



La administración de gonadotropina coriónica equina (eCG) aumenta la producción de testosterona y concentración espermática en carneros durante estación de reposo sexual †

[Administration of equine chorionic gonadotropin (eCG) increases testosterone production and sperm concentration in rams during the non-breeding (sexual rest) season]

Neftali Clemente-Ovando*, Virginio Aguirre-Flores, Reyes Vázquez-Rosales and Fernando Iván Flores-Pérez

Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, edificio 10-A. C.P. 62209, Cuernavaca Morelos, México. Email. nefta850@hotmail.com*, avirginio@uaem.mx, reyes.vazquez@uaem.mx, ivan.flores@uaem.mx

*Corresponding author

SUMMARY

Background: Hormonal treatments are applied to rams to increase their reproductive parameters and characteristics during the sexual rest season. A hormonal alternative is the use of equine chorionic gonadotropin (eCG), however, it has been evaluated for short periods in rams. **Objective:** To evaluate the long-term effect (63 days) of eCG administration on testosterone levels, sexual behavior, and sperm activity of rams during the sexual rest season. **Methodology:** 20 rams were randomly assigned to one of two groups, the treated group: GeCG, n=10; they were administered intramuscularly two doses of 1000 IU of eCG on days 0 and 4 of the experiment and testosterone levels, their service capacity, testicular and sperm characteristics were evaluated on days -14, -7, -1, 7, 14, 28 and 63. The group control: GCON, n=10; no hormones were administered, and they were evaluated in the same manner as the GeCG. **Results:** Testosterone levels and sperm numbers increased more in GeCG than in GCON, $P = 0.0006$ and $P = 0.03$, respectively. The reaction time to the first ejaculation decreased ($P < 0.05$) in the GeCG from 526.6 ± 101.6 to 199.8 ± 113.0 seconds. The number of ejaculations during the serviceability test in the GeCG increased twofold ($P < 0.01$). In the GCON, there were no statistical changes in any of the previous variables. **Implications:** The application of eCG in rams stimulates testosterone levels and increases sperm concentration and sexual performance during the sexual rest season, which could improve the productive rates of a herd. However, factors to consider include dose, frequency of administration, breed, and season of the year. **Conclusion:** The application of two doses of 1000 IU of equine chorionic gonadotropin at an interval of four days in rams during the sexual rest season (63 days) increases blood testosterone levels, sperm concentration, and the number of ejaculations, in addition to reducing reaction time. **Key words:** PMSG; reproductive seasonality; serving capacity tests; ram; semen.

RESUMEN

Antecedentes: Tratamientos hormonales son aplicados en carneros con el propósito de incrementar sus parámetros y características reproductivas durante la estación de reposo sexual. Una alternativa hormonal es el uso de gonadotropina coriónica equina (eCG), sin embargo, ha sido evaluada por periodos cortos en carneros. **Objetivo:** Evaluar el efecto a largo plazo (63 días) de la administración de eCG sobre los niveles de testosterona, comportamiento sexual y actividad espermática de los carneros durante la estación de reposo sexual. **Metodología:** Se utilizaron 20 carneros distribuidos aleatoriamente en dos grupos: un grupo tratado (GeCG, n=10), al cual se le administraron dos dosis intramusculares de 1000 UI de eCG los días 0 y 4 del experimento, y un grupo control (GCON, n=10), al que no se le administró ninguna hormona. En ambos grupos se evaluaron los niveles de testosterona, la capacidad de servicio, así como las características testiculares y espermáticas en los días -14, -7, -1, 7, 14, 28 y 63. **Resultados:** Los niveles de testosterona y el número de espermatozoides fueron mayores en el GeCG que en el GCON, $P = 0.0006$ y $P = 0.03$, respectivamente. El tiempo de reacción disminuyó ($P < 0.05$) del GeCG de 526.6 ± 101.6 a 199.8 ± 113.0 segundos. El número de eyaculaciones durante la prueba de capacidad de servicio en el GeCG incrementó significativamente (P

† Submitted January 20, 2026 – Accepted August 14, 2026. <http://doi.org/10.56369/tsaes.6794>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

ORCID = N. Clemente-Ovando: <http://orcid.org/0009-0009-0198-4076>; V. Aguirre-Flores: <http://orcid.org/0000-0001-6756-0844>; R. Vázquez-Rosales: <http://orcid.org/0000-0002-0997-339X>; F.I. Flores-Pérez: <http://orcid.org/0000-0003-0686-809X>

< 0.01). En el GCON no hubo cambios estadísticos en ninguna de las variables anteriores. **Implicaciones:** La aplicación de eCG en carneros estimula los niveles de testosterona y aumenta la concentración espermática y el número de eyaculaciones durante la estación de reposo sexual, lo que podría mejorar los índices productivos de un hato, sin embargo, adecuar la dosis, frecuencia de administración, la raza y la estación del año son factores a considerar. **Conclusión:** La aplicación de dos dosis de 1000 U.I de gonadotropina coriónica equina a intervalos de cuatro días en carneros durante la estación de reposo sexual (63 días) incrementa los niveles de testosterona en sangre, la concentración espermática y el número de eyaculaciones, además de disminuir el tiempo de reacción.

Palabras claves: PMSG; estacionalidad reproductiva; prueba de capacidad de servicio; carnero; semen.

INTRODUCCIÓN

Los carneros de razas originarias de latitudes altas y climas templados presentan una estacionalidad reproductiva marcada y se acepta que las variaciones diarias del fotoperiodo controlan su reproducción (Abecia *et al.*, 2024; Orihuela, 2014; Perkins y Roselli, 2007). A pesar de trasladarse a climas tropicales, siguen mostrando un patrón reproductivo similar al lugar de origen (Milczewski *et al.*, 2015; Clemente *et al.*, 2012; Arroyo *et al.*, 2007; Kafi *et al.*, 2004). Los carneros de estas razas presentan fluctuaciones estacionales en el comportamiento sexual, la actividad hormonal, la producción espermática, el peso y el volumen testicular (Zaher *et al.*, 2020; Gündogan, 2007; Dickson y Sanford, 2005; Avdi *et al.*, 2004; Dufour *et al.*, 1984). Asimismo, carneros de razas originarias de regiones tropicales, menores a 35° de latitud, son afectados por las variaciones diarias del fotoperiodo existentes en estas regiones, sin embargo, es menos evidente la disminución de su comportamiento sexual y características testiculares (Sanchez-Davila *et al.*, 2020; Cárdenas-Gallegos *et al.*, 2012; Aguirre *et al.*, 2007).

Específicamente, en latitudes de 18 a 19° norte, la estacionalidad reproductiva se extiende principalmente de julio a febrero, abarcando las estaciones de verano, otoño e invierno. En contraste, el periodo no reproductivo ocurre de marzo a junio, correspondiente a la primavera y verano, en este tiempo las ovejas no presentan celos ni ovulaciones y generalmente se le llama anestro estacional, mientras que en los carneros se presenta el denominado reposo sexual. Este último se define como una fase de disminución funcional del eje hipotálamo-hipófisis-gónada, asociada al fotoperiodo largo (Delgadillo *et al.*, 2008), en la que se observa una reducción en la secreción de gonadotropinas y testosterona, menor actividad espermatogénica, disminución del volumen testicular y una reducción en la libido, tanto en animales de origen tropical como septentrional (Clemente *et al.*, 2013; Aguirre *et al.*, 2007; De Lucas-Tron *et al.*, 1997).

Tratamientos con bioestímulos, como la utilización de ovejas en celo para estimular a carneros previos a su uso en el efecto macho, incrementan el comportamiento sexual y los niveles de testosterona durante la estación no reproductiva (Ungerfeld y Silva,

2004; Rosa *et al.*, 2000). También tratamientos hormonales en los carneros como la aplicación directa de testosterona (Calderón-Leyva *et al.*, 2019), el implante solo de melatonina (Rekik *et al.*, 2015; Chemineau *et al.*, 1992) o combinado con tratamiento fotoperiódico (Abecia *et al.*, 2016) se utilizan en ovinos y caprinos para contrarrestar el efecto del fotoperiodo sobre el comportamiento sexual y algunas características reproductivas. Asimismo, la aplicación de gonadotropina coriónica equina (eCG) en carneros incrementa los niveles de testosterona y al utilizarlos como bioestímulos inducen más celos, ovulaciones y gestaciones en ovejas durante la época no reproductiva en comparación con carneros controles (Ungerfeld *et al.*, 2014).

La aplicación de eCG en carneros tiene efectos sobre el aumento de la testosterona (Price *et al.*, 1991; Hochereau-de-Reviere *et al.*, 1990), la actividad espermática (Courot *et al.*, 1979) y la actividad sexual, relacionados con los niveles de testosterona (Ungerfeld *et al.*, 2019). Sin embargo, sus efectos en la producción de testosterona se han estudiado en periodos cortos no más de 24 días (Beracochea *et al.*, 2020; Ungerfeld *et al.*, 2014; Price *et al.*, 1991; Hochereau-de-Reviere *et al.*, 1990) y se sabe que la relación entre la testosterona y el comportamiento sexual no es inmediata, ya que se requieren entre 4 y 8 semanas para observar efectos sobre el comportamiento sexual (D'Occhio y Brooks, 1982; Lincoln y Davidson, 1977), en venados se ha reportado el reinicio de la actividad espermática después de 2 meses de su aplicación (Ungerfeld, 2012) mientras que en machos cabríos incrementa la concentración espermática después de 54 días (Beracochea *et al.*, 2018).

Por lo anterior, se propone la hipótesis que la administración de dos dosis de 1000 U.I de eCG en carneros de pelo durante la estación de reposo sexual incrementa los niveles de testosterona, el comportamiento sexual y la concentración espermática 63 días después de su aplicación.

Por tal motivo, el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto a largo plazo (63 días) de la administración de gonadotropina coriónica equina (eCG) sobre los niveles de testosterona, el comportamiento sexual y la actividad espermática de los carneros durante la estación de reposo sexual.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El trabajo se realizó en el campo experimental de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Estado de Morelos ubicada a una latitud de 18° 37' norte y longitud 99° 19' oeste, a 1893 metros sobre el nivel del mar, con un promedio de lluvias y temperatura anual de 800 mm y 23 °C (Servicio Meteorológico Nacional, estación UAEM, 2025). El estudio se llevó a cabo durante la estación de reposo sexual (días largos), comprendido entre los meses de abril a junio, correspondiente a la estación primavera-verano (Aguirre *et al.*, 2007).

Animales

Se utilizaron 20 carneros en total: 13 F1 katahdin x santa cruz y 7 katahdin, todos sin experiencia sexual, con una edad de 12.9 ± 1.2 meses y un peso de 75.8 ± 5.6 kg (promedio $\pm$ error estándar). Los carneros, desde su destete hasta el inicio del experimento, se mantuvieron juntos en confinamiento total en un corral aislados, a 20 metros de las hembras, evitando el contacto físico y visual. Se alimentaron diariamente con rastrojo de maíz molido a libre demanda y con 1 kg/carnero/día de concentrado comercial con 16% de proteína cruda. El agua se suministró *ad libitum*.

Debido a la disponibilidad limitada de carneros de una sola raza, fue necesario incluir una raza pura y una F1, distribuidos aleatoriamente en el grupo tratado GeCG (4 puros y 6 F1) y en el control GCON (3 puros y 7 F1), con $n=10$ carneros en cada grupo. Esta decisión no compromete la validez del estudio, ya que la raza no es la variable de interés y ambos genotipos fueron distribuidos entre los tratamientos, lo que evita confundir la raza con el efecto experimental. Además, la literatura demuestra que la variación intra-raza en libido, comportamiento sexual y producción espermática puede ser igual o mayor que la variación inter-raza (Chemineau *et al.*, 2007), y que la fisiología reproductiva básica del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal es altamente conservada entre razas ovinas (Hafez y Hafez, 2013). Por ello, la inclusión de dos genotipos, controlada mediante el balance y el análisis estadístico apropiado, es metodológicamente válida y permite mantener el tamaño muestral necesario para garantizar el poder estadístico del estudio.

Al grupo tratado (GeCG) se le administraron por vía intramuscular dos dosis de 1000 UI de eCG (FOLLIGON® Intervet MSD Animal Health) con un intervalo de 4 días entre ellas, debido a que en trabajos previos Beracochea *et al.* (2020), aplicaron 400 y 700 U.I de eCG con resultados poco eficaces. Al grupo de control (GCON) no se le administró ninguna hormona.

El tamaño de la muestra se estimó para comparar dos grupos, con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ y una potencia de 0.80. El cálculo dio un tamaño de muestra de 10 animales por grupo. El tamaño de la muestra permite observar un efecto ($d \approx 1.25$) entre el grupo tratado con eCG y el grupo de control (Lakens, 2013).

Medición de variables

Los carneros fueron evaluados bajo un diseño de medidas repetidas, realizando todas las determinaciones a una hora estandarizada (10:00 h) para minimizar la variabilidad circadiana. Las evaluaciones se llevaron a cabo en el siguiente orden: 1) Colecta de muestras sanguíneas para determinar la testosterona; 2) Medición de circunferencia y volumen testiculares; 3) Colecta de semen, en la que se evaluaron la concentración espermática y el volumen del eyaculado; 4) Pruebas de capacidad de servicio, en las que se registraron el número de eyaculaciones y el tiempo de reacción.

Se estableció un periodo basal previo al tratamiento, con mediciones en los días -14, -7 y -1 respecto al inicio de la aplicación de eCG (día 0), con el objetivo de caracterizar la variabilidad individual pretratamiento. Posteriormente, se realizaron evaluaciones los días 7, 14, 28 y 63, con el fin de monitorear la respuesta fisiológica y reproductiva al tratamiento en comparación con el grupo control.

La selección de los puntos de muestreo se basó en criterios fisiológicos y experimentales: los días 7 y 14 permitieron evaluar respuestas tempranas asociadas a cambios hormonales y espermátogénicos iniciales; el día 28 correspondió a un punto intermedio del ciclo espermátogénico; y el día 63 se incluyó como referencia de respuesta tardía, considerando la duración completa del proceso de espermátogénesis en ovinos.

Colecta de sangre y medición de testosterona

La concentración sérica de testosterona se determinó mediante una muestra de sangre obtenida de 13 carneros escogidos al azar, 7 machos del GeCG y 6 machos del GCON, se hizo así, solo para esta variable adaptada de las metodologías previamente utilizadas en aves y roedores (García-Crespo *et al.*, 2008; Jawor *et al.*, 2006), debido a que el objetivo del estudio fue comparar tratamientos y no variación individual, se realizaron muestreos los días -7 y -1 previos a la administración de eCG, con el fin de establecer valores basales. Posteriormente, las determinaciones se efectuaron los días 7, 14, 28 y 63, siguiendo el mismo esquema temporal que el aplicado al resto de las variables evaluadas. Las muestras sanguíneas se obtuvieron mediante la punción de la vena yugular con una aguja y un tubo vacutainer sin coagulante e

inmediatamente centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos para la separación y el almacenamiento del suero a -4 °C hasta su análisis por radioinmunoanálisis (RIA), en fase sólida con un kit comercial (Coat-A-Count Total Testosterone de Siemens) con una sensibilidad de 0.06 nmol/L y coeficiente de variación del 3.41% intraensayo.

Circunferencia escrotal y volumen testicular

Las mediciones de la circunferencia testicular se obtuvieron presionando suavemente los testículos hacia la parte inferior del escroto y luego midiendo la mayor circunferencia con una cinta métrica de plástico flexible; la medida se expresa en centímetros. El volumen testicular se midió mediante la inmersión de los testículos en un recipiente graduado y se calculó a partir del desplazamiento de agua, según el principio de Arquímedes (Montes-Garrido *et al.*, 2023). Se tomó la lectura directa del agua que queda en el recipiente y se calculó la diferencia del volumen desplazado; la medida se da en mililitros (mL) de acuerdo con la metodología de Aguirre *et al.* (2007).

Colecta de semen, volumen del eyaculado y concentración espermática

Los carneros del grupo tratado (GeCG; n = 10) y del grupo control (GCON; n = 10) fueron sometidos a colecta de semen mediante vagina artificial en presencia de ovejas que no estaban en celo, en los días -14, -7 y -1 previos a la administración de eCG, con el propósito de habituar a los animales al manejo experimental y establecer valores basales antes del estímulo hormonal. Posteriormente, las colectas se repitieron en los días 7, 14, 28 y 63 posteriores al tratamiento, con el objetivo de evaluar la respuesta a la eCG en diferentes periodos: corto plazo (7 días), mediano plazo (14 y 28 días) y largo plazo (63 días), este último correspondiente a un ciclo completo de espermatogénesis.

La colecta se realizó utilizando como estímulo a ovejas no en celo sujetas en una trampa de contención, para evitar un estímulo adicional en los carneros. Los carneros se identificaron mediante numeración, y las colectas se realizaron en un orden rotatorio para minimizar los efectos de la habituación. Para cada carnero, se utilizó una hembra diferente para reducir posibles sesgos derivados de una estimulación adicional.

El volumen del eyaculado se determinó obteniendo la muestra directamente en un tubo transparente y graduado utilizado en la vagina artificial, teniendo en cuenta evitar la formación de espuma o burbujas que pudieran interferir con la medición y afectar la estimación del volumen real.

La concentración espermática se determinó directamente mediante un hemocitómetro (cámara de Neubauer) y un microscopio óptico. Para ello, una muestra del eyaculado se diluyó a una proporción de 1:200 en agua destilada para inmovilizar los espermatozoides. Después, una gota de la muestra diluida se colocó en la cámara Neubauer y se dejó reposar de 3 a 5 minutos para permitir la sedimentación. Se realizó el conteo de las cabezas espermáticas en cinco cuadros grandes de la retícula (en las cuatro esquinas y en el centro), utilizando aumentos de 10X o 40X. La concentración espermática se calcula mediante la siguiente fórmula: Concentración espermática (espermatozoides/mL) = número de espermatozoides contados $\times 10^7$. Este factor de conversión considera tanto la dilución realizada como el volumen de la cámara. El resultado obtenido representa la cantidad de espermatozoides por mililitro de semen (Ávalos-Rodríguez *et al.*, 2018).

Prueba de capacidad de servicio, número de eyaculaciones y tiempo de reacción

La prueba de capacidad de servicio se realizó con algunas modificaciones, conforme a lo descrito por Ibarra *et al.* (1999). Se evaluaron simultáneamente dos carneros en corrales independientes ubicados a 20 m del área de confinamiento, a fin de evitar distracciones o estímulos externos. Los corrales, de 3 $\times$ 5 m, contaban con piso de concreto y techo de lámina, y estaban separados entre sí mediante láminas sólidas de metal para impedir el contacto visual.

En cada corral, un carnero fue expuesto durante 20 minutos a una hembra no en celo, distinta, sujeta en una trampa de contención. Siguiendo el mismo procedimiento descrito para la colecta de semen. El orden de las pruebas se estableció de forma alternada entre carneros, con el objetivo de minimizar la habituación tanto al entorno como a las hembras.

Las variables de comportamiento evaluadas:

Eyaculaciones: definidas como montas exitosas en las que el macho presentó movimientos pélvicos vigorosos, acompañados de la propulsión de las extremidades posteriores, que culminaron en la eyaculación. Seguido de un periodo de latencia sin mostrar interés por la hembra.

Tiempo de reacción a la primera eyaculación: definido como el intervalo de tiempo que transcurre desde el inicio de la prueba hasta la primera eyaculación.

Análisis de datos

Las pruebas de cada variable obtenidas antes del día 0 se promediaron para obtener un único valor basal previo a la administración de la primera dosis de la hormona eCG.

Los datos de testosterona, circunferencia escrotal, volumen testicular, concentración espermática, número de eyaculaciones y tiempo de reacción se analizaron mediante un modelo lineal mixto con medidas repetidas. El modelo sirve para datos que se recogen a lo largo del tiempo y que varían entre carneros. El modelo incluyó como efectos fijos el grupo de carneros (GeCG o GCON), el día de muestreo y la interacción grupo $\times$ día. Además, el modelo asignó al carnero anidado dentro del grupo de forma aleatoria para representar la variabilidad intraindividual. Revisamos los supuestos del modelo mediante el análisis de los residuos. La prueba de Shapiro–Wilk ($W = 0.97$, $P = 0.28$) indicó normalidad, y los residuos no se apartaron de manera significativa de una distribución normal. La homogeneidad de varianzas se confirmó mediante la prueba de Levene ($F = 1.12$, $P = 0.34$), y no encontramos evidencia de heterocedasticidad ni entre los grupos ni entre los momentos de muestreo. Se verificaron la independencia de los errores revisando los gráficos de residuos frente a los valores ajustados y no se observaron patrones sistemáticos. Se realizaron comparaciones de medias ajustadas mediante los estimadores de mínimos cuadrados (LSMeans), con el ajuste de Tukey para comparaciones múltiples. Los análisis se efectuaron en SAS (The SAS System 9 para Windows). El nivel de significancia fue $P \leq 0.05$.

RESULTADOS

La concentración de testosterona varió de manera distinta entre los grupos experimentales. En el grupo tratado con eCG (GeCG), la testosterona aumentó significativamente entre el tiempo basal y el día 7, pasando de 18 a 136 nmol/L, y la diferencia fue estadísticamente significativa ($P = 0.0001$). Después, la testosterona bajó y se mantuvo estable en los días 14, 28 y 63, con valores de 39.5, 30 y 30 nmol/L, y no hubo diferencias entre esos momentos ($P = 0.14$). En contraste, el grupo control (GCON) mantuvo los niveles de testosterona sin cambios durante los 63 días de evaluación. Los valores de testosterona estuvieron entre 17 y 38 nmol/L y no hubo diferencias en la testosterona entre los momentos de muestreo ($P = 0.13$). El comportamiento del GeCG indica que la testosterona no cambia de la misma manera que en el grupo GCON a lo largo del tiempo. Esa diferencia se debe a una interacción entre el grupo y el tiempo ($P = 0.001$; ver la figura 1).

La concentración espermática mostró patrones temporales contrastantes entre los grupos experimentales. En el GeCG, el número de

espermatozoides aumentó de manera sostenida desde el tiempo basal ($310 \times 10^7/\text{mL}$) hasta los días 7, 14, 28 y 63 (354 , 377 , 384 y $419 \times 10^7/\text{mL}$, respectivamente). En todos los momentos evaluados, los valores superaron significativamente el nivel inicial ($P = 0.01$), lo que indica que el tratamiento hormonal generó un incremento progresivo y acumulativo de la producción espermática. En contraste, el GCON no mostró una tendencia que suba siempre. Los valores fueron menores que el basal en el día 7 ($273 \times 10^7/\text{mL}$), en el día 14 ($208 \times 10^7/\text{mL}$) y en el día 63 ($184 \times 10^7/\text{mL}$). Los valores fueron mayores que el basal solo en el día 28 ($362 \times 10^7/\text{mL}$). A pesar de las variaciones, todos los valores fueron diferentes del valor basal, con diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.01$). El tiempo, por sí solo, modificó la concentración espermática, pero no de manera consistente. Las comparaciones directas entre los grupos mostraron diferencias en momentos clave. El día 14, el grupo GeCG presentó $377 \pm 37.1 \times 10^7/\text{mL}$, mientras que el grupo GCON presentó $224.2 \pm 38.0 \times 10^7/\text{mL}$ ($P = 0.007$). En el día 63, el grupo que recibió el tratamiento alcanzó $419.4 \pm 4.7 \times 10^7/\text{mL}$, frente a los $201.4 \pm 33.4 \times 10^7/\text{mL}$ del grupo control ($P = 0.0005$). Al comparar las trayectorias temporales de los dos grupos vemos una interacción importante entre el tratamiento y el tiempo. El grupo GeCG muestra una curva que sube sin parar mientras el GCON muestra fluctuaciones sin una tendencia clara ($P = 0.0003$; ver la figura 1).

El grupo GeCG redujo notablemente el tiempo de reacción en los días 7, 14, 28 y 63, en comparación con el valor basal ($P < 0.05$). La reducción del grupo GeCG muestra una mejora constante en la rapidez de la respuesta sexual. Por otro lado, el grupo GCON mostró cambios en los tiempos, pero no hubo diferencias respecto del valor basal ($P > 0.05$), lo que se mantuvo estable durante todo el periodo. Se observa una interacción significativa entre el tratamiento y el tiempo al comparar las trayectorias temporales de ambos grupos. El GeCG redujo poco a poco el tiempo de reacción en cambio el GCON no mostró cambios significativos ($P = 0.0004$; ver la figura 2).

El GeCG aumentó el número de eyaculaciones en un plazo de 20 minutos y pasó de 1.1 en el basal a 2.4 en el día 63. Asimismo, duplicó el valor inicial y mostró una diferencia significativa ($P < 0.01$). En contraste, el grupo GCON no presentó cambios relevantes durante el estudio, registró 1.7 al inicio y 2.4 al final; $P = 0.16$, con un patrón estable. El incremento sostenido en el grupo tratado, frente a la estabilidad del grupo control, es consistente con una interacción significativa entre el tratamiento y el tiempo ($P = 0.001$; ver la figura 2).

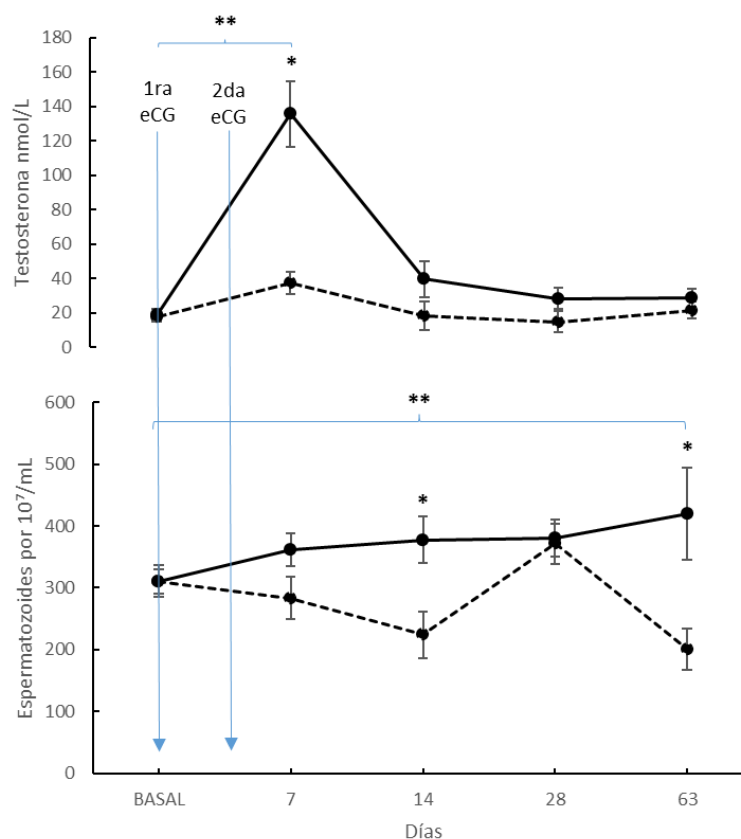


Figura 1. Promedio ($\pm$ error estándar) de la concentración de testosterona y de la concentración espermática ($\times 10^7/\text{mL}$) en carneros tratados con eCG (GeCG) y en carneros control (GCON) durante la estación de reposo sexual. Testosterona: tratamiento, $P = 0.0006$; tiempo, $P = 0.0001$; tratamiento $\times$ tiempo, $P = 0.001$. Concentración espermática: tratamiento, $P = 0.03$; tiempo, $P = 0.01$; tratamiento $\times$ tiempo, $P = 0.0003$. *Diferencias significativas entre grupos o tiempos ($P < 0.05$).

El volumen del eyaculado se mantuvo similar entre los grupos GeCG y GCON durante todo el periodo de evaluación. El volumen del eyaculado no mostró cambios, ni aumento ni disminución, desde el estado basal hasta el día 63. El análisis mostró que el volumen del eyaculado no presentó diferencias entre los tratamientos ($P = 0.51$) y que el tiempo no tuvo efecto ($P = 0.60$). El recorrido del volumen del eyaculado en ambos grupos fue paralelo y sin cambios significativos. Por eso la interacción grupo $\times$ tiempo no fue significativa ($P = 0.80$; ver figura 2).

El volumen testicular aumentó de forma gradual en ambos grupos, GeCG y GCON, desde el valor basal hasta los días 7, 28 y 63. En la fase inicial, el volumen testicular de ambos grupos fue similar. El análisis mostró una diferencia entre el valor basal y los valores de los días posteriores ($P < 0.05$), lo que indica que el efecto dependía del tiempo. No se observaron diferencias entre los grupos debido al tratamiento, ya que ambos mostraron el mismo comportamiento. Como las trayectorias temporales fueron paralelas y el tratamiento no modificó la respuesta, la interacción

grupo $\times$ tiempo no fue significativa ($P = 0.70$). Esto confirma que el aumento del volumen testicular durante el periodo experimental se debe al paso del tiempo y no al tratamiento aplicado (ver figura 2).

La circunferencia testicular varió ligeramente en ambos grupos. En la fase basal, las circunferencias testiculares del GeCG y GCON fueron similares. Después, la circunferencia testicular bajó y luego volvió a subir en ambos grupos, con un patrón similar. En el GeCG y GCON, la circunferencia testicular disminuyó de forma significativa respecto al valor basal y al día 7 ($P = 0.04$). Luego, la circunferencia testicular aumentó ligeramente y volvió a su valor inicial. Los dos grupos mostraron el mismo patrón a lo largo del tiempo. No se observó diferencias atribuibles al tratamiento. No se encontró una interacción significativa entre el grupo y el tiempo; el valor aproximado de $P = 0.65$. Los resultados indican que las variaciones en la circunferencia testicular se deben a cambios a lo largo del tiempo y no al efecto del tratamiento (ver figura 2).

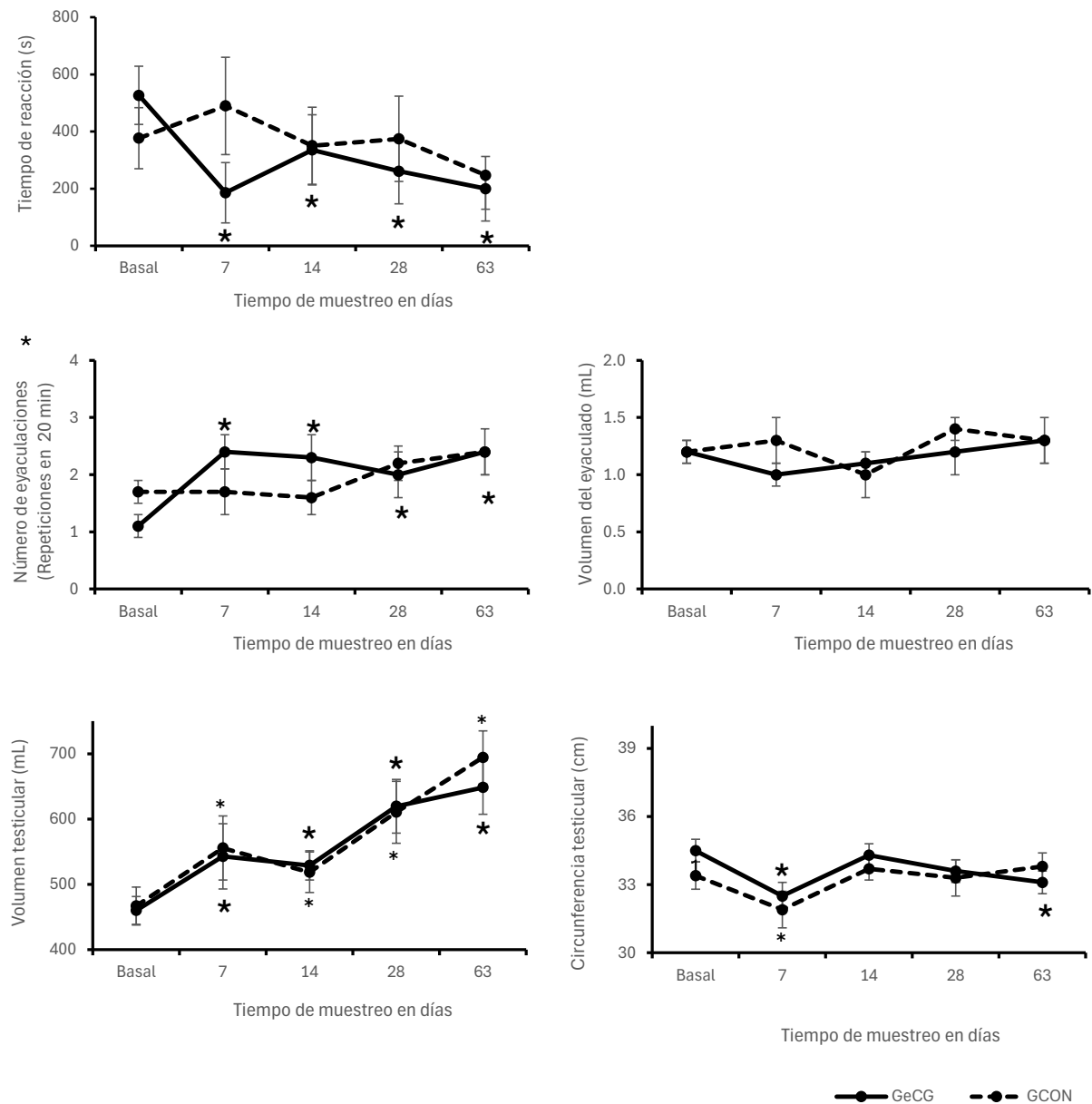


Figura 2. Promedio ($\pm$ error estándar) del número de eyaculaciones, volumen del eyaculado, volumen testicular, circunferencia testicular y tiempo de reacción en carneros tratados con 1000 U.I. de gonadotropina coriónica equina (GeCG) los días 0 y 4, y en carneros control (GCON), evaluados frente a ovejas durante la estación de reposo sexual. Número de eyaculaciones: tratamiento, $P < 0.01$; tiempo, $P < 0.01$; tratamiento $\times$ tiempo, $P = 0.001$. Volumen del eyaculado: tratamiento, $P = 0.51$; tiempo, $P = 0.60$; tratamiento $\times$ tiempo, $P = 0.80$. Volumen testicular: tratamiento, $P > 0.05$; tiempo, $P = 0.05$; tratamiento $\times$ tiempo, $P = 0.70$. Circunferencia testicular: tratamiento, $P > 0.05$; tiempo, $P = 0.04$; tratamiento $\times$ tiempo, $P = 0.65$. Tiempo de reacción: tratamiento, $P < 0.05$; tiempo, $P < 0.05$; tratamiento $\times$ tiempo, $P = 0.0004$. El asterisco indica diferencia entre el día 0 y el día señalado en cada grupo ($P < 0.05$).

DISCUSIÓN

La administración de eCG provocó una respuesta del sistema hormonal, con un aumento temprano de la testosterona en sangre. El experimento mostró que la

estabilización de la testosterona se mantuvo desde el día 14 hasta el final del periodo experimental. Este comportamiento se parece al patrón descrito antes en ovinos. Cuando se administra eCG a ovinos, eleva la testosterona por un tiempo; los valores alcanzan su

pico entre cuatro y ocho días después de la administración (Beracochea *et al.*, 2020; Ungerfeld *et al.*, 2019; Price *et al.*, 1991). Respuestas similares se han observado en machos cabríos (Beracochea *et al.*, 2018), ratones (Warita *et al.*, 2008) y toros (Ledezma-Torres *et al.*, 2023). Sin embargo, la magnitud de la respuesta endocrina puede variar según la dosis administrada, la raza y la edad de los animales, la duración de la respuesta endocrina también puede variar según la época reproductiva (Beracochea *et al.*, 2020; Ungerfeld *et al.*, 2019; Ungerfeld y Bielli, 2008; Price *et al.*, 1991). En este estudio se observó un incremento inicial, seguido de una estabilización de las concentraciones de testosterona, lo que indica que la eCG produjo un estímulo endocrino temprano sin modificar de forma sostenida los niveles circulantes de esta hormona, mientras que el grupo control mantuvo concentraciones relativamente constantes durante todo el periodo experimental.

El patrón observado en la concentración espermática no coincidió con el de la testosterona. La respuesta endocrina ocurrió en la primera semana tras el tratamiento, pero la producción espermática aumentó gradualmente desde el día 7 hasta el día 63. La producción espermática superó los niveles observados al inicio del estudio. En contraste, el grupo control mostró fluctuaciones sin tendencia. La diferencia temporal entre ambas variables es esperable, ya que la espermatogénesis es un proceso continuo que requiere la coordinación de las señales hormonales, la proliferación y la diferenciación de las células germinales, así como el apoyo de las células de Sertoli; por ello, los cambios en la producción de espermatozoides se observan después del primer estímulo hormonal (Garza-Brenner *et al.*, 2024; Johnson *et al.*, 2000).

Esta secuencia temporal respalda la idea de que la eCG ejerce una acción que favorece la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH). Al principio, la eCG estimula a las células de Leydig, lo que aumenta la síntesis de testosterona. Al mismo tiempo, la acción conjunta de la FSH y la testosterona sobre las células de Sertoli mantiene y desarrolla el proceso espermatogénico (Murphy, 2012). El aumento temprano de la testosterona probablemente actuó como estímulo inicial y favoreció el mantenimiento de la concentración espermática observada durante el periodo experimental.

La testosterona y la producción de espermatozoides están relacionadas, como lo evidencia la literatura (Lei *et al.*, 2025; Montes-Garrido *et al.*, 2023). Sin embargo, la respuesta a la eCG varía de un estudio a otro. En los machos cabríos se ha observado una mejora en algunos parámetros seminales durante la estación no reproductiva, pero la concentración espermática no aumenta de forma clara al inicio de la

estación reproductiva posterior debido al tratamiento (Beracochea *et al.*, 2018). Los estudios muestran que la eCG puede restaurar la espermatogénesis en venados con azoospermia (Ungerfeld, 2012) y aumentar el número de células espermáticas en ratones (Patil *et al.*, 1998; Chemes *et al.*, 1976). Por otro lado, Beracochea *et al.* (2020) no encontraron cambios en la concentración espermática de carneros que recibieron tres dosis de eCG (0, 400 y 700 UI) cada seis días. Una posible explicación de la discrepancia es que el estudio evaluó solo un periodo de 24 días. El periodo de 24 días puede ser insuficiente para cubrir la duración completa del ciclo espermatogénico (Garza-Brenner *et al.*, 2024; Johnson *et al.*, 2000). Además, las diferencias en las dosis, la frecuencia de aplicación, las características raciales y las condiciones experimentales pueden explicar la variabilidad observada entre las investigaciones.

Los resultados obtenidos muestran que la respuesta de la reproducción inducida por la eCG no se explica únicamente por el aumento transitorio de la testosterona en sangre observado durante la primera semana tras el tratamiento. Aunque dicho aumento hormonal fue evidente, el comportamiento reproductivo continuó mejorando gradualmente a lo largo del periodo de evaluación. El tiempo de reacción bajó poco a poco, y el número de eyaculaciones siguió subiendo hasta el día 63, aun cuando la testosterona se mantuvo sin cambios. Este patrón temporal indica que la respuesta conductual depende de los mecanismos fisiológicos. La respuesta conductual no depende solo de la acción inmediata de los andrógenos circulantes.

Varios investigadores han señalado que la testosterona es uno de los reguladores del comportamiento sexual en machos, también que mantener la testosterona en niveles adecuados ayuda a que la libido y la actividad sexual se expresen (Orihuela, 2014; Perkins y Roselli, 2007; D'Occhio y Brooks, 1982). Pero los resultados de este estudio indican que la mejora del comportamiento sexual se mantuvo, aunque los niveles séricos de testosterona se estabilizaron. Por lo tanto, es probable que la respuesta inducida por la eCG incluya tantos procesos del sistema nervioso como de los tejidos. Los procesos van más allá del aumento transitorio de esta hormona.

Una posible explicación fisiológica es que el estímulo hormonal inicial aumente la sensibilidad de los tejidos diana a los andrógenos o modifique los circuitos nerviosos que regulan la conducta sexual. Estas estructuras se encuentran en el bulbo olfatorio, el hipotálamo y la médula espinal. El papel del bulbo olfatorio, del hipotálamo y de la médula espinal en la integración de los estímulos sexuales ha sido ampliamente documentado (Hull y Dominguez, 2019). También la acción local de los metabolitos androgénicos, como la dihidrotestosterona, puede

ayudar a mantener la libido y la capacidad copulatoria aun cuando las concentraciones de testosterona se mantengan constantes (Mantzoros *et al.*, 1995). En conjunto, los mecanismos pueden explicar por qué la respuesta conductual se prolongó más que la respuesta endocrina durante la primera semana del tratamiento.

La comparación con estudios anteriores muestra que el efecto de la eCG sobre el comportamiento sexual depende de las condiciones experimentales y del momento de la evaluación. Beracochea *et al.* (2020) observaron que el tiempo de reacción disminuyó, pero el número de eyaculaciones no cambió. La disminución del tiempo de reacción sin cambios en el número de eyaculaciones difiere de la observada en este estudio. En este estudio, el tiempo de reacción y el número de eyaculaciones mejoraron gradualmente durante los 63 días de seguimiento. Por el contrario, Ungerfeld *et al.* (2019) registraron más eyaculaciones y observaron que el comportamiento de cortejo se intensificó, hallazgo que coincide con lo observado en esta investigación. Los cambios probablemente reflejan variaciones en la duración de los estudios, la dosis administrada, la época reproductiva y las características fisiológicas de los animales evaluados.

En contraste con las variables conductuales, el tratamiento no provocó cambios significativos en el volumen del eyaculado. Los estudios en carneros (Beracochea *et al.*, 2020), en machos cabríos (Beracochea *et al.*, 2018) y en toretes (Ledezma-Torres *et al.*, 2023) también mostraron que el volumen del eyaculado se mantuvo constante. La falta de respuesta en esta variable, junto con la mejora en la conducta sexual y en la concentración de esperma, muestra que los distintos componentes de la función reproductiva del macho no responden de la misma manera a la estimulación hormonal. En cambio, cada componente presenta una dinámica y una sensibilidad propias de la eCG. Esa diferencia explica la variedad de respuestas observadas en los parámetros endocrinos, seminales y conductuales.

En general, las interacciones entre el tratamiento y el tiempo observadas en la testosterona, la concentración espermática, el tiempo de reacción y el número de eyaculaciones indican que la respuesta a la administración de eCG fue ordenada y específica en cada aspecto de la función reproductiva. La respuesta, en vez de generar cambios simultáneos, produjo respuestas coordinadas que reflejan la regulación endocrina y funcional del aparato reproductor.

El aumento temprano de la testosterona marca el primer paso de la secuencia. La eCG actúa como la LH y estimula a las células de Leydig. Esa estimulación hace que las células de Leydig produzcan más testosterona durante un breve periodo. La eCG también actúa como la FSH, esa acción ayuda a las células de

Sertoli a funcionar y a mantener la espermatogénesis (O'Donnell y Smith, 2026; Plant y Zeleznik, 2015; Smith y Walker, 2014; Walker, 2011). El desfase entre el pico de testosterona y el aumento de la concentración espermática ocurre. El cuerpo muestra una reacción que se espera cuando se produce un desfase entre el pico de testosterona y constituye una respuesta fisiológica esperable.

La espermatogénesis requiere más tiempo que la respuesta endocrina mediada por la eCG. La proliferación y la diferenciación de las células germinales tardan en aparecer en el eyaculado (O'Donnell y Smith, 2026; Smith y Walker, 2014; Walker, 2011; Johnson *et al.*, 2000; Hochereau-de Reviers *et al.*, 1987). El aumento de la concentración espermática, que se mantiene hasta el día 63, evidencia el efecto acumulado del estímulo endocrino aplicado al inicio.

En contraste, el volumen del eyaculado y las medidas de los testículos no cambiaron tras el tratamiento. La falta de interacción entre el tratamiento y el tiempo indica que las variaciones observadas se deben a cambios corporales durante el periodo del experimento. Eso sugiere que las modificaciones que afectan la función ocurren antes que los cambios en la forma del aparato reproductor.

Los resultados indican que la eCG mejora la capacidad reproductiva mediante varios mecanismos. El aumento de la testosterona activó el eje testicular y provocó la espermatogénesis. La reducción del tiempo de reacción y el aumento del número de eyaculaciones se asociaron con una mejora del comportamiento sexual. La persistencia de la respuesta tras la estabilización de la testosterona indica que la conducta sexual depende de la sensibilidad de los tejidos a los andrógenos. La conducta sexual también depende de la regulación neuroendocrina (Orihuela, 2014; Perkins y Roselli, 2007; Tilbrook y Clarke, 2001; Mantzoros *et al.*, 1995; D'Occhio y Brooks, 1982).

La eCG provocó una serie de cambios endocrinos, espermatogénicos y conductuales que indican una mejora de la función reproductiva del carnero. Los hallazgos refuerzan el fundamento para emplear la eCG como herramienta para optimizar el desempeño reproductivo de los sementales. Los hallazgos también respaldan el desarrollo de protocolos de administración de la eCG en razas y en condiciones de reproducción.

CONCLUSIÓN

La administración de dos dosis de 1000 UI de eCG, con un intervalo de cuatro días, durante la estación no reproductiva, produjo efectos fisiológicos y de comportamiento a largo plazo en los carneros. El tratamiento muestra que el eCG puede alterar la

función reproductiva, más allá de su acción endocrina en ese momento. Durante los 63 días, la eCG provocó incrementos en la testosterona, los espermatozoides y la conducta sexual, que mejoraron gradualmente. Se observó que el tiempo de reacción disminuyó y el número de eyaculaciones aumentó.

Funding. This study did not receive any funding.

Conflicts of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Compliance with ethical standards. The experimental procedures used in the current study followed the technical specifications of the Official Mexican Rule for the production, care, and use of laboratory animals NOM-062-ZOO-1999 (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 1999, DOF:22/08/2001) and the supervision of the internal committee in charge of the care and use of experimental animals of the Autonomous University of the State of Morelos, Mexico (UAEM).

Data availability. The data supporting the present study are available from the corresponding author at nefta850@hotmail.com.

Author contribution statement (CRediT). **N. Clemente** – Conceptualization, Formal analysis, Investigation and Data curation. **V. Aguirre** – Data curation, Resources and Funding acquisition and Writing – review & editing. **R. Vázquez** – Methodology, Investigation and Data curation. **I. Flores-Pérez** – Resources and Funding acquisition and Writing – review & editing.

REFERENCES

- Abecia, J.A., Chemineau, P. and Delgadillo, J.A., 2024. Advances in photoperiodic and biostimulations of seasonal reproduction in small ruminants. *Small Ruminant Research*, 235, 107286. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2024.107286>
- Abecia, J.A., Chemineau, P., Gómez, A., Keller, M., Forcada, F. and Delgadillo, J.A., 2016. Presence of photoperiod-melatonin-induced, sexually-activated rams in spring advances puberty in autumn-born ewe lambs. *Animal Reproduction Science*, 170, pp. 114-120. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.04.011>
- Aguirre, V., Orihuela, A. and Vázquez, R., 2007. Effect of semen collection frequency on seasonal variation in sexual behaviour, testosterone, testicular size and semen characteristics of tropical hair rams (*Ovis aries*). *Tropical Animal Health and Production*, 39, pp. 271–277. <https://doi.org/10.1007/s11250-007-9010-8>
- Arroyo, L.J., Gallegos-Sánchez, J., Villa-Godoy, A., Berruecos, J.M., Perera, G. and Valencia, J., 2007. Reproductive activity of Pelibuey and Suffolk ewes at 19° north latitude. *Animal Reproduction Science*, 102, pp. 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.09.025>
- Ávalos-Rodríguez, A., González-Santos, J.A., Vargas-Ibarra, A.K. and Herrera-Barragán, J.A., 2018. Evaluación seminal: concentración espermática. In: Recolección y manipulación seminal in vitro. Universidad Autónoma Metropolitana, pp. 24-26. epub 978-607-28-1300-7
- Avdi, M., Banos, G., Stefos, K. and Chemineau, P., 2004. Seasonal variation in testicular volume and sexual behavior of Chios and Serres rams. *Theriogenology*, 62, pp. 275–282. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.10.004>
- Beracochea, F., Manes, J., Viera, M.N., Santiago-Moreno, J. and Ungerfeld, R., 2020. Administration of equine Chorionic Gonadotrophin (eCG) to rams to improve the reproductive performance during the non-breeding season. *Livestock Science*, 240, 04125. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104125>
- Beracochea, F., Viera, M.N., Acevedo, L., Santiago-Moreno, J. and Ungerfeld, R., 2018. Equine Chorionic Gonadotropin (eCG) improves bucks' semen quality during the nonbreeding season. *Reproduction in Domestic Animals*, 53, pp. 1096–1102. <https://doi.org/10.1111/rda.13209>
- Calderón-Leyva, G., Meza-Herrera, C.A., Rodríguez-Martínez, R., Angel-García, O., Rivas-Muñoz, R., Delgado-Bermejo, J.V. and Véliz-Deras, F.G., 2019. Effect of glutamate and/or testosterone administration on appetitive and consummatory sexual behaviors in pubertal rams and their influence on the reproductive performance of nulliparous anovulatory ewes. *Journal of Veterinary Behavior*, 30 pp. 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2018.12.008>

- Cárdenas-Gallegos, M.A., Aké-López, J.R., Centurión-Castro, F. and Magaña-Monforte, J.G., 2012. The breed and season effects on scrotal circumference and semen characteristics of hair sheep rams under tropical conditions. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, pp. 92–94. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02001.x>
- Chemes, H.E., Podesta, E. and Rivarola, M.A., 1976. Action of testosterone, dihydrotestosterone and 5alpha androstane 3alpha, 17beta diol on the spermatogenesis of immature rats. *Biology of Reproduction*, 14, pp. 332–338. <https://doi.org/10.1095/biolreprod14.3.332>
- Chemineau, P., Malpaux, B., Brillard, J.P. and Fostier, A., 2007. Seasonality of reproduction and production in farm fishes, birds and mammals. *Animal*, 1, pp. 419–432. <https://doi.org/10.1017/S1751731107691873>
- Chemineau, P., Malpaux, B., Delgadillo, J.A., Guerin, Y., Ravault, J.P., Thimonier, J. and Pelletier, J., 1992. Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. *Animal Reproduction Science*, 30, pp. 157–184. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(92\)90010-B](https://doi.org/10.1016/0378-4320(92)90010-B)
- Clemente, N., Orihuela, A., Flores-Pérez, I., Aguirre, V. and Valencia, J., 2013. Reproductive behaviour of Saint Croix and Suffolk rams at medium latitudes (19° N) during long days while being exposed to Suffolk ewes in seasonal anestrus. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 45, pp. 67–70. <https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2013000100011>
- Clemente, N., Orihuela, A., Flores-Pérez, I., Aguirre, V., Ortiz, A., Solano, J. and Valencia, J., 2012. Reproductive activity of Suffolk ewes in seasonal anestrus after being exposed to Saint Croix or Suffolk rams. *Journal of Applied Animal Research*, 40, pp. 203–207. <https://doi.org/10.1080/09712119.2012.658060>
- Courrot, M., Hochereau-de-Reviere, M.T., Monet-Kuntz, C., Locatelli, A., Pisselet, C., Blanc, M.R. and Dacheux, J.L., 1979. Endocrinology of spermatogenesis in the hypophysectomized ram. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 26, pp.165–173.
- De Lucas-Tron, J., González, P.E. and Martínez, R.L., 1997. Estacionalidad reproductiva en ovejas de cinco razas en el Altiplano Central Mexicano. *Técnica Pecuaria en México*, 35, pp. 25–31. <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/620>
- Delgadillo, J.A., Vielma, J.I., Flores, J.A., Véliz, F.G., Duarte, G. and Hernández, H., 2008. La calidad del estímulo emitido por el macho determina la respuesta de las cabras sometidas al efecto macho. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 9, pp. 39–45.
- Dickson, K.A. and Sanford, L.M., 2005. Breed diversity in FSH, LH and testosterone regulation of testicular function and in libido of young adult rams on the southeastern Canadian prairies. *Small Ruminant Research*, 56, pp. 189–203. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2004.06.002>
- D'Occhio, M.J. and Brooks, D.E., 1982. Threshold of plasma testosterone required for normal mating activity in male sheep. *Hormones and Behavior*, 16, pp. 383–394. [https://doi.org/10.1016/0018-506x\(82\)90047-2](https://doi.org/10.1016/0018-506x(82)90047-2)
- Dufour, J.J., Fahmy, M.H. and Minvielle, F., 1984. Seasonal changes in breeding activity, testicular size, testosterone concentration and seminal characteristics in rams with long or short breeding season. *Journal of Animal Science*, 58, pp. 416–422. <https://doi.org/10.2527/jas1984.582416x>
- García-Crespo, D., Justo, R., Sáez-López, C., Rodríguez, M. and Fernández-Pérez, L., 2008. Testosterone and metabolic regulation: Effects of experimental manipulations in rodents. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 112, pp.120–126. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2008.09.012>
- Garza-Brenner, E., Sánchez-Dávila, F., Mauleón-Tolentino, K., Zapata-Campos, C.C., Luna-Palomera, C., Hernandez-Melendez, J., Gonzalez-Delgado, M. and Vázquez-Armijo, J.F., 2024. Systematic review of hormonal strategies to improve fertility in rams. *Animal Reproduction*, 21, e20240007. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2024-0007>
- Gündogan, M., 2007. Seasonal variation in serum testosterone, T3 and andrological parameters of two Turkish sheep breeds. *Small Ruminant Research*, 67, pp. 312–316.

- <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.11.005>
- Hafez, E.S.E. and Hafez, B., 2013. Reproduction in farm animals (7th ed.). Wiley-Blackwell.
- Hochereau-De Reviers, M.T., Copin, M., Seck, M., Monet-Kuntz, C., Cornu, C., Fontaine, I. and Elsen, J.M., 1990. Stimulation of testosterone production by PMSG injection in the ovine male: Effect of breed and age and application to males carrying or not carrying the "F" Booroola gene. *Animal Reproduction Science*, 23, pp. 21–32. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(90\)90012-5](https://doi.org/10.1016/0378-4320(90)90012-5)
- Hochereau-de Reviers, M.T., Monet-Kuntz, C. and Courrot, M., 1987. Spermatogenesis and Sertoli cell numbers and function in rams and bulls. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 34, pp. 101–114.
- Ibarra, D., Laborde, D., Olivera, J., Van Lier, E. and Burgeño, J., 1999. Comparación de tres pruebas para medir la capacidad de servicio en carneros adultos. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 31, pp. 189–196. <https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X1999000200005>
- Hull, E.M. and Dominguez, J.M., 2019. Neuroendocrine regulation of male sexual behavior. *Comprehensive Physiology*, 9, pp. 1383–1410. <https://doi.org/10.1002/j.2040-4603.2019.tb00093.x>
- Jawor, J.M., McGlothlin, J.W., Casto, J.M., Greives, T.J., Snajdr, E.A., Bentley, G.E. and Ketterson, E.D., 2006. Seasonal and individual variation in response to GnRH challenge in male dark-eyed juncos (*Junco hyemalis*). *Hormones and Behavior*, 50, pp. 762–772. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2006.06.004>
- Johnson, L., Varner, D.D., Roberts, M.E., Smith, T.L., Keillor, G.E. and Scrutchfield, W.L., 2000. Efficiency of spermatogenesis: A comparative approach. *Animal Reproduction Science*, 60–61, pp. 471–480. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00108-1](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00108-1)
- Kafi, M., Safdarian, M. and Hashemi, M., 2004. Seasonal variation in semen characteristics, scrotal circumference and libido of Persian Karakul rams. *Small Ruminant Research*, 53, pp. 133–139.
- <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.07.007>
- Lakens, D., 2013. Calculating and reporting effect sizes to facilitate cumulative science: A practical primer for t-tests and ANOVAs. *Frontiers in Psychology*, 4, 863. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2013.00863>
- Ledezma-Torres, R.A., Sánchez-Dávila, F., Luna-Palamera, C. and Vázquez-Armijo, J.F., 2023. La gonadotropina coriónica equina (eCG) modifica los niveles de testosterona, pero no la actividad reproductiva, en toros Holstein durante invierno. *ITEA-Información Técnica Económica Agraria*, 119, pp. 139–148. <https://doi.org/10.12706/itea.2022.013>
- Lei, T., Yang, Y. and Yang, W.X., 2025. Luteinizing Hormone Regulates Testosterone Production, Leydig Cell Proliferation, Differentiation, and Circadian Rhythm During Spermatogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 26, 3548. <https://doi.org/10.3390/ijms26083548>
- Lincoln, G.A. and Davidson, W., 1977. The relationship between sexual and aggressive behaviour, and pituitary and testicular activity during the seasonal sexual cycle of rams, and the influence of photoperiod. *Journal of Reproduction and Fertility*, 49, pp. 267–276. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0490267>
- Mantzoros, C.S., Georgiadis, E.I. and Trichopoulos, D., 1995. Contribution of dihydrotestosterone to male sexual behaviour. *British Medical Journal*, 310, pp. 1289–1291. <https://doi.org/10.1136/bmj.310.6990.1289>
- Milczewski, V., Chahad-Ehlers, S., Spencoski, K.M., Morais, R.N. and Soccol, V.T., 2015. Quantifying the Effect of Seasonality on Testicular Function of Suffolk Ram in Lower Latitude. *Small Ruminant Research*, 124, pp. 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.12.012>
- Montes-Garrido, R., Anel-Lopez, L., Riesco, M.F., Neila-Montero, M., Palacin-Martinez, C., Soriano-Úbeda, C., Boixo, J.C., de Paz, P., Anel, L. and Alvarez, M., 2023. Does Size Matter? Testicular Volume and Its Predictive Ability of Sperm Production in Rams. *Animals*, 13, 3204. <https://doi.org/10.3390/ani13203204>

- Murphy, B.D., 2012. Equine chorionic gonadotropin: an enigmatic but essential tool. *Animal Reproduction*, 9, pp. 223-230.
- O'Donnell, L. and Smith, L.B., 2026. Endocrinology of the Testis and Spermatogenesis. In: K.R. Feingold *et al.*, (Eds.) *Endotext*. MDText.com, Inc.
- Orihuela, T.A., 2014. La conducta sexual del carnero: Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 5, pp. 49-89. <http://doi.org/10.22319/rmcp.v5i1.3217>
- Patil, S.R., Sonar, A., Londonkar, R., Patil, S.R. and Patil, S.B., 1998. Efficacy of exogenous gonadotropins on the maintenance of spermatogenesis in pethidine treated albino rats. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 42, pp. 509-514.
- Perkins, A. and Roselli, C.E., 2007. The ram as a model for behavioral neuroendocrinology. *Hormones and behavior*, 52, pp. 70-77. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2007.03.016>
- Plant, T.M. and Zeleznik, A.J., (Eds.). 2015. *Knobil and Neill's physiology of reproduction* (4th ed.). Academic Press.
- Price, C.A., Hudson, N.L. and McNatty, K.P., 1991. Plasma LH, FSH and testosterone concentrations in adult rams which were homozygous carriers or non-carriers of the Booroola fecundity gene. *Journal of Reproduction and Fertility*, 91, pp. 267-275. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0910267>
- Rekik, M., Taboubi, R., Ben Salem, I., Fehri, Y., Sakly, C., Lassoued, N. and Hilali, M.E., 2015. Melatonin administration enhances the reproductive capacity of young rams under a southern Mediterranean environment. *Animal Science Journal*, 86, pp. 666-672. <https://doi.org/10.1111/asj.12350>
- Rosa, H.J.D., Juniper, D.T. and Bryant, M.J., 2000. The effect of exposure to oestrous ewes on rams' sexual behaviour, plasma testosterone concentration and ability to stimulate ovulation in seasonally anoestrous ewes. *Applied Animal Behaviour Science*, 67, pp. 293-305. [https://doi.org/10.1016/s0168-1591\(00\)00086-1](https://doi.org/10.1016/s0168-1591(00)00086-1)
- Sanchez-Davila, F., Bernal-Barragan, H., Vazquez-Armijo, J.F., López-Villalobos, N., Ledezma-Torres, R.A., Grizelj, J., Garza-Brenner, E., Arce-Vasquez, N. and Palomera, C.L., 2020. Annual variation in reproductive parameters and sexual behaviour of Saint Croix rams in a semi-desert region in Mexico. *Journal of Applied Animal Research*, 48, pp. 499-506. <https://doi.org/10.1080/09712119.2020.1830778>
- Servicio Meteorológico Nacional, 17 de julio del 2025. Comisión Nacional del Agua coordinación general del Servicio Meteorológico Nacional base de datos climatológica nacional. Estación 17037, Nombre; ESCUELA DE BIOLOGIA UAEM, Estado: Morelos, Municipio: Cuernavaca. https://smn.conagua.gob.mx/tools/RESCUES/Normales_Climatologicas/Diarios/mor/dial17037.txt.
- Smith, L.B. and Walker, W.H., 2014. The regulation of spermatogenesis by androgens. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 30, pp. 2-13. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.02.012>
- Tilbrook, A.J. and Clarke, I.J., 2001. Negative feedback regulation of the secretion and actions of gonadotropin-releasing hormone in males. *Biology of Reproduction*, 64, pp. 735-742. <https://doi.org/10.1095/biolreprod64.3.735>
- Ungerfeld, R. and Bielli, A., 2008. No change detected in body weight, scrotal circumference, semen characteristics and sexual behaviour during the development of prepubertal Milchschaf lambs after weekly administration of eCG. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, pp. 400-402. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.00922.x>
- Ungerfeld, R. and Silva, L., 2004. Ewe effect: endocrine and testicular changes in experienced adult and inexperienced young Corriedale rams used for the ram effect. *Animal Reproduction Science*, 80, pp. 251-259. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2003.07.002>
- Ungerfeld, R., 2012. Treatment with an equine chorionic gonadotrophin single dose restored spermatozoa production in an azoospermic pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) male: a case report. *Reproductive Medicine and Biology*, 12, pp. 65-68. <https://doi.org/10.1007/s12522-012-0139-4>

- Ungerfeld, R., Clemente, N. and Orihuela, A., 2019. Treatments with eCG and courtship behaviour in rams during the breeding and the non-breeding seasons. *Animal Production Science*, 59, pp. 865-869. <https://doi.org/10.1071/AN17728>
- Ungerfeld, R., Clemente, N., Bonjour, L. and Orihuela, A., 2014. Equine chorionic gonadotrophin administration to rams improves their effectiveness to stimulate anoestrous ewes (the “ram effect”). *Animal Reproduction Science*, 149, pp. 194–198. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.07.004>
- Walker, W.H., 2011. Testosterone signaling and the regulation of spermatogenesis. *Spermatogenesis*, 1, pp. 116–120. <https://doi.org/10.4161/spmg.1.2.16956>
- Warita, K., Okamoto, K., Mutoh, K., Hasegawa, Y., Yue, Z.P., Yokoyama, T., Matsumoto, Y., Miki, T., Takeuchi, Y., Kitagawa, H., Sugawara, T. and Hoshi, N., 2008. Activin A and equine chorionic gonadotropin recover reproductive dysfunction induced by neonatal exposure to an estrogenic endocrine disruptor in adult male mice. *Biology of Reproduction*, 78, pp. 59–67. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.106.059857>
- Zaher, H.A., Alawaash, S.A. and Swelum, A.A., 2020. Effects of season and breed on the reproductive performance of sheep. *Journal of Animal Reproduction and Biotechnology*, 35, pp. 149-154. <https://doi.org/10.12750/JARB.35.2.149>