in 9.95 mL of physiological saline solution with formaldehyde (0.9% sodium chloride and 0.1% formaldehyde, diluted in double-distilled water). A standard curve that was constructed according to a validated protocol (Chemineau *et al.*, 1991) was used for this determination.

The total number of spermatozoa (sperm cells) per ejaculated volume ($\times 10^9$) was obtained by multiplying this volume by their sperm cells concentration (Delgadillo *et al.*, 1999).

The mass movement was evaluated on a drop of fresh undiluted semen that was deposited, immediately after the sample was obtained, between a glass slide and a new, clean coverslip. The sample was heated and held at 37 to 38 °C and was observed under the microscope at 80X magnification. The scale for scoring movement was 0 to 5 (0 = total immobility; 5 = strong and swirling movements (Chemineau *et al.*, 1991).

The percentage of live spermatozoa was determined with a drop of semen deposited on the slide and the coverslip previously held at 37 to 38 °C and observed under the microscope at a 200X magnification. The visual estimation of the percentage of mobile cells was performed in different areas of the sample (Delgadillo, 2005).

Experimental design and statistical analysis

The experimental design was completely randomized, with two treatments (isolated and with females in estrus), five repetitions per group (treatment) and the experimental unit was each male goat.

Monthly averages of odor, ejaculation latency, quantitative and qualitative sperm production variables were analyzed over the study time with a non-parametric Friedman test, and the comparison of these variables between groups was done with the use of a non-parametric Mann-Whitney *U* test.

The percentage of readiness to ejaculate was obtained by the monthly frequency of ejaculations and compared between groups with the exact Fisher test.

Statistical differences between groups were significant if $p \leq 0.05$. The results were expressed with the mean \pm the standard error of the mean (SEM). The analyses were performed using the SYSTAT 13 (Systat Software, 2009).

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar, con dos tratamientos (aislados y con hembras en estro), cinco repeticiones por grupo (tratamiento) y la unidad experimental fue cada macho caprino.

Los promedios mensuales del olor, la latencia a la eyaculación, las variables de la producción espermática cuantitativa y cualitativa se analizaron a través del tiempo de estudio con una prueba no paramétrica de Friedman, y la comparación de estas variables entre grupos se realizó con el uso de una prueba no paramétrica de *U* de Mann-Whitney.

El porcentaje de disposición a la eyaculación se obtuvo mediante la frecuencia mensual de eyaculaciones y se comparó entre grupos con la prueba exacta de Fisher.

Las diferencias estadísticas entre grupos fueron significativas si $p \leq 0.05$. Los resultados se expresaron con el promedio \pm el error estándar de la media (SEM). Los análisis se realizaron utilizando el SYSTAT 13 (Systat Software, 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento sexual del macho

Intensidad del olor de los machos

La intensidad del olor de los machos en contacto con las hembras en estro fue más alta de enero a marzo que la de los machos aislados de las hembras (Figura 1; $p \leq 0.05$). Así, la intensidad del olor disminuyó de enero a abril, y se incrementó de nuevo en mayo y junio.

Porcentaje de eyaculaciones

El porcentaje de eyaculaciones fue mayor de enero a mayo en el grupo de machos con hembras en estro que en los machos aislados de las hembras (Figura 2; $p \leq 0.05$).

Latencia a la eyaculación

La latencia a la eyaculación varió a través del tiempo en ambos grupos de machos. Esta variable mostró ser menor de enero a mayo en los machos mantenidos con hembras en estro que en los machos aislados (Figura 3; $p \leq 0.05$).

Los resultados de este estudio muestran que la actividad sexual de los machos, expuestos a hembras

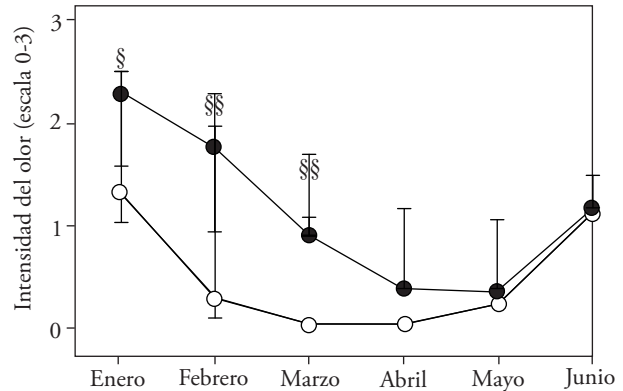


Figura 1. Evolución de la intensidad del olor (promedio \pm SEM) de los machos en contacto con las hembras en estro (●) o aislados de las hembras (○). Diferencias estadísticas entre los dos grupos: $p \leq 0.05$.

Figure 1. Evolution of odor intensity (mean \pm SEM) of males in contact with females in estrus (●) or isolated from females (○). Statistical differences between the two groups: $p \leq 0.05$.

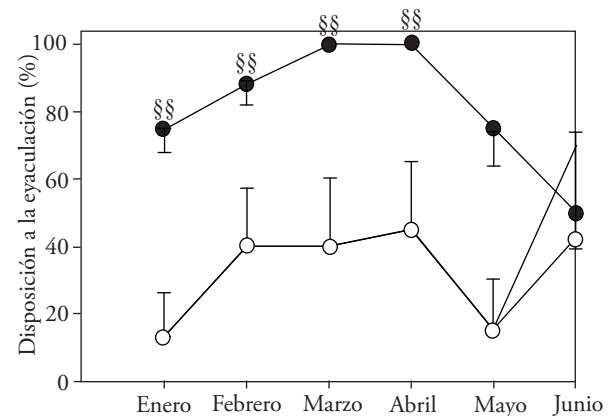


Figura 2. Evolución del porcentaje de disposición a la eyaculación (promedio \pm SEM) de los machos en contacto con las hembras en estro (●) o aislados de las hembras (○). Diferencias estadísticas entre los dos grupos: $p \leq 0.05$.

Figure 2. Evolution of the percentage of readiness to ejaculation (mean \pm SEM) of males in contact with females in estrus (●) or isolated from females (○). Statistical differences between the two groups: $p \leq 0.05$.

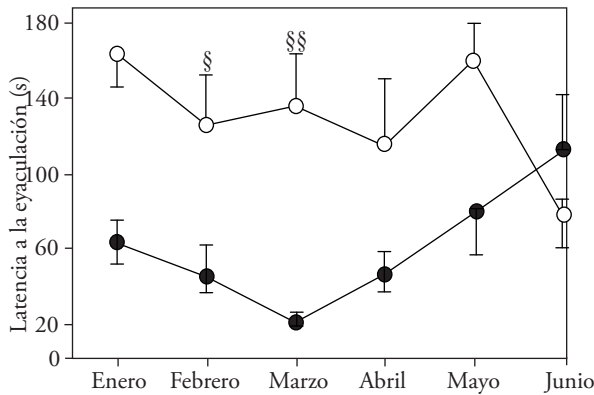


Figura 3. Evolución de la latencia a la eyaculación (promedio ± SEM) de los machos en contacto con las hembras en estró (●) o aislados de las hembras (○). Diferencias estadísticas entre los dos grupos: $p \leq 0.05$.

Figure 3. Evolution of latency to ejaculation (mean ± SEM) of males in contact with females in estrus (●) or isolated from females (○). Statistical differences between the two groups: $p \leq 0.05$.

inducidas artificialmente al estró en la época de reposo sexual, mejoró en comparación con los machos que se encontraban aislados de las hembras. Debido a que, como resultado de la introducción de hembras en estró al grupo de machos, el olor “sexual” del macho fue más intenso, se incrementó la frecuencia de las montas con eyaculaciones y disminuyó la latencia a la eyaculación. En diversos estudios se ha descrito que la exposición de los machos a hembras en estró, aumenta claramente la capacidad de los machos cabríos para inducir la ovulación en hembras anovulatorias estacionales. Por lo tanto, el “efecto hembra” es uno de los componentes de un ciclo de estimulación autorreforzado que ambos sexos pueden iniciar (Walkden-Brown *et al.*, 1999).

La diferencia en la intensidad del olor entre los grupos al principio del experimento, posiblemente se relaciona con los incrementos en las concentraciones plasmáticas de testosterona y al final del estudio con el restablecimiento natural del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas que otros estudios informaron (Delgado *et al.*, 2016).

Durante el estudio, al llegar la época de reposo sexual, el porcentaje de disposición a la eyaculación, considerado como un componente de la motivación sexual del macho, se mantuvo elevado por la presencia de las hembras en estró. Otra investigación sobre estacionalidad registró un comportamiento sexual

RESULTS AND DISCUSSION

Male sexual behavior

Odor intensity in males

The intensity of the odor of the males in contact with the females in estrus was higher from January to March than that of the males isolated from the females (Figure 1; $p \leq 0.05$). Thus, the intensity of the odor decreased from January to April and increased again in May and June.

Ejaculations percentage

The percentage of ejaculations was higher from January to May in the group of males with females in estrus than in the males isolated from the females (Figure 2; $p \leq 0.05$).

Ejaculation latency

Ejaculation latency varied over time in both groups of males. This variable was shown to be lower from January to May in males kept with females in estrus than in isolated males (Figure 3; $p \leq 0.05$).

The results of this study show that the sexual activity of males, exposed to artificially estrus-induced females at sexual rest season, improved compared to males who were isolated from females. Because, as a result of the introduction of estrus-induced females into the male group, the “sexual” odor of the male was more intense, the frequency of mounts with ejaculations increased and ejaculation latency decreased. Several studies have described that exposure of males to females in estrus clearly increases the ability of goats to induce ovulation in seasonal anovulatory females. Therefore, the “female effect” is one of the components of a self-reinforcing stimulation cycle that both sexes can initiate (Walkden-Brown *et al.*, 1999).

The difference in odor intensity between the groups at the beginning of the experiment is possibly related to the increases in plasma testosterone concentrations and at the end of the study is related to the natural restoration of the hypothalamus-pituitary-gonad axis that other studies have reported (Delgado *et al.*, 2016).

During the study, the percentage of readiness to ejaculate, considered a component of male sexual

similar al de los machos cabríos aislados del presente estudio, ya que de febrero a julio (reposo sexual), el número de rechazos a eyacular fue 2.4 veces, y tuvo una disminución a 1.0 veces, en los meses de diciembre, enero, agosto y septiembre, por lo que se estimó una disminución de 40% en la disposición a la eyaculación (Carrillo *et al.*, 2010).

La latencia a la eyaculación, el otro componente de la actividad sexual en este estudio, fue menor en los machos con hembras inducidas al estro que en los machos aislados. Otro estudio en la Comarca Lagunera, sobre el periodo de reposo sexual, documentó que los machos cabríos mostraron variación en la latencia a la eyaculación, bajas (96 s) entre mayo y noviembre hasta alcanzar un máximo (183 s) en abril (Delgadillo *et al.*, 1999). Los datos referidos entonces, fueron mayores a los que obtuvimos en este estudio; en el grupo de machos con hembras en estro, la latencia más baja se alcanzó en marzo (20 s) y la máxima en junio (110 s). Resultados similares se presentaron en machos alpino-franceses aislados de hembras, en los que se encontró una latencia de 102 s de diciembre a julio (Carrillo *et al.*, 2010).

La latencia a la eyaculación se considera un índice de comportamiento sexual o motivación, por lo tanto, la exposición de los machos a las hembras inducidas al estro puede estimular las secreciones endócrinas del eje pituitario-testicular en el macho, y esta estimulación puede mantenerse con exposición repetida o continua a las hembras en estro durante la temporada no reproductiva (Delgadillo *et al.*, 1999).

Calidad espermática

Volumen eyaculado

El volumen eyaculado no mostró variaciones importantes a través del tiempo de estudio ($p > 0.05$). Sin embargo, de enero a marzo, este volumen fue mayor en un grupo de machos con hembras en estro que en los machos aislados de las hembras (Figura 4; $p \leq 0.05$).

Concentración espermática por mL

La concentración espermática por mL registrada en ambos grupos de machos presentó variaciones a través del tiempo ($p \leq 0.05$). En la comparación entre grupos se observó que fue mayor en los machos

motivación, remained high due to the presence of the females in estrus when the sexual rest period arrived. Other research on seasonality registered a sexual behavior similar to that of the isolated goats in the present study, since from February to July (sexual rest), the number of refusals to ejaculate was 2.4 times, and had a decrease to 1.0 times, in the months of December, January, August and September, so it was estimated a 40% decrease in the readiness to ejaculate (Carrillo *et al.*, 2010).

Ejaculation latency, the other component of sexual activity in this study, was lower in males with estrus-induced females than in isolated males. Another study in the Comarca Lagunera, documented that male goats showed variation in ejaculation latency on the period of sexual rest, dropping (96 s) between May and November until reaching a maximum (183 s) in April (Delgadillo *et al.*, 1999). Data referred at that time were higher than those obtained in this study, as the lowest latency was reached in March (20 s) and the highest in June (110 s) in the group of males with females in estrus. Similar results were presented in alpine-French males isolated from females, latency was found to be 102 s from December to July (Carrillo *et al.*, 2010).

Ejaculation latency is considered an index of sexual behavior or motivation, therefore, exposure of males to estrus-induced females can stimulate endocrine secretions from the pituitary-testicular axis in the male, and this stimulation can be maintained with repeated or continuous exposure to estrus-induced females during the nonreproductive season (Delgadillo *et al.*, 1999).

Sperm quality

Ejaculated volume

The ejaculated volume did not show significant variations over the study time ($p > 0.05$). However, from January to March, this volume was higher in the group of males with females in estrus than in the males isolated from females (Figure 4; $p \leq 0.05$).

Sperm concentration per mL

The sperm concentration per mL recorded in both groups of males showed variations over time ($p \leq 0.05$). In the comparison between groups it

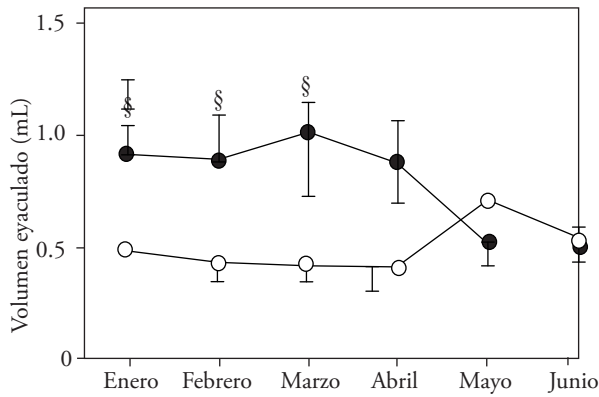


Figura 4. Evolución del volumen eyaculado en mL (promedio ± SEM) de los machos en contacto con las hembras en estro (●) o aislados de las hembras (○). Diferencias estadísticas entre los dos grupos: $p \leq 0.05$.
Figure 4. Evolution of the ejaculated volume in mL (mean ± SEM) of males in contact with females in estrus (●) or isolated from females (○). Statistical differences between the two groups: $p \leq 0.05$.

aislados en febrero y tendió a ser mayor también en los meses de marzo y abril (Figura 5 (A); $p \leq 0.05$).

Número total de espermatozoides por volumen eyaculado

El número total de espermatozoides por eyaculación varió a través del tiempo de estudio ($p \leq 0.05$). Sin embargo, no existió diferencia entre los grupos en esta variable (Figura 5 (B); $p > 0.05$).

El volumen eyaculado fue mayor de enero a marzo en el grupo de los machos con hembras inducidas al estro que en los machos aislados. La presencia de hembras en estro provocó que se mantuviera alto el volumen eyaculado durante enero, febrero y marzo, meses en los que la eyaculación alcanza volúmenes muy bajos (0.1 mL; Carrillo *et al.*, 2010). En otro estudio realizado a 40 °N en Tesalónica, Grecia, en machos caprinos durante la temporada de empadre, los volúmenes de eyaculación reportados son superiores a los registrados en nuestros machos aislados, sin embargo, estos valores son similares a lo que se obtuvieron en el grupo de machos con hembras en estro (Karagiannidis *et al.*, 2000). Y en machos caprinos Damascus a 31° N en la Universidad de Alejandría, Egipto, durante la temporada de reposo, se encontró un volumen de 0.74 ± 0.05 mL (Ramadan *et al.*,

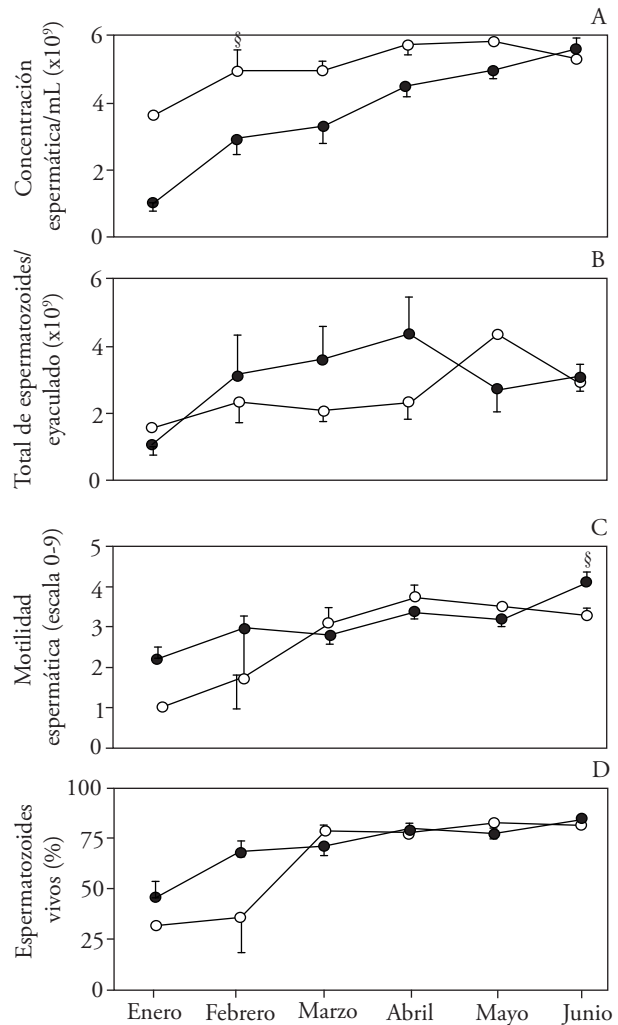


Figura 5. Evolución de (promedio ± SEM): la concentración espermática por mL (A); Total de espermatozoides (B); Motilidad espermática (C); y Porcentaje de espermatozoides vivos (D); de los machos en contacto con las hembras en estro (●) o aislados de las hembras (○). Diferencias estadísticas entre los dos grupos: $p \leq 0.05$.
Figure 5. Evolution of (mean ± SEM): sperm concentration per mL (A); total spermatozoa (B); sperm motility (C); and percentage of live spermatozoa (D); from males in contact with females in estrus (●) or isolated from females (○). Statistical differences between the two groups: $p \leq 0.05$.

was observed that it was higher in males isolated in February and tended to be higher also in the months of March and April (Figure 5 (A); $p \leq 0.05$).

2009), similar a los obtenidos en nuestros machos criollos con hembras en estro.

En la comparación de la concentración espermática por mL entre grupos, se observó que fue mayor en los machos aislados en febrero y tendió a ser a mayor también en los meses de marzo y abril. En los machos caprinos de la raza Angora, durante una serie repetida de toma de muestras, la concentración en promedio llegó a ser de 2.43 ± 0.08 ($\times 10^9$ mL⁻¹) durante la época de empadre (Ritar *et al.*, 1992), sin embargo, estos valores son más bajos que los de machos que en nuestro estudio se encontraban estimulados con hembras inducidas al estro.

No existió diferencia en el número total de espermatozoides por volumen eyaculado entre los grupos durante los meses del experimento. Sin embargo, los valores encontrados en nuestro estudio, aunque no fueron diferentes estadísticamente, si son más altos que los que encontraron Carrillo *et al.* (2010), quienes informaron valores de $0.9 \pm 0.1 \times 10^9$ en machos alpino-franceses de diciembre a julio.

Motilidad espermática

La motilidad espermática registrada en ambos grupos varió a través del tiempo de estudio ($p \leq 0.05$). Sin embargo, sólo en el mes de junio, esta motilidad fue mayor en el grupo de machos con hembras en estro que en el grupo de machos aislados (Figura 5 (C); $p \leq 0.05$).

Porcentaje de espermatozoides vivos

El porcentaje de espermatozoides vivos registrado en ambos grupos varió a través del tiempo de estudio ($p \leq 0.05$). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos (Figura 5 (D); $p > 0.05$).

Sólo en el mes de junio, la motilidad espermática registrada fue mayor en el grupo de machos con hembras inducidas al estro y esta variable mostró valores cercanos a los reportados en cabras de Uruguay por Giriboni *et al.* (2017), en un estudio realizado a 35 °S.

Los datos registrados en el porcentaje de espermatozoides vivos durante el estudio son superiores a lo registrado en machos Alpino-franceses por Carrillo *et al.* (2010), quienes encontraron que en los meses de enero a junio el porcentaje de espermatozoides vivos llegó a ser de $21 \pm 2\%$. Mientras que en otro estudio

Total number of spermatozoa per ejaculated volume

The total number of spermatozoa per ejaculation varied throughout the study time ($p \leq 0.05$). However, there was no difference between the groups in this variable (Figure 5 (B); $p > 0.05$).

Ejaculated volume was higher from January to March in the group of males with estrus-induced females than in isolated males. The presence of estrus-induced females caused the ejaculate volume to remain high during January, February and March, months in which ejaculation reaches very low volumes (0.1 mL; Carrillo *et al.*, 2010). In another study conducted at 40 °N in Thessaloniki, Greece, the reported ejaculation volumes in goat males during the breeding season are higher than those recorded in our isolated males. However, these values are similar to those obtained in a group of males with females in estrus (Karagiannidis *et al.*, 2000). And in Damascus goats at 31 °N at Alexandria University, Egypt, a volume of 0.74 ± 0.05 mL was recorded during the resting season (Ramadan *et al.*, 2009), similar to the value obtained in our Creole males with females in estrus.

When comparing sperm concentration per mL between groups, it was observed that it was higher in males isolated in February and tended to be higher also in the months of March and April. In male Angora goats, during a repeated series of sampling, the average concentration reached 2.43 ± 0.08 ($\times 10^9$ mL⁻¹) during the breeding season (Ritar *et al.*, 1992), however, these values are lower than those of males that were stimulated with estrus-induced females in our study.

There was no difference in the total spermatozoa per ejaculated volume between the groups during the months of the experiment. However, the values found in our study, although not statistically different, were higher than those found by Carrillo *et al.* (2010), who reported values of $0.9 \pm 0.1 \times 10^9$ in French-Alpine males from December to July.

Sperm motility

The sperm motility recorded in both groups varied throughout the study period ($p \leq 0.05$). However, only in the month of June, this motility was higher in the group of males with females in estrus than in the group of isolated males (Figure 5 (C); $p \leq 0.05$).

realizado en la misma región por Delgadillo *et al.* (1999), el porcentaje de espermatozoides vivos fue de 68% en el mes de abril y de 80% en los siguientes meses, valores que coinciden con nuestros resultados. Las condiciones del estudio actual hicieron que no se mantuviera permanente el estímulo de las hembras en estro durante los siete días de la semana, dado que al transcurrir 72 horas de iniciado el estro inducido, comenzaban a disminuir los signos de estro en las hembras y aunque permanecían en el mismo corral de los machos el estímulo fue insuficiente para conseguir una estimulación permanente hacia los machos, lo que podría explicar las características cuantitativas y cualitativas del semen.

CONCLUSIONES

En la Comarca Lagunera, la presencia de hembras caprinas inducidas artificialmente al estro, mejoró la actividad sexual de los machos cabríos en la época de reposo sexual natural. La latencia natural a la eyaculación disminuyó; el porcentaje de machos que efectuaron la eyaculación aumentó y también el volumen eyaculado por macho.

El tratamiento de bioestimulación, no mejoró la producción espermática en cantidad ni calidad, pero incrementó el volumen eyaculado por macho de enero a marzo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Dolores López y Esther Peña el soporte administrativo para este estudio. También al personal apoyo del CIRCA por su colaboración en la realización del experimento. Erika Grimaldo Viesca recibió una beca académica del CONACYT.

LITERATURA CITADA

- Bausch & Lomb. 2001. Spectronic 20 Series. Spectrophotometers. Operator's manual. Thermo Spectronic, Inc. New York, USA. 37 p.
- Billings H. J., and L.S. Katz. 1997. Progesterone facilitation and inhibition of estradiol-induced sexual behavior in the female goat. *Horm. Behav.* 31: 47–53.
- Carrillo E., C.A. Meza-Herrera, and E.G. Véliz. 2010. Reproductive seasonality of young French-Alpine goat bucks adapted to subtropical conditions in Mexico. *Rev. Mex. Cienc. Pec.* 1: 169-178.
- Chemineau P., Y. Cognié, Y. Guerin, and P. Orgeur. 1991. Training manual on artificial insemination in sheep and goats.

Percentage of live spermatozoa

The percentage of live sperm recorded in both groups varied throughout the study period ($p \leq 0.05$). However, no significant differences were found between the groups (Figure 5 (D); $p > 0.05$).

Only in the month of June, sperm motility recorded was higher in the group of males with estrus-induced females and this variable showed values close to those reported in Uruguayan goats by Giriboni *et al.* (2017), in a study conducted at 35 °S.

The data recorded in the percentage of live spermatozoa during the study are higher than those recorded in French-Alpine males by Carrillo *et al.* (2010), who found that in the months of January to June the percentage of live spermatozoa reached $21 \pm 2\%$. While in another study conducted by Delgadillo *et al.* (1999) in the same region, the percentage of live spermatozoa was 68% in April and 80% in the following months, values that match our results.

The conditions of the current study meant that the stimulation of the females in estrus was not maintained permanently during the seven days of the week, given that after 72 hours of initiating the induced estrus, the signs of estrus in the females began to diminish and although they remained in the same corral as the males, the stimulus was insufficient to achieve permanent stimulation of the males, which could explain the quantitative and qualitative characteristics of the semen.

CONCLUSIONS

The presence of goat females artificially induced to the estrus in the Comarca Lagunera improved the sexual activity of goats in the natural sexual rest period. The natural latency to ejaculation decreased; the percentage of males that performed ejaculation increased and also the volume ejaculated per male.

The biostimulation treatment did not improve sperm production in quantity or quality, but increased the volume ejaculated per male from January to March.

—End of the English version—

-----*-----

- FAO. Animal Production and Health Paper: 115-161. Climate-data.org <https://es.climate-data.org/america-del-norte/mexico/coahuila-de-zaragoza/torreon-872606/>. (Consulta: febrero 2019). Climate-data.org <https://es.climate-data.org/america-del-norte/mexico/coahuila-de-zaragoza/torreon-872606/>. (Consulta: febrero 2019).
- Delgadillo J.A., G.A. Canedo, P. Chemineau, D. Guillaume, and B. Malpaux. 1999. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male Creole goats in subtropical northern Mexico. *Theriogenology* 52: 727-737.
- Delgadillo J. A., E. Carrillo, J. Morán, G. Duarte, P. Chemineau, and B. Malpaux. 2001. Induction of sexual activity of male Creole goats in subtropical northern Mexico using long days and melatonin. *J. Anim. Sci.* 79: 2245-2252.
- Delgadillo J. A., L. I. Velez, J.A. Flores. 2016 Continuous light after a long-day treatment is equivalent to melatonin implants to stimulate testosterone secretion in Alpine male goats. *Animal*, 10:4, 649-654.
- Delgadillo J.A., 2005. Inseminación artificial en caprinos. Trillas. México. 91 p.
- Delgadillo J.A., J.A. Flores, H. Hernández, P. Poindron, M. Keller, G. Fitz-Rodríguez, G. Duarte, J. Vielma, I.G. Fernández, and P. Chemineau. 2015. Sexually active males prevent the display of seasonal anestrus in female goats. *Horm. Behav.* 69: 8-15.
- Diario Oficial de la Federación. 2001. "Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio". Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. 22 de agosto del 2001.
- Duarte G., J.A. Flores, B. Malpaux, and J.A. Delgadillo. 2008. Reproductive seasonality in female goats adapted to a subtropical environment persists independently of food availability. *Domest. Anim. Endocrinol.* 35: 362-370.
- Duarte G., M.P. Nava-Hernández, B. Malpaux, and J.A. Delgadillo. 2010. Ovulatory activity of female goats adapted to the subtropics is responsive to photoperiod. *Anim. Reprod. Sci.* 120: 65-70.
- Escareño S. L. M., M. Wurzinger, F. P. López, H. Salinas, J. Sölkner, L. Iñiguez. 2011. La cabra y los sistemas de producción caprina de los pequeños productores de la Comarca Lagunera, en el norte de México. *Rev. Chapingo Serie Cienc. For. Amb.* Volumen XVII, Edición Especial: 235-246.
- Giriboni J., L. Lacuesta, and R. Ungerfeld. 2017. Continuous contact with females in estrus throughout the year enhances testicular activity and improves seminal traits of male goats. *Theriogenology* 87: 284 - 289.
- Karagiannidis A., S. Varsakeli, and G. Karatzas. 2000. Characteristics and seasonal variations in the semen of alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece. *Theriogenology* 53: 1285-1293.
- Ramadan T.A., T.A. Taha, M.A. Samak, and A. Hassan. 2009. Effectiveness of exposure to longday followed by melatonin treatment on semen characteristics of Damascus male goats during breeding and non-breeding seasons. *Theriogenology* 71: 458-468.
- Ritar A. J., G. Mendoza, S. Salamon and I. G. White. 1992. Frequent semen collection and sperm reserves of the male Angora goat (*Capra hircus*). *J. Reprod. Fertil.* 95: 97-102.
- Senger P.L. 2005. Pathways to pregnancy and parturition 2nd Ed. (revised). Current Conceptions, Inc. USA. 373 p.
- SYSTAT 13. 2009. (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA).
- Walkden-Brown S.W., B.J. Restall, B.W. Norton, and R.J. Scaramuzzi. 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. *J. Reprod. Fertil.* 100: 521-531.
- Walkden-Brown S.W., B.J. Restall, R.J. Scaramuzzi, G.B. Martin, and M.A. Blackberry. 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 Rumin. Res.* 26: 239-252.
- Walkden-Brown S. W., G. B. Martin and B. J. Restall. 1999. Role of male-female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. *J. Reprod. Fertil. Supplement* 52: 243-257.