



Termorregulación y respuestas reproductivas de carneros bajo estrés por calor. Revisión



Alejandra Barragán Sierra ^a

Leonel Avendaño-Reyes ^a

Juan A. Hernández Rivera ^b

Ricardo Vicente-Pérez ^c

Abelardo Correa-Calderón ^a

Miguel Mellado ^d

Cesar A. Meza-Herrera ^e

Ulises Macías-Cruz ^{a,*}

^a Universidad Autónoma de Baja California. Instituto de Ciencias Agrícolas, Valle de Mexicali, Baja California, México.

^b Universidad de Colima. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Tecomán, Colima, México.

^c Universidad de Guadalajara. Departamento de Producción Agrícola, CUCSUR, Autlán de Navarro, Jalisco, México.

^d Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Nutrición, Saltillo, Coahuila, México.

^e Universidad Autónoma Chapingo. Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Bermejillo, Durango, México.

*Autor de correspondencia: umacias@uabc.edu.mx, ulisesmacias1988@hotmail.com

Resumen:

Las temperaturas elevadas registradas durante la época de verano en las regiones cálidas comprometen la capacidad reproductiva de los animales domésticos. En carneros, el estrés por calor (EC) causa en el organismo una serie de ajustes fisiológicos, metabólicos, endocrinos y moleculares con el objeto de mantener normotermia y sobrevivir; sin embargo, varios de estos cambios se asocian negativamente con su fertilidad, principalmente los endocrinos. El EC en carneros provoca una disminución en las concentraciones sanguíneas de testosterona a través de diferentes mecanismos, y esto se refleja negativamente en el proceso de espermatogénesis y en la conducta sexual. En consecuencia, los carneros estresados por calor presentan baja calidad seminal y apetito sexual; a nivel de espermatozoides se ha observado daño estructural y en el ADN. Dada esta situación, se recomienda el uso de estrategias de mitigación del EC durante el verano en las explotaciones ovinas de regiones cálidas, tales como el uso de sombras en corrales, la administración de antioxidantes o modificaciones en la alimentación. Por lo tanto, el objetivo de este documento es revisar el conocimiento actual en relación al efecto del EC sobre la capacidad de termorregulación y reproductiva de los carneros, así como la aplicación de estrategias para su mitigación.

Palabras clave: Semental, Macho ovino, Apetito sexual, Calidad seminal, Daño espermático.

Recibido: 18/02/2020

Aceptado: 28/09/2020

Introducción

Las regiones con climas calientes se caracterizan por presentar temperaturas ambientales (T_a) y humedades relativas (HR) elevadas en verano, que generalmente sobrepasan el límite superior de la zona termoneutral de los animales de producción (≤ 30 °C), ocasionándoles la presencia de condiciones ambientales de estrés por calor (EC)^(1,2). El impacto productivo y reproductivo que genera el EC en los animales varía entre especies, siendo los pequeños rumiantes quienes mejor adaptación muestran a estas condiciones ambientales⁽³⁾. Algunas revisiones han descrito los mecanismos de termorregulación empleados por los ovinos para evitar hipertermia bajo EC^(1,2,4,5), pero poca atención se pone respecto al efecto que tiene en la reproducción del carnero. En climas cálidos, el éxito reproductivo del rebaño depende en gran medida de la adaptación y el correcto funcionamiento reproductivo de los sementales.

El organismo de los carneros estresados por calor presenta una serie de cambios para evitar hipertermia^(1,6-8). Así, la capacidad reproductiva de los carneros disminuye mientras hacen esfuerzos fisiológicos, metabólicos y endocrinológicos para mantenerse en normotermia^(3,7,9-11). El EC puede afectar negativamente la reproducción del carnero por diferentes mecanismos, siendo los principales: 1) disminución en las concentraciones de testosterona, y 2) daño directo en la morfometría y contenido de material genético del espermatozoide^(12,13). Esto se refleja en fallas en el proceso de espermatogénesis, así como en baja calidad seminal, conducta reproductiva y fertilidad^(7,14-16). No obstante, la aplicación de estrategias de mitigación del EC mejora la capacidad reproductiva del carnero en estas condiciones climáticas^(1,8,17).

Cabe mencionar que los resultados de los efectos de EC en la reproducción del carnero no son consistentes a través de los estudios. Diferencias entre razas a nivel de adaptación a EC explican en gran medida estas discrepancias⁽³⁾. Por lo tanto, la presente revisión tiene como objetivo describir el conocimiento actual en relación al efecto del EC en la capacidad de termorregulación y reproductiva de los carneros, así como la aplicación de estrategias para su mitigación.

Ovinos en climas cálidos

En las últimas décadas, la acumulación excesiva de gases de efecto invernadero (GEI) en la atmósfera está provocando un aumento en la Ta de la superficie terrestre⁽¹⁾, por lo cual el cambio climático a nivel mundial es eminente, principalmente con tendencias a promover una mayor presencia de climas cálidos y, consecuentemente, la desertificación de más regiones del globo terrestre⁽¹⁾. Las condiciones ambientales donde predominan Ta elevadas causan que los ovinos, así como cualquier otro animal de producción, experimenten EC⁽²⁾, lo que representa para el organismo un desafío fisiológico-metabólico para mantenerse en condiciones de homeotermia⁽⁶⁾.

En la búsqueda de estrategias que ayuden a mantener la producción de alimentos de origen animal bajo este escenario climático adverso, algunos autores proponen la producción de ovinos como una alternativa^(1,10,18), principalmente debido a que son capaces de mantener su desempeño productivo bajo condiciones de EC⁽³⁾. Entre las características de adaptabilidad que poseen los ovinos se incluyen resistencia a parásitos, enfermedades y escasez de agua para consumo^(15,19); también capacidad para aprovechar forrajes y esquilmos agrícolas de mala calidad, y el mantenimiento de la capacidad reproductiva del rebaño y el crecimiento de los corderos bajo escenarios de EC^(1,3,5). Cabe mencionar que el nivel de adaptación de los ovinos varía ampliamente entre razas, ya que existe una gran diversidad de ellas que fueron desarrolladas desde condiciones climáticas de frío hasta cálidas.

Estrés por calor y la producción ovina

El estrés se genera por la presencia de un evento externo que causa alteraciones en un sistema biológico⁽²⁰⁾. En animales de producción se considera que hay estrés cuando algún factor externo altera su salud, metabolismo basal y capacidad productiva⁽³⁾. En este sentido, los ovinos pueden desarrollar signos de estrés por enfrentarse a cambios drásticos en las condiciones climáticas, y de hecho, desarrollan EC cuando la combinación de factores ambientales provocan un incremento en la Ta por arriba del límite superior de su zona termoneutral⁽¹⁾.

Las variables climáticas que pueden promover el ambiente de EC son Ta, HR, radiación solar, velocidad del viento y precipitación; no obstante, la Ta y la HR son los principales factores asociados con la presencia de EC⁽⁵⁾, y en consecuencia, ambos son usados para construir el índice de temperatura-humedad ($ITH = Ta - [(0.31 - 0.31 * HR)(Ta - 14.4)]$)⁽⁴⁾. Cabe aclarar que este índice no se desarrolló para ovinos, sin embargo, en la actualidad es ampliamente usado para definir el grado de EC en esta especie, ya que a la fecha no existe uno específico para ellos. Basado en ese ITH, se considera que los ovinos comienzan a experimentar EC a las 22.2 unidades, siendo de tipo moderado entre 22.2 y <23.3 unidades, severo entre 23.3 y <25.6 unidades, y severo extremo a ≥ 25.6 unidades⁽⁴⁾.

La zona termoneutral para la mayoría de las razas ovinas se encuentra entre los 5 y 25 °C⁽¹⁾, sin embargo, hay razas adaptadas que comienzan a experimentar EC por encima de los 30 °C^(5,15). Esto sugiere que, a pesar de ser homeotermos, la tolerancia de los ovinos al EC varía ampliamente entre razas, y estudios específicos para cada raza deben realizarse para evaluar su tolerancia a Ta altas. En el mundo, existen más de 1,000 razas de ovinos, las cuales varían en su capacidad de termorregulación en ambientes de hipertermia, y esto obedece a su origen climático⁽³⁾. En México, se cuenta tanto con razas de lana y de pelo, pero estas últimas son más tolerantes al EC, dado que se originaron en climas cálidos, mientras que las de lana se originaron en climas fríos o templados⁽⁵⁾. Esto no significa que no haya razas de lana tolerantes al EC en otros países; en Australia, la raza Merino muestra gran capacidad de adaptación a regiones cálidas⁽¹⁾.

La respuesta termorregulatoria de los ovinos al EC también varía con el sexo, y dentro del sexo con la edad, estado fisiológico y actividad reproductiva^(5,21). Mientras que los efectos negativos de EC son más notorios en crías y ovejas gestantes y lactando^(21,22), en carneros parecen ser menos perceptibles ya que su producción de calor metabólico es bajo comparado con las ovejas, y más cuando se encuentran en descanso reproductivo⁽¹⁾. Esto último podría ser la causa de que la mayoría de estudios se desarrollen en ovejas, y consideren poco relevante el tema para investigar en carneros. No obstante, los procesos reproductivos testiculares son muy sensibles a cambios en la Ta, lo cual se asocia con baja fertilidad en los

carneros en épocas cálidas. En este sentido, el resto de la revisión de literatura se centrará en analizar los efectos del EC en la reproducción del carnero.

Estrés por calor y termorregulación del carnero

La termorregulación de los carneros bajo condiciones termoneutrales se da esencialmente por la activación de mecanismos no evaporativos, sin que esto implique alteraciones metabólicas, endocrinas o en el requerimiento extra de energía de mantenimiento^(1,3). Sin embargo, en condiciones de EC, los carneros activan una serie de mecanismos de termorregulación que favorecen la homeotermia frente al desafío térmico.

El EC en regiones cálidas aumenta los valores promedio de las variables fisiológicas, tales como temperatura rectal (TR), frecuencia respiratoria (FR), frecuencia cardiaca y tasa de sudoración (Cuadro 1)^(10,18,23). Así, los carneros mantienen su normotermia, aunque resulta importante señalar que el aumento en el número de respiraciones es el principal mecanismo usado por los carneros para perder la carga de calor corporal⁽²¹⁾. De hecho, los ovinos bajo EC pueden eliminar entre 60 y 90 % de la carga térmica a través del aparato respiratorio⁽⁴⁾. Otro mecanismo fisiológico activado, el cual es más evidente en carneros de raza de pelo sujetos a EC, es la redistribución del flujo sanguíneo hacia tejidos periféricos para disipar el calor corporal por radiación a través de la piel^(5,15). Conforme el gradiente de temperaturas entre la piel y el ambiente disminuye, la FR incrementa hasta convertirse en la principal vía de disipación de calor corporal⁽²⁴⁾.

Cuadro 1: Cambios en las variables fisiológicas de carneros estresados por calor

Fuente	Raza	Tratamiento / época	Temperatura del aire (°C)	Hallazgos durante la época/tratamiento con mayor temperatura
(52)	Suffolk	Invierno	14.5	↑ TR, TE
		Verano	28.2	
(45)	Najdi	Invierno	19.8 ± 0.4	↑ TR, FR y FC
		Verano	38.4 ± 0.3	
(72)	Malpura	Invierno	7.0 - 25.5	↑ FR y FC
		Verano	23.0 - 40.0	
(15)	Santa Inés	Invierno	~ 12.5 - 28.0	↑ TR, FC y TS
		Verano	~ 18.0 - 32.0	
	Morada Nova	Invierno	~ 12.5 - 28.0	↑ TR, FC y TS
		Verano	~ 18.0 - 32.0	
(73)	Santa Inés	Invierno	~ 12.5 - 27.0	Sin cambios
		Verano	~ 19.0 - 31.0	
	Morada Nova	Invierno	~ 12.5 - 27.0	↓ FR y ↑ TMT

		Verano	~ 19.0 - 31.0	
	Texel	Invierno	~ 12.5 - 27.0	Sin cambios
		Verano	~ 19.0 - 31.0	
	Dorper	Invierno	~ 12.5 - 27.0	↓ FR y ↑ TMT
		Verano	~ 19.0 - 31.0	
(18)	Han de cola pequeña	Termoneutral	~ 22.0 - 23.0	
		Estrés por calor	~ 30.0 - 35.0	↑ FR
(74)	Merino polaco	Termoneutral	16.5 ± 1.0	
		Estrés por calor	50.0 ± 1.0	↑ TR y FR
(10)	Merino	Termoneutral	20.1 - 20.9	↑ FR y FC
		Estrés por calor	28.6 - 30.6	
(24)	Malpura x Garole	Termoneutral	33.6 ± 0.7	
		Estrés por calor	44.2 ± 0.2	↑ TR y FR

TR= temperatura rectal, FR= frecuencia respiratoria, FC= frecuencia cardíaca, TE= temperatura escrotal, TMT= temperatura media testicular; TS= tasa de sudoración.

En carneros, el escroto funciona como un órgano de termorregulación tanto en condiciones termoneutrales como de EC⁽¹⁾. En condiciones ambientales cálidas de verano, el escroto es una de las regiones corporales que más disipa carga de calor debido a la gran vascularización (plexo pampiniforme) que hay en la superficie testicular, y a la gran cantidad de glándulas sudoríparas^(15,16). Existe una alta correlación entre la temperatura interna corporal y la temperatura escrotal, por lo que conocer la variabilidad de la temperatura escrotal permite evaluar la eficiencia de termorregulación del carnero⁽¹⁵⁾.

La activación de los mecanismos evaporativos demanda una gran cantidad de agua corporal, por lo que el consumo de agua puede aumentar entre 19 y 25 % en los carneros durante el verano⁽²⁵⁾. Esto trae como consecuencia que el consumo de alimento se reduzca por un efecto sustitutivo⁽²⁶⁾. Sin embargo, en ovinos de pelo se demostró que el consumo de alimento se mantuvo similar en verano y primavera, independientemente del aumento en el consumo de agua registrado durante verano⁽⁵⁾. Esto sugiere que el efecto sustitutivo del consumo de agua por consumo de alimento se presenta principalmente en carneros con menos tolerancia al EC. Así, la reducción en el consumo de alimento es el resultado del esfuerzo del carnero para reducir la producción de calor endógeno, al suprimir parcialmente la actividad metabólica y ruminal^(1,4,27).

Todos los ajustes fisiológicos que presentan los carneros producto del EC causan un aumento en los requerimientos de energía de mantenimiento, mientras que la reducción en el consumo

de alimento altera la disponibilidad de la misma⁽⁵⁾. En consecuencia, las Ta altas de verano alteran el metabolismo de los carneros, en primera instancia para distribuir energía a los procesos de termorregulación, y en segunda para reducir la producción de calor endógeno, al mismo tiempo que hacen más eficiente el uso de los sustratos energéticos^(28,29). No obstante, los resultados del efecto del EC en las concentraciones séricas de metabolitos y hormonas metabólicas no son consistentes entre los estudios (Cuadro 2).

Cuadro 2: Cambios en los metabolitos sanguíneos de carneros estresados por calor

Fuente	Raza	Tratamiento / época	Temperatura del aire (°C)	Hallazgos durante la época/tratamiento con mayor temperatura
(44)	Ossimi	Invierno	24.1	↑ GLU
		Verano	33.7	↓ COL y LIPT
(45)	Najdi	Invierno	19.8 ± 0.4	↑ GLU y PROT
		Verano	38.3 ± 0.3	
(24)	Malpura Malpura Garole	x Termoneutral	33.6 ± 0.7	↓ PROT y T ₃ ↑ COR
		x Estrés por calor	44.2 ± 0.2	
(10)	Merino	Termoneutral	20.1 - 20.9	↑ COR
		Estrés por calor	28.6 - 30.6	
(25)	Iraní fat-tailed	Termoneutral	21.0	↓ GLU, TRIG, T ₃ y T ₄ ↑ PROT y COR
		Estrés por calor	40.0	
(74)	Merino polaco	Termoneutral	16.5 ± 1.0	↓ GLU ↑ COR
		Estrés por calor	50.0 ± 1.0	
(18)	Han de cola pequeña	Termoneutral	~ 22.0 - 23.0	↓ TRIG, PROT
		Estrés por calor	~ 30.0 - 35.0	

GLU= glucosa, COL= colesterol, TRIG= triglicéridos, PROT= proteína total, LIPT= lípidos totales, COR= cortisol, T₃= triyodotironina, T₄= tiroxina.

La elevada FR observada en carneros estresados por calor, demanda una excesiva cantidad de glucosa como fuente de energía para el funcionamiento de los músculos del aparato respiratorio⁽³⁾. Por consiguiente, los carneros en verano incrementan las concentraciones

sanguíneas de glucosa comparado con épocas termoneutrales, lo cual se debe a que las concentraciones de cortisol también aumentan en respuesta al EC^(1,3). El cortisol promueve la gluconeogénesis y glucólisis hepática⁽²⁸⁾. De acuerdo con esto, carneros de raza Ossimi⁽³⁰⁾ y Najdi⁽³¹⁾ registraron mayores concentraciones sanguíneas de cortisol y glucosa en verano que en invierno. Sin embargo, hay estudios donde las concentraciones séricas de glucosa disminuyeron^(18,32) o no cambiaron^(10,23) por efecto del EC en carneros. Esto podría estar asociado con un aumento en las concentraciones de insulina plasmática⁽²⁸⁾.

En los ovinos expuestos a condiciones de EC crónico, principalmente los de razas adaptadas a climas cálidos, aumentan las concentraciones sanguíneas de insulina como un mecanismo adaptativo para mantener un correcto funcionamiento metabólico, mejorar la eficiencia en el uso de energía y reducir el catabolismo de tejido graso^(28,29). Particularmente, los niveles altos de insulina permiten a los carneros estresados por calor: 1) evitar la apoptosis de las células β pancreáticas por un aumento en la producción de ácidos grasos no esterificados; 2) promover el consumo celular de glucosa circulante para su metabolismo; y 3) mantener anabolismo y evitar catabolismo, principalmente de tejido graso^(3,28). Este último punto ha sido asociado con la disminución en las concentraciones séricas de triglicéridos, colesterol y lípidos totales en carneros sometidos a EC crónico^(18,30). Adicionalmente, una reducción en las concentraciones sanguíneas de dichos metabolitos lipídicos, está asociada parcialmente con la movilización de ácidos grasos para cubrir los requerimientos de energía cuando el sistema ahorrador de glucosa se activa^(1,28). Macías-Cruz *et al*⁽³³⁾ mencionan que, en ovinos, las concentraciones séricas de glucosa, colesterol, triglicéridos, proteína total y urea varían de acuerdo al tipo de EC. Un EC crónico reduce las concentraciones séricas de los metabolitos asociados al metabolismo energético (glucosa, colesterol y triglicérido), pero aumenta las concentraciones de los metabolitos asociados con el metabolismo de proteína (proteína total y urea). En el caso de EC agudo, las variaciones en las concentraciones sanguíneas de esos metabolitos muestran un efecto contrario al observado en EC crónico, lo cual obedece a que el metabolismo de energía cambia para garantizar una mayor disponibilidad de sustratos energéticos al momento de hacer los ajustes fisiológicos⁽³⁾.

Finalmente, la glándula tiroidea también juega un rol importante en la termorregulación de todas las especies, incluyendo los carneros⁽¹³⁾. El EC causa una reducción en la liberación de hormonas tiroideas, lo cual favorece una menor producción de calor metabólico y carga de calor corporal^(23,32). Notoriamente, la triyodotironina tiene una vida media más corta y es más termo-sensible que la tiroxina, tal como se demostró en un estudio de carneros de raza Malpura⁽²³⁾.

Estrés por calor y endocrinología reproductiva del carnero

Los factores ambientales juegan un rol importante en el control de la capacidad reproductiva de los carneros. Un ambiente inadecuado puede causar un estrés al carnero y esto desencadenar alteraciones en la función neuroendocrina del eje reproductivo⁽³⁴⁾. En regiones cálidas, las Ta altas de verano generan un ambiente de EC para los carneros, conduciéndolos a que prioricen las actividades asociadas a los procesos de termorregulación en lugar de las funciones reproductivas⁽¹³⁾. De hecho, su capacidad reproductiva podría ser inhibida totalmente en razas susceptibles al EC, mientras que dicha inhibición podría ser parcial o inexistente en razas adaptadas^(1,15,23).

Los carneros, en respuesta a las condiciones de EC, activan el sistema simpático adreno-medular (SAM) y el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA)⁽¹²⁾. El SAM estimula la liberación de catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) en la médula de las glándulas adrenales⁽⁹⁾, las cuales inducen una vasodilatación periférica e incrementan la disponibilidad de energía por medio de la gluconeogénesis y lipólisis^(1,13). Por su parte, el eje HHA comienza su activación con la secreción hipotalámica de las hormonas liberadoras de corticotropinas (CRH), quienes a su vez estimulan la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en la adenohipófisis^(12,13,17). Adicionalmente, las catecolaminas junto con las CRH provocan la liberación hipotalámica de la β -endorfina, cuyo precursor es el polipéptido proopiomelanocortina, el cual también es precursor de la ACTH^(17,34). La ACTH vía endocrina estimula la síntesis de glucocorticoides (cortisol y corticosterona) y mineralocorticoide (aldosterona) en la corteza adrenal a partir del colesterol^(13,17,32). La liberación de cortisol es el principal mecanismo a través del cual el eje HHA inhibe el funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (HHG)^(9,11), y consecuentemente, el grado de actividad reproductiva en los carneros expuestos a EC⁽³⁴⁾.

Los niveles de actividad de los ejes HHA y HHG se relacionan negativamente, de tal manera que comúnmente se observa una disminución en las concentraciones de testosterona y, en consecuencia, en la actividad reproductiva de los carneros en ambientes cálidos⁽¹⁾. El aumento de cortisol en sangre causa que los niveles de testosterona disponible en los túbulos seminíferos disminuyan, lo cual a su vez reduce la producción y calidad de espermatozoides por una baja actividad en el proceso de espermatogénesis^(35,36). Asimismo, las bajas concentraciones de testosterona causan que los carneros presenten libido y capacidad de monta reducida⁽³⁷⁻³⁹⁾.

La testosterona es sintetizada y liberada por las células testiculares de Leydig, las cuales responden al estímulo de la hormona luteinizante (LH) para dicha acción^(9,40). Por su parte, las células de Sertoli, en respuesta a los estímulos de la hormona folículo estimulante (FSH), sintetizan y liberan la proteína ligadora de andrógenos, quien es responsable de unirse con la

testosterona circulante para introducirla a los túbulos seminíferos⁽⁴⁰⁾. Una vez adentro de los túbulos seminíferos, la testosterona se encarga de sincronizar todo el proceso de espermatogénesis⁽¹²⁾. Sin embargo, la activación del eje HHA en respuesta al EC puede comprometer negativamente el funcionamiento correcto de este mecanismo en diferentes puntos. Se ha documentado ampliamente que el cortisol genera una retroalimentación negativa sobre GnRH a nivel hipotálamo^(1,34), situación que a su vez evita que la adenohipófisis sintetice y libere las hormonas gonadotropinas (FSH y LH)^(12,13); ambas esenciales para garantizar la presencia de concentraciones suficientes de testosterona dentro de los túbulos seminíferos, para llevar a cabo la espermatogénesis. Algunos estudios también señalan que las concentraciones de testosterona pueden disminuir por otros mecanismos que no necesariamente están asociados con el funcionamiento del hipotálamo y la hipófisis en carneros sujetos a EC^(9,12,41).

Las concentraciones de testosterona pueden disminuir debido a que los glucocorticoides reducen la expresión de receptores para LH en las células de Leydig⁽⁴¹⁻⁴³⁾. También se ha reportado que las células de Leydig requieren de ciertas citoquinas como las IL-1 y IL-6 para la liberación de testosterona, sin embargo, un aumento en la síntesis de glucocorticoides mostró disminuir la respuesta inmune y, por ende, la producción de dichas citoquinas^(12,44). Otras evidencias señalan que la producción de la proteína ligadora de andrógenos en las células de Sertoli puede disminuir por una baja producción de hormonas tiroideas^(22,45). En forma similar, por efecto directo de una hipertermia testicular, las células germinales pueden dañarse, así como afectarse negativamente la expresión de la proteína Conexina-43, encargada de la unión entre las células de Sertoli⁽⁴⁶⁾. Estas alteraciones a nivel de células de Sertoli podrían conducir a una baja disponibilidad de testosterona dentro de los túbulos seminíferos⁽¹²⁾. Cabe mencionar que algunos de esos estudios no fueron hechos en carneros, por lo que pueden ser motivo de futuras líneas de investigación.

Estrés por calor y capacidad reproductiva del carnero

Efectos en la calidad seminal

La calidad seminal en los carneros disminuye bajo condiciones de EC debido a la activación de los mecanismos neuroendocrinos, fisiológicos y metabólicos, así como al aumento en el gasto energético de mantenimiento para conservar condiciones de normotermia⁽¹⁾. Generalmente, los daños ocasionados en los espermatozoides por EC se vuelven visibles entre los 14 y 21 días posteriores al inicio de la exposición de los carneros a Ta altas⁽⁴⁷⁾, por consiguiente, se detecta hasta entonces una disminución en la calidad seminal.

Las características seminales principalmente afectadas son motilidad progresiva, anomalías espermáticas, integridad de la membrana plasmática, concentración

espermática y volumen del eyaculado (Cuadro 3)^(1,48). La motilidad progresiva y masal disminuyen entre un 5 y 25 %^(49,50), lo cual se asocia con un aumento en el porcentaje de espermatozoides anormales⁽¹⁶⁾. Las anomalías espermáticas que predominan debido a EC son los defectos en cabeza y acrosomales⁽⁵¹⁾. Cabe mencionar que dichas anomalías son menos frecuentes en los sementales de razas autóctonas de regiones cálidas, de tal manera que estas razas adaptadas a EC presentan entre 1 y 5 % de espermatozoides anormales^(49,52).

Cuadro 3: Cambios en las características seminales de carneros estresados por calor

Fuente	Raza	Tratamiento / época	Temperatura del aire (°C)	Hallazgos durante la época/tratamiento con mayor temperatura
(49)	Chios	Otoño	9.7 - 18.3	↓ MOT y CON
		Verano	19.1 - 30.6	↑ SA
	Friesian	Otoño	9.7 - 18.3	↓ MOT y CON
		Verano	19.1 - 30.6	↑ MP y SA
(54)	Persian	Invierno	5.8 ± 3.8	↓ VOL
		Verano	26.0 ± 4.8	↑ VIT y TES
(52)	Suffolk	Invierno	14.5	↓ CE, MM, VIT y CON
		Verano	28.2	↑ pH seminal, SA y daño acrosomal
(55)	Hamari (no esquilados)	Invierno	14.1 - 32.4	↓ VOL, VIT, MM y PM
		Verano	22.9 - 43.3	↑ SA
	Hamari (esquilados)	Invierno	14.1 - 32.4	↓ VOL, MM y VIT
		Verano	22.9 - 43.3	↑ SA
(50)	Dorper	Invierno	18.0 - 26.0	↓ CE, CON, MM y PM
		Verano	26.0 - 32.0	↑ SA
(27)	Zulu	Invierno	23.3	↓ VOL, CON e PMI
		Verano	28.3	↑ CE
(15)	Morada Nova	Invierno	~ 12.5 - 28.0	↑ CON y SAS
		Verano	~ 18.0 - 32.0	
	Santa Inés	Invierno	~ 12.5 - 28.0	↓ PMI
		Verano	~ 18.0 - 32.0	↑ CON
(14)	Pelibuey	Invierno	--	↓ CE y CON
		Otoño	26.0 - 27.8	↑ SA
(56)	Ouled Djellal	Primavera	--	↓ CE, VIT y TES
		Verano	33.0 - 40.0	
(53)	Malpura	Termoneutral	--	↓ CE, VOL, MM, CON y TES
		Estrés por calor	42.0	
(24)		Termoneutral	33.6 ± 0.7	↓ MOT

Malpura	x	Estrés por calor	44.2 ± 0.2
Malpura	x		
Garole			

CE= circunferencia escrotal, MOT= motilidad espermática, MM= motilidad masal, MP= motilidad progresiva, CON= concentración espermática, VOL= volumen de eyaculado, VIT= vitalidad espermática, PMI= integridad de membrana plasmática, AE= anomalías espermáticas, AES= anomalías espermáticas secundarias, TES= testosterona sérica.

El perímetro escrotal y la concentración espermática también han mostrado disminuir por efecto del EC⁽¹⁶⁾, lo cual posiblemente esté relacionado con una menor proliferación de células espermáticas y una mayor apoptosis de células del parénquima testicular⁽⁴⁷⁾. Algunos estudios señalan una disminución de 2 a 7 cm en el perímetro escrotal y de 3,000 millones de espermatozoides por mililitro de eyaculado, tras someter a los carneros a condiciones de EC^(52,53).

Por otra parte, la actividad secretora de las glándulas accesorias disminuye en carneros sujetos a EC, lo cual directamente se refleja en menor volumen de eyaculado^(36,53-55). La menor secreción de plasma seminal en las glándulas accesorias se debe a una disminución en las concentraciones séricas de testosterona en carneros expuestos a EC^(12,56). Adicionalmente, la composición del plasma seminal se modifica, principalmente a nivel de las concentraciones de electrolitos y proteínas, compuestos que mantienen el pH seminal entre neutro y ligeramente alcalino (7.0 a 7.3)⁽¹¹⁾. En general, el EC incrementa el pH seminal de los carneros^(52,57), lo cual reduce el número de espermatozoides por eyaculado y aumenta el porcentaje de anomalías⁽³⁶⁾.

En resumen, las Ta ambientales elevadas afectan negativamente la fertilidad del carnero, esencialmente por disminuir la producción de espermatozoides, así como la cantidad y calidad del plasma seminal. Esto termina teniendo un impacto negativo en las características microscópicas del semen. Cabe mencionar que los carneros estresado por calor no recuperan inmediatamente su fertilidad óptima al cambiarlos a un ambiente termoneutral; de hecho, requieren permanecer entre 9 y 11 semanas en este ambiente para eyacular un semen de calidad normal⁽⁴⁷⁾.

Efectos en la conducta sexual

La conducta sexual de los carneros se ha evaluado poco bajo condiciones de EC, y los resultados hasta ahora son contradictorios. Considerando que el servicio de las hembras se da mayormente por monta natural en los diferentes sistemas de producción, resulta imperante elucidar en investigaciones futuras el impacto del EC en la capacidad de monta de los carneros.

En carneros de raza Malpura (adaptada a climas cálidos), el EC inducido en cámara termoambiental (42 °C) redujo el apetito sexual y la capacidad de monta, lo cual se dedujo porque los carneros estresados por calor presentaron mayor tiempo para hacer una monta con eyaculación, así como mayor número de intentos de monta tanto para el primer y segundo eyaculado⁽⁵³⁾. Igualmente, los carneros de raza Rembi presentaron menor libido durante la época de verano en una región árida⁽³⁸⁾. La reducción en la conducta sexual mostrada por los carneros expuestos a EC se asoció con una menor capacidad para secretar testosterona. Sin embargo, hay otros estudios realizados en carneros puros⁽²³⁾ o cruzados⁽⁷⁾ del genotipo Malpura, donde los efectos del EC en la conducta sexual fueron mínimos sin ninguna diferencia en las concentraciones séricas de testosterona. En carneros de raza de pelo usados en México, un estudio reportó solamente un aumento en el tiempo de reacción de monta por el efecto de la época seca y caliente comparado con la época fresca-húmeda de un clima tropical⁽³⁹⁾.

Las discrepancias entre resultados podrían deberse a que en esos estudios donde no hubo efectos^(7,23), las diferencias en Ta no eran tan marcadas. Otros factores importantes a considerar son la condición corporal (CC) y la estacionalidad reproductiva. Los carneros con CC óptima (3.0 en escala de 1 a 5 puntos) presentan mejor conducta sexual que los carnero con baja (≤ 2 puntos) o alta (≥ 4 puntos) CC bajo condiciones de EC⁽³⁷⁾. Por su parte, la época de verano representa un periodo de transición entre el final del periodo de anestro e inicio del periodo natural reproductivo⁽⁵⁸⁾. Por lo tanto, los carneros de las razas con mayor sensibilidad a la estacionalidad reproductiva podrían presentar una reducción en la conducta sexual durante el verano en regiones cálidas, no solo por las temperaturas altas, sino también por su ritmo circanual reproductivo natural. En el caso de las razas ovinas de pelo mexicanas, las cuales se caracterizan por presentar baja estacionalidad reproductiva pero alta adaptación a climas cálidos⁽⁵⁾, los efectos negativos esperados del EC en su conducta sexual podrían ser mínimos, tal como se demostró en condiciones tropicales⁽³⁹⁾. No obstante, poco se ha investigado este tema en carneros de razas de pelo y los estudios existentes aún son superficiales. Las razas de pelo en México tienen gran relevancia para la producción en carne en climas cálidos, por lo que resulta necesario investigar a profundidad el impacto que tiene el EC en la conducta de estos carneros.

Efectos en el daño espermático

El daño espermático por EC se comienza a generar desde las células espermáticas que están en diferenciación dentro de los túbulos seminíferos hasta los espermatozoides que están en tránsito en el epidídimo. Los espermatozoides en los carneros duran en maduración dentro del epidídimo entre 13 y 15 días, por lo cual son los primeros en evidenciar daños por hipertermia⁽⁵⁹⁾. Estudios previos reportan que la exposición de carneros a Ta mayores a 35 °C puede causar 17.5 % de cabezas piriformes⁽⁶⁰⁾, 18.5 % de anomalías en acrosoma⁽⁶¹⁾

y alrededor de 30 % de espermatozoides sin cola⁽³⁵⁾. En general, se estima que el EC crónico (> 60 días) causa en los espermatozoides un 43.4 % de anomalías menores (por ejemplo: presencia de gota citoplasmática distal, cola enrollada de la punta o completamente enrollada y cabezas normales libres) y 3.6 % de anomalías mayores (p.e. gota citoplasmática proximal y espermatozoides microcefálicos)⁽⁵⁷⁾. Otro estudio indicó que la elipticidad de la cabeza aparece en los eyaculados de los sementales ovinos a partir del día 42 posterior a la hipertermia testicular, lo cual se asocia a un daño directo del EC al espermatozoide en la fase de espermiogénesis, aunque no es claro el mecanismo que lleva a esta malformación de la cabeza⁽⁶²⁾. Cabe mencionar que el daño espermático generado por EC se vuelve constante mientras dichas condiciones ambientales permanecen, y generalmente se proyecta por varias semanas más después de que el desafío térmico termina^(1,50).

Los testículos deben permanecer entre 2 y 8 °C por debajo de la temperatura corporal para su correcto funcionamiento, de lo contrario, la hipertermia testicular provoca daños en las células somáticas y germinales del testículo⁽⁶³⁾. Los espermatoцитos y espermátidas se consideran más susceptibles a sufrir apoptosis por efecto del EC debido a su alta tasa meiótica^(1,47), aunque también puede ocurrir degeneración en espermatogonias, y células de Leydig y Sertoli^(23,64). Al parecer el EC crónico, pero no el agudo, afecta a los espermatozoides que ya han concluido su formación y se encuentran en el epidídimo^(63,64). Los espermatozoides localizados en el epidídimo aumentan su nivel de estrés oxidativo y disminuyen su capacidad antioxidante en respuesta a la exposición continua y prolongada al EC⁽⁶³⁾. Esto último se ha demostrado ampliamente en ratones, por lo que se requiere investigar al respecto en carneros.

Por otra parte, el flujo sanguíneo en los testículos de los carneros expuestos a EC es insuficiente, lo que causa hipoxia testicular y, junto con la hipertermia directa, promueve condiciones de estrés oxidativo por un aumento en las especies reactivas de oxígeno (ERO)⁽⁶³⁾. La excesiva producción testicular de ERO conduce a la peroxidación de los fosfolípidos de la membrana espermática, desencadenando un daño directo a nivel de integridad de membrana (20 % de degradación) y del ADN⁽²³⁾. Estos daños pueden disminuir la expresión de la proteína PH-20 en la membrana, la cual se encuentra asociada a la actividad de la unión del espermatozoide con la zona pelúcida⁽⁶⁵⁾. Además, hacen más susceptibles a los espermatozoides de los carneros a daños en la conformación de la cromatina⁽¹¹⁾, y a la presencia de fragmentación del ADN^(47,65). Este daño en el ADN espermático puede causar subfertilidad o infertilidad del carnero⁽¹¹⁾, así como una disminución en la resistencia de los espermatozoides cuando se utilizan en programas de inseminación artificial y fertilización *in vitro*⁽⁵¹⁾.

Mitigación del estrés por calor en carneros

El uso de estrategias de mitigación del EC es una necesidad para mejorar la capacidad reproductiva de los carneros en climas cálidos. Existe gran variedad de estrategias que pueden implementarse; sin embargo, no todas son igual de eficientes en todos los climas y sistemas de producción. Por ejemplo, en razas de lana, la esquila en los meses de verano es una estrategia ampliamente usada para mejorar la capacidad de termorregulación en carneros, sin embargo, en Argentina reportaron que la incidencia de cabezas espermáticas elípticas aumentó (76 %) en carneros Merino Australiano por esquilarlos completamente en un ambiente de EC⁽⁶²⁾. Similarmente, la esquila en carneros de raza de pelo Desert Hamari resultó efectiva para mejorar la termorregulación, pero contraproducente para la calidad seminal durante la época de verano⁽⁶⁰⁾. Por su parte, Rathore⁽⁶¹⁾ encontró 16 % menos cantidad de anomalías espermáticas por esquilar los testículos en carneros. Estos hallazgos sugieren la necesidad de realizar más estudios para determinar la efectividad de esta estrategia de mitigación del EC para mejorar la fertilidad del carnero.

En sementales Morada Nova y Santa Inés, la capacidad de termorregulación y la circunferencia escrotal y firmeza testicular mejoraron, además, las anomalías espermáticas disminuyeron por debajo del 4 % debido a la instalación de sombras⁽⁶⁶⁾. De forma similar, la implementación de sombras de asbesto mejoró el mantenimiento de normotermia en carneros de raza Barki⁽⁶⁷⁾. Por otro lado, un aumento en el flujo de aire en presencia de Ta altas aportó ventajas en las variables fisiológicas de los carneros⁽¹⁰⁾. Además, el uso de camas de paja en los corrales de alojamiento de los carneros mejoró la pérdida de calor corporal por conducción⁽¹⁾; sin embargo, no se tiene conocimiento del efecto de sistemas de enfriamiento o el uso de distintos materiales para cama sobre la actividad reproductiva del carnero.

Se ha observado en ovejas y corderos de engorda que la suplementación alimenticia con proteínas, lípidos, antioxidantes y minerales, mejora la manera en que enfrentan el EC^(1,68,69). Sin embargo, en carneros solamente hay información del uso de antioxidantes como estrategia de mitigación de los efectos del EC. La suplementación dietaria del antioxidante γ -oryzanol en carneros disminuyó en 26 % la producción de ERO e incrementó el porcentaje de espermatozoides con membrana intacta tras la hipertermia testicular; sin embargo, también hubo un aumento en las anomalías espermáticas⁽⁵⁹⁾. La administración parenteral de vitamina E o vitamina E más selenio, mejoró la calidad seminal y el apetito sexual de sementales Awassi sometidos a Ta de 43 a 54 °C⁽⁷⁰⁾. Cabe mencionar que se necesita desarrollar investigación sobre algunas estrategias nutricionales que puedan ayudar a minimizar los efectos negativos del EC en la reproducción de los carneros.

Por otra parte, con la intención de mejorar la capacidad de termorregulación en la descendencia, se ha optado por la selección de progenitores de razas autóctonas, que muestren capacidad de termorresistencia y adaptación al ambiente en que se han desarrollado⁽²⁷⁾. De éste modo, crece el interés por la identificación de marcadores genéticos como el gen de fecundidad Booroola (FecB), el cual aparte de incrementar la prolificidad de las ovejas, también influye positivamente en mejorar la capacidad de producir semen de calidad deseable bajo condiciones de clima cálido semi-árido en carneros de raza pura Garole o cruza con Malpura^(23,71).

Conclusiones

A pesar de las características de resistencia y rusticidad natural que poseen los ovinos, el EC provoca en el carnero una serie de cambios fisiológicos y metabólicos que modifican el balance energético y hormonal reproductivo, lo que finalmente repercute en forma negativa en las concentraciones sanguíneas de testosterona y, por ende, en la calidad seminal y conducta sexual. Aunado a esto, la hipertermia ocasiona daños directos a nivel de membrana y ADN del espermatozoide, disminuyendo su capacidad fecundante. Por lo tanto, el uso de estrategias de mitigación del EC en carneros es una necesidad para mantener la fertilidad en el rebaño, particularmente en la época caliente del año de climas cálidos. La estrategia de mitigación de EC a usar dependerá del tipo (agudo o crónico) e intensidad del EC (moderado o severo) al que se exponga el carnero, así como a su grado de adaptación al clima, por lo cual podría usarse desde una simple área sombreada con o sin ventiladores, hasta la suplementación de aditivos como antioxidantes.

Literatura citada:

1. Sejian V, Bhatta R, Gaughan J, Malik PK, Naqvi S, Lal R. Sheep production adapting to climate change. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd; 2017.
2. Bernabucci U, Lacetera N, Baumgard LH, Rhoads RP, Ronchi B, Nardone A. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. *Animal* 2010;4(7):1167-1183.
3. Al-Dawood A. Towards heat stress management in small ruminants—a review. *Ann Anim Sci* 2017;17(1):59-88.
4. Marai IFM, El-Darawany AA, Fadiel A, Abdel-Hafez MAM. Physiological traits as affected by heat stress in sheep — A review. *Small Ruminant Res* 2007;71(1):1-12.
5. Vicente-Pérez R, Macías-Cruz U, Avendaño-Reyes L, Correa-Calderón A, López-Baca MA, Lara-Rivera AL. Impacto del estrés por calor en la producción de ovinos de pelo. *Rev Mex Cienc Pecu* 2020;11(1):205-222.

6. Bett B, Kiunga P, Gachohi J, Sindato C, Mbotha D, Robinson T, *et al.* Effects of climate change on the occurrence and distribution of livestock diseases. *Prev Vet Med* 2017;137:119-129.
7. Kumar D, Sejian V, Gaughan JB, Naqvi SMK. Biological functions as affected by summer season-related multiple environmental stressors (heat, nutritional and walking stress) in Malpura rams under semi-arid tropical environment. *Biol Rhythm Res* 2017;48(4):593-606.
8. Belhadj SI, Mohamed C, Najjar T, Ghram A. Meta-analysis of some physiologic, metabolic and oxidative responses of sheep exposed to environmental heat stress. *Livest Sci* 2019;229:179–187.
9. Tort L, Teles M. The endocrine response to stress-a comparative view. In: Akin F editor. *Basic and clinical endocrinology up-to-date*. InTech; 2011:263-286.
10. Wojtas K, Cwynar P, Kołacz R. Effect of thermal stress on physiological and blood parameters in merino sheep. *Bull Vet Inst Pulawy* 2014;58(2):283-288.
11. Rahman MB, Schellander K, Luceno NL, Van Soom A. Heat stress responses in spermatozoa: Mechanisms and consequences for cattle fertility. *Theriogenology* 2018;113:102-112.
12. Damián JP, Bausero M, Bielli A. Acute stress, hypothalamic-hypophyseal-gonadal axis and testicular function—A review. *Ann Anim Sci* 2015;15(1):31-50.
13. Binsiya T, Sejian V, Bagath M, Krishnan G, Hyder I, Manimaran A, *et al.* Significance of hypothalamic-pituitary-adrenal axis to adapt to climate change in livestock. *Int Res J Agri Food Sci* 2017;2(1):1-20.
14. Aké-López J, Aké-Villanueva N, Segura-Correa J, Aké-Villanueva J, Montes-Pérez R. Effect of age and season on semen traits and serving capacity of Pelibuey rams under tropical conditions. *Livest Res Rural Dev* 2016;28(9):166. <http://www.lrrd.org/lrrd28/9/akel28166.htm>. Accessed Nov 25, 2019.
15. Kahwage PR, Esteves SN, Jacinto MAC, Junior WB, Machado R, Romanello N, *et al.* Assessment of body and scrotal thermoregulation and semen quality of hair sheep rams throughout the year in a tropical environment. *Small Ruminant Res* 2018;160:72-80.
16. Moura ABB, Brandao FZ, Esteves SN, de Souza GN, da Fonseca JF, Pantoja MHA, *et al.* Differences in the thermal sensitivity and seminal quality of distinct ovine genotypes raised in tropical conditions. *Theriogenology* 2019;123:123-131.
17. Inbaraj S, Sejian V, Bagath M, Bhatta R. Impact of heat stress on immune responses of livestock: a review. *Pertanika J Trop Agric Sci* 2016;39(4):459-482.

18. Li FK, Yang Y, Jenna K, Xia CH, Lv SJ, Wei WH. Effect of heat stress on the behavioral and physiological patterns of Small-tail Han sheep housed indoors. *Trop Anim Health Prod* 2018;50(8):1893-1901.
19. Leite PG, Marques JI, Furtado DA, Lopes Neto JP, de Souza BB, do Nascimento JWB. Ethology, physiological, and ingestive responses of sheep subjected to different temperatures and salinity levels of water. *Int J Biometeorol* 2019;63(8):1091-1098.
20. Collier RJ, Baumgard LH, Zimbelman RB, Xiao Y. Heat-stress: physiology of acclimation and adaptation. *Anim Frontier* 2019;9(1):12-19.
21. Macías-Cruz U, Correa-Calderón A, Mellado M, Meza-Herrera CA, Aréchiga CF, Avendaño-Reyes L. Thermoregulatory response to outdoor heat stress of hair sheep females at different physiological state. *Int J Biometeorol* 2018;62(12):2151-2160.
22. Macías-Cruz U, Álvarez-Valenzuela FD, Correa-Calderón A, Díaz-Molina R, Mellado M, Meza-Herrera CA, *et al.* Thermoregulation of nutrient-restricted hair ewes subjected to heat stress during late pregnancy. *J Therm Biol* 2013;38(1):1-9.
23. De K, Kumar D, Balaganur K, Kumar Saxena V, Thirumurugan P, Khursheed Naqvi SM. Effect of thermal exposure on physiological adaptability and seminal attributes of rams under semi-arid environment. *J Therm Biol* 2017;65:113-118.
24. Fonsêca VFC, Maia ASC, Saraiva EP, de Melo Costa CC, da Silva RG, Abdoun KA, *et al.* Bio-thermal responses and heat balance of a hair coat sheep breed raised under an equatorial semi-arid environment. *J Therm Biol* 2019;84:83-91.
25. Cain IJW, Krausman PR, Rosenstock S, Turner JC. Mechanisms of thermoregulation and water balance in desert ungulates. *Wildl Soc Bull* 2006;34(3):570-581.
26. NRC. National Research Council. Nutrient requirements of sheep. 6th ed. Washington, DC, USA: National Academy Press; 1985.
27. Berihulay H, Abied A, He X, Jiang L, Ma Y. Adaptation mechanisms of small ruminants to environmental heat stress. *Animals* 2019;9(3):75.
28. Baumgard LH, Rhoads RP, Jr. Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics. *Annu Rev Anim Biosci* 2013;1:311-337.
29. Mahjoubi E, Yazdi MH, Aghaziarati N, Noori GR, Afsarian O, Baumgard LH. The effect of cyclical and severe heat stress on growth performance and metabolism in Afshari lambs. *J Anim Sci* 2015;93(4):1632-1640.
30. Khalek TMMA. Thermoregulatory responses of sheep to starvation and heat stress conditions. *Egyptian J Anim Prod* 2007;44(2):137-150.

31. Al-Haidary A, Aljumaah R, Alshaikh M, Abdoun K, Samara E, Okab A, *et al.* Thermoregulatory and physiological responses of Najdi sheep exposed to environmental heat load prevailing in Saudi Arabia. *Pak Vet J* 2012;32(4):515-519.
32. Nazifi S, Saeb M, Rowghani E, Kaveh K. The influences of thermal stress on serum biochemical parameters of Iranian fat-tailed sheep and their correlation with triiodothyronine (T₃), thyroxine (T₄) and cortisol concentrations. *Comp Clin Path* 2003;12(3):135-139.
33. Macías-Cruz U, López-Baca MA, Vicente R, Mejía A, Álvarez FD, Correa-Calderón A, *et al.* Effects of seasonal ambient heat stress (spring vs. summer) on physiological and metabolic variables in hair sheep located in an arid region. *Int J Biometeorol* 2016;60(8):1279-1286.
34. Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G. Endocrinology of the stress response. *Annu Rev Physiol* 2005;67:259-284.
35. Braden A, Mattner P. The effects of scrotal heating in the ram on semen characteristics, fecundity, and embryonic mortality. *Aust J Agric Res* 1970;21(3):509-518.
36. Chella L, Kunene N, Lehloenya K. A comparative study on the quality of semen from Zulu rams at various ages and during different seasons in KwaZulu-Natal, South Africa. *Small Ruminant Res* 2017;151:104-109.
37. Maurya VP, Sejian V, Kumar D, Naqvi SM. Effect of induced body condition score differences on sexual behavior, scrotal measurements, semen attributes and endocrine responses in Malpura rams under hot semi-arid environment. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2010;94(6):e308-e317.
38. Benia A, Taibi K, Ait-Amrane A, Belhamiti T, Hammoudi S, Kaidi R. Study of seasonal sexual activity variations in Algerian rams: Sexual behaviour, testosterone concentration control and environmental factors. *Afr J Biotechnol* 2013;12(41):6042-6048.
39. Cárdenas-Gallegos M, Aké-López J, Magaña-Monforte J, Centurión-Castro F. Libido and serving capacity of mature hair rams under tropical environmental conditions. *Arch Med Vet* 2015;47(1):39-44.
40. Senger PL. Pathways to pregnancy and parturition. 3rd ed. Pullman, Washington: Current conceptions, Inc; 2012.
41. Byers SW, Glover TD. Effect of scrotal insulation on the pituitary-testicular axis of the ram. *J Reprod Fertil* 1984;71(1):23-31.

42. Huanca W, Coronado L, Galloway DB. Efecto de la manipulación de la temperatura escrotal sobre las características clínicas, seminales y endocrinas en carneros. *Rev Inv Vet Perú* 2015;26(4):604-613.
43. Narayan E, Parisella S. Influences of the stress endocrine system on the reproductive endocrine axis in sheep (*Ovis aries*). *Ital J Anim Sci* 2017;16(4):640-651.
44. Tsigos C, Papanicolaou DA, Kyrou I, Raptis SA, Chrousos GP. Dose-dependent effects of recombinant human interleukin-6 on the pituitary-testicular axis. *J Interferon Cytokine Res* 1999;19(11):1271-1276.
45. Patel N, Kashanian JA. Thyroid dysfunction and male reproductive physiology. *Semin Reprod Med* 2016;34(6):356-360.
46. Hassanpour H, Kadivar A, Mirshokraei P, Nazari H, Afzali A, Badisanaye M. Connexin-43: A possible mediator of heat stress effects on ram Sertoli cells. *Vet Res Forum* 2015;6(2):125-130.
47. Alves MB, Andrade AF, Arruda RP, Batissaco L, Florez-Rodriguez SA, Oliveira BM, *et al.* Recovery of normal testicular temperature after scrotal heat stress in rams assessed by infrared thermography and its effects on seminal characteristics and testosterone blood serum concentration. *Theriogenology* 2016;86(3):795-805.e2.
48. Saab SA, Sleiman FT, Kallassy N, Darweesh WY, Aad PY. Effect of adaptation and heat stress on reproductive performances of fat-tail Awassi rams in eastern mediterranean. *Leban Sci J* 2011;12(1):31-44.
49. Karagiannidis A, Varsakeli S, Alexopoulos C, Amarantidis II. Seasonal variation in semen characteristics of Chios and Friesian rams in Greece. *Small Ruminant Res* 2000;37(1):125-130.
50. Panyaboriban S, Suwimonteerabutr J, Swangchan-Uthai T, Tharasanit T, Phutikanit N, Techakumphu M. Effect of heat stress on reproductive performance of an imported dorper ram: a case study in Thailand. *Thai J Vet Med* 2016;46(4):671-677.
51. Francis JR, Javvaji PK, Dhali A, Kolte AP, Roy SC, Giridhar K, *et al.* Seasonal variations in quality, preservability and fertilizing ability of ovine spermatozoa. *Biol Rhythm Res* 2019:1-12.
52. Marai IFM, El-Darawany AHA, Ismail ESAF, Abdel-Hafez MAM. Tunica dartos index as a parameter for measurement of adaptability of rams to subtropical conditions of Egypt. *Anim Sci J* 2006;77(5):487-494.

53. Maurya VP, Sejian V, Kumar D, Naqvi SMK. Impact of heat stress, nutritional restriction and combined stresses (heat and nutritional) on growth and reproductive performance of Malpura rams under semi-arid tropical environment. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2016;100(5):938-946.
54. Kafi M, Safdarian M, Hashemi M. Seasonal variation in semen characteristics, scrotal circumference and libido of Persian Karakul rams. *Small Ruminant Res* 2004;53(1):133-139.
55. Suhair SM, Abdalla MA. Effects of seasonal changes and shearing on thermoregulation, blood constituents and semen characteristics of desert rams (*Ovis aries*). *Pak J Biol Sci* 2013;16(24):1884-1893.
56. Belkadi S, Safsaf B, Heleili N, Tlidjane M, Belkacem L, Oucheriah Y. Seasonal influence on sperm parameters, scrotal measurements, and serum testosterone in Ouled Djellal breed rams in Algeria. *Vet World* 2017;10(12):1486-1492.
57. Moreira EP, Moura AdAA, Araújo AAd. Efeitos da insulação escrotal sobre a biometria testicular e parâmetros seminais em carneiros da raça Santa Inês criados no estado do Ceará. *R Bras Zootec* 2001;30(6):1704-1711.
58. Gastelum-Delgado MA, Avendaño-Reyes L, Álvarez-Valenzuela FD, Correa-Calderón A, Meza-Herrera CA, Mellado M, *et al.* Conducta estral circanual en ovejas Pelibuey bajo condiciones áridas del noroeste de México. *Rev Mex Cienc Pecu* 2015;6(1):109-118.
59. Escobar E, Lopes S, Malavolta C, Ramalho JB, Missio D, Pinto HF, *et al.* Effect of gamma-oryzanol on testicular degeneration induced by scrotal insulation in rams. *Theriogenology* 2019;128:167-175.
60. Rathore AK. A note on the effect of scrotal wool cover on morphological changes in ram spermatozoa due to heat stress. *Anim Prod* 1969;11(4):561-563.
61. Rathore AK. Acrosomal abnormality in ram spermatozoa due to heat stress. *Br Vet J* 1970;126(8):440-443.
62. Armengol MF, Sabino GA, Forquera JC, de la Casa A, Aisen EG. Sperm head ellipticity as a heat stress indicator in Australian Merino rams (*Ovis aries*) in Northern Patagonia, Argentina. *Theriogenology* 2015;83(4):553-559.e2.
63. Hamilton TR, Mendes CM, de Castro LS, de Assis PM, Siqueira AF, Delgado JdC, *et al.* Evaluation of lasting effects of heat stress on sperm profile and oxidative status of ram semen and epididymal sperm. *Oxid Med Cell Longev* 2016:12.

64. Silva LKX, Sousa JS, Silva AOA, Lourenco Junior JB, Faturi C, Martorano LG, *et al.* Testicular thermoregulation, scrotal surface temperature patterns and semen quality of water buffalo bulls reared in a tropical climate. *Andrologia* 2018;50(2):e12836.
65. Fleming JS, Yu F, McDonald RM, Meyers SA, Montgomery GW, Smith JF, *et al.* Effects of scrotal heating on sperm surface protein PH-20 expression in sheep. *Mol Reprod Dev* 2004;68(1):103-114.
66. Kahwage PR, Esteves SN, Jacinto MAC, Junior WB, Pezzopane JRM, de Andrade-Pantoja MH, *et al.* High systemic and testicular thermolytic efficiency during heat tolerance test reflects better semen quality in rams of tropical breeds. *Int J Biometeorol* 2017;61(10):1819-1829.
67. Hassanin S, Abdalla E, Kotby E, Abd-Elaziz A, El-Fouly M. Efficiency of asbestos shading for growth of Barki rams during hot summer. *Small Ruminant Res* 1996;20(3):199-203.
68. Can A, Denek N, Yazgan K. Effect of replacing urea with fish meal in finishing diet on performance of Awassi lamb under heat stress. *Small Ruminant Res* 2005;59(1):1-5.
69. Sejian V, Singh AK, Sahoo A, Naqvi SM. Effect of mineral mixture and antioxidant supplementation on growth, reproductive performance and adaptive capability of Malpura ewes subjected to heat stress. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2014;98(1):72-83.
70. Talib AAB, Bomboi G, Floris B. Does vitamin E or vitamin E plus selenium improve reproductive performance of rams during hot weather? *Ital J Anim Sci* 2009;8(4):743-754.
71. Kumar D, Naqvi SMK, Kumar S. Sperm motion characteristics of FecBBB and FecBB+ Garole x Malpura rams during the non-breeding season under hot semi-arid environment. *Livest Sci* 2012;150(1):337-341.
72. De K, Kumar D, Saxena VK, Naqvi SM. Study of circadian rhythmicity of physiological response and skin temperature of sheep during summer and winter in semi-arid tropical environment. *Physiol Behav* 2017;169:16-21.
73. Pantoja MHA, Esteves SN, Jacinto MAC, Pezzopane JRM, Paz CCP, Silva J, *et al.* Thermoregulation of male sheep of indigenous or exotic breeds in a tropical environment. *J Therm Biol* 2017;69:302-310.
74. Cwynar P, Kolacz R, Czernski A. Effect of heat stress on physiological parameters and blood composition in Polish Merino rams. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2014;127(5/6):177-182.