

Sıfat Sezonuna Geçiş Döneminde ve Sıfat Sezonunda Koç Spermasının Dondurulabilirliğinin Araştırılması

Ülgen GÜNAY* Zekariya NUR** İbrahim DOĞAN***
Burcu BAŞPINAR**** M.Kemal SOYLU*****

Geliş Tarihi: 10.11.2003

Kabul Tarihi: 23.12.2003

Özet: Bu çalışmada koç spermasının sezona geçiş döneminde ve sezonda dondurulabilirliğinin araştırılması amaçlandı. Çalışmada, alınan koç spermaları Tris- yumurta sarısı sulandırıcısı ile 1:1 oranında sulandırılarak 0.25 ml.lik payetlerde finalde %5 gliserol içerecek şekilde hem sezona geçiş döneminde hem de sıfat sezonunda donduruldu. Sıfat sezonuna geçiş döneminde ve sezonda alınan taze sperma örneklerindeki yoğunluk, kitle hareketi, motilite ve toplam morfolojik bozukluk değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel fark saptanmıştır. Çözüm sonrası motilite sıfat sezonunda sezona geçiş döneminden daha yüksek bulunmuştur ($P<0.01$). Çözüm sonrası akrozomal ve toplam morfolojik bozukluk oranları ise sezona geçiş döneminde sıfat sezonundan daha yüksek bulunmuştur ($P<0.01$). Sonuç olarak; sunulan çalışmada sıfat sezonunda koç spermasının dondurulabilirliği daha üstün bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Koç, donmuş sperma, sıfat sezonu.

Investigations of Freezability of Ram Semen During the Transition From Non-Breeding to the Natural Breeding and Breeding Season

Summary: The aim of this study was investigated of freezability of ram semen during the transition from non-breeding to the natural breeding and breeding season. In this study, collected ram semen was diluted Tris-egg yolk extender in 1:1 ratio finally including 5% glycerol and frozen in 0.25 ml straws both during the transition from non-breeding to the natural breeding and breeding season. There were statistically differences in the values of concentration, mass activity, motility and total morphological defects in fresh semen during the transition from non-breeding to the natural breeding season compared with that of the breeding season. Postthaw motility was found higher in breeding season than during the transition from non-breeding to the natural breeding season ($P<0.01$). Postthaw acrosomal and total morphological defects were higher during the transition from non-breeding to the natural breeding season than breeding season ($P<0.01$). In conclusion, the present study indicated that the freezability of ram semen was found more remarkable in breeding season.

Key Words: Ram, frozen semen, breeding season.

* Yard.Doç.Dr.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Bursa-TÜRKİYE.
** Araş.Gör.Dr.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Bursa-TÜRKİYE.
*** Doç.Dr.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Bursa-TÜRKİYE.
**** Dr.Öğr.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Bursa-TÜRKİYE.
***** Prof.Dr.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Bursa-TÜRKİYE.

Giriş

Koçlardaki sperma üretimini ırk, yaş, ısı, nem, bakım ve gün ışığının uzunluğu gibi çevre faktörlerinin etkilediği ve bu faktörlerin spermatolojik özelliklerde büyük varyasyonlar oluşturduğu bildirilmektedir^{14,21,27}. Özellikle koçlardaki reproduktif aktivitenin yılın belli dönemlerinde^{5,17,19} etkilendiği bildirilmiştir. Günümüzde koç sperması ile yoğun çalışmalar yapılmasına, çeşitli sulandırıcılar ve gliserol oranları denenmesine rağmen çözüm sonrası elde edilen başarılar sınırlı düzeyde kalmıştır.

Araştırmacılar^{1,15,23,24} tarafından dondurma oranı, çözme ısı, sulandırıcı çeşidi ve gliserol konsantrasyonlarının koç sperması üzerine etkileri tartışılmıştır. Çözündürülmüş koç sperması ile sun'i tohumlama çalışmaları sonrasında fertilité oranları düşüktür¹⁶. Koç spermatozoası dondurma yöntemi sırasında oluşan ekstrem ısı değişikliklerine karşı oldukça duyarlıdır²⁵. Çözüm sonrası motilitenin donmuş-çözünmüş spermanın kalitesini belirlemede değerli bir parametre olduğu bildirilmiştir^{20,31,32}. Koç spermasının kalitesi genellikle sulandırıcı çeşidi, kendi morfolojik yapısı ve kriyoprotektif ajanların konsantrasyonlarından etkilenmektedir^{2,9-12}. Dondurma işleminin koç spermasının erken kapasitasyonunu uyardığı tanımlanmıştır². Bağ ve ark³, başlangıç dondurma ısısının çözüm sonrası takiben spermatozoon motilitesi üzerine çok önemli etkisinin olduğunu belirtmişlerdir.

Pek çok çalışmada^{5,19,21,22,27} mevsimsel değişimlerin koç spermasının özelliklerini etkilediği bildirilmiştir. Araştırmacılar^{13,22} çiftleşme sezonunda dondurulan koç spermasının dondurulabilme şansının daha yüksek olduğunu vurgulamışlardır.

Sunulan çalışmada; sıfat sezonuna geçiş döneminin ve sıfat sezonunun koç spermasının dondurulabilirliğini üzerine etkilerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada materyal olarak, Bandırma Koyunculuk Araştırma Enstitüsü'nde bulunan Meri-

nos ırkı 2 adet koç kullanıldı. Araştırmaya başlanmadan önce sıfat sezonuna geçiş döneminde işletmede bulunan 7 baş koçtan 10'ar ejakulat alındı ve en iyi spermatolojik özelliğe sahip olan 2 koç çalışmada kullanılmak üzere seçildi. Sıfat sezonunda da seçilen 2 koç kullanıldı. Her koçtan sperma gün aşırı sun'i vajen yöntemiyle, sıfat sezonuna geçiş döneminde 10 defa ve sıfat sezonunda 4 defa olmak üzere alındı. Alınan toplam 28 ejakulat Tris sulandırıcısı (Tris hydroxymethyl-aminomethane 36g/l, sitrik asit 19 g/l, fruktoz 0.5 g/l, %20 (V/V) yumurta sarısı) ile 1:1 oranında sulandırılarak finalde %5 gliserol içerecek şekilde 0.25 ml'lik payetlerde donduruldu. Her koçun her ejakulatından 3 payet olmak üzere toplam 84 payet 37°C'da 30 sn.'de çözündürüldü. Taze spermadaki ve dondurma işleminin ekilibrasyon ve çözüm sonu aşamalarında motilite, akrozomal ve toplam morfolojik defektli spermatozoon oranları saptandı.

Motilite faz kontrast mikroskopta x40 büyütmede değerlendirildi. Anormal spermatozoa oranı Eozin-nigrozin ve akrozomal defektli spermatozoa oranı ise Giemsa boyama tekniği ile saptandı. Morfolojik muayenelerde de her preparattan toplam 200 spermatozoon sayıldı. Sezonlara göre elde edilen bireysel ve genel spermatolojik bulgular ile ekilibrasyon ve çözüm sonrası saptanan sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde "Paired Samples t-Test", sezonlara göre çözüm sonrası spermatolojik bulgular arasındaki korelasyonları belirlemek için ise "Pearson Correlation Test" kullanıldı.

Bulgular

Sunulan çalışmada sezona geçiş döneminde ve sezonda koçların taze spermalarında saptanan bireysel spermatolojik bulgular Tablo I'de, genel spermatolojik bulgular Tablo II'de, ekilibrasyon sonrası motilite, akrozomal ve toplam morfolojik bozukluk oranları Tablo III'de, çözüm sonrası motilite, akrozomal ve toplam morfolojik bozukluk oranları Tablo IV'de, sezonlara göre çözüm sonrası spermatolojik bulgular arasındaki korelasyon tablosu ise Tablo V'de sunulmuştur.

Tablo I. Sıfat Sezonuna Geçiş Döneminde ve Sezonda Koçların Taze Spermalarında Saptanan Bireysel Spermatolojik Bulgular

Table I. Individual Spermatological Findings in Fresh Ram Semen During The Transition From Non-Breeding To The Natural Breeding And Breeding Season

Dönem	Koç no	n	Hacim (ml)	Yoğunluk ($\times 10^9$ /ml)	Mass Akt (1-4)	Motilite (%)	Akrozom (%)	TMB (%)
Sezona geçiş	60	10	1.0	2420.0	1.9	73.5	8.4	11.5
			\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
Sezon	60	4	1.0	2905.0	3.5	80.0	6.1	16.1
			\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
Sezona geçiş	570	10	1.0	2633.0	2.1	73.0	6.7	10.3
			\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
Sezon	570	4	1.0	3682.5	4.0	78.8	5.4	14.9
			\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
Sezona geçiş	24	10	0.2	184.6	0.2	1.9	0.7	1.2
			\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
Sezon	24	4	0.2	66.4	0.3	2.9	1.2	1.6
			\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
Sezona geçiş	24	10	0.2	270.0	0.0	2.4	1.1	1.3
			\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
Sezon	24	4	0.2	270.0	0.0	2.4	1.1	1.3
			\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm

TMB=Toplam morfolojik bozukluk oranı
TMB= Total morphological defects
Mass Akt: Mass aktivite

Tablo II. Sıfat Sezonuna Geçiş Döneminde ve Sezonda Taze Spermada Saptanan Genel Spermatolojik Bulgular

Table II. Spermatological Findings in Fresh Semen During The Transition From Non-Breeding To The Natural Breeding And Breeding Season

Dönem	n	Hacim (ml)	Yoğunluk ($\times 10^9$)	Mas akt (+)	Motilite (%)	Akrozom (%)	TMB (%)
Sezona giriş	20	0.98	2526.5	2.0	73.3	7.5	10.9
		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
Sezon	8	1.01	3293.7	3.75	79.4	5.8	15.5
		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
Sezona giriş	20	0.1	135.2'	0.1***	1.1'	0.6	0.8***
		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
Sezon	8	0.1	195.3'	0.2***	1.8'	0.8	1.0***
		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm

*P<0.05, ***P<0.001

TMB=Toplam morfolojik bozukluk oranı
TMB= Total morphological defects

Tablo III. Ekilibrasyon Sonrası Saptanan Spermatolojik Bulgular

Table III. Spermatological Findings After Equilibration

Dönem	n	Motilite (%)	Akrozom (%)	TMB (%)
Sezona geçiş	20	47.25 \pm 2.4***	19.0 \pm 1.2***	23.6 \pm 1.3'
Sezon	8	69.38 \pm 1.1***	8.6 \pm 0.6***	17.0 \pm 0.8'

*P<0.05, ***P<0.001

TMB=Toplam morfolojik bozukluk oranı
TMB= Total morphological defects

Tablo IV. Çözüm Sonrası Saptanan Spermatolojik Bulgular

Table IV. Spermatological Findings After Thawing

Dönem	n (çözülen payet sayısı)	Motilite (%)	Akrozom (%)	TMB (%)
Sezona geçiş	60	17.8 \pm 1.9**	73.6 \pm 2.1**	74.4 \pm 2.1**
Sezon	24	42.7 \pm 2.3**	50.16 \pm 2.1**	51.3 \pm 2.2**

**P<0.01

TMB=Toplam morfolojik bozukluk oranı
TMB= Total morphological defects

Tablo V. Sezonlara Göre Çözüm Sonrası Spermatolojik Bulgular Arasındaki Korelasyon Tablosu

Table V. Correlations between Spermatological Findings After Thawing According to Seasons

Dönem		Akrozom (%)	TMB (%)
Sezona geçiş	Motilite (%)	***	***
	Akrozom	-	***
Sezon	Motilite (%)	**	**
	Akrozom	-	***

TMB=Toplam morfolojik bozukluk oranı

TMB= Total morphological defects

P<0.01, *P<0.001

Tartışma ve Sonuç

Sunulan çalışmada sezona geçiş döneminde ve sezonda koçlar arasında bireysel spermatolojik özellikler dikkate alındığında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. Taze sperma bulguları genel olarak değerlendirildiğinde ise sezona geçiş ve sıfat sezonu arasında yoğunluk, mass aktivite, motilite ve toplam morfolojik bozukluk oranları arasında istatistiksel olarak fark saptanmıştır. Bazı araştırmacılar koçlarda mevsimin bütün spermatolojik özellikler üzerine etkili olduğunu bildirmişlerdir^{7,18,29,30}. Ayrıca mevsimlere bağlı olarak gonadotropin seviyelerindeki ve bunların testis reseptörlerindeki değişimlerin, endokrin gonad fonksiyonunu ve seminal bezlerle epididimis sekresyonlarını etkilediği bildirilmiştir^{4,28,33}.

Araştırmacılar^{4,6,8} spermatozoon konsantrasyonu ile mevsimler arasında da korelasyonların varlığını vurgulamışlardır. Sunulan araştırmada da araştırmacıların bulguları ile uyumlu olarak sezon dışında spermatozoon yoğunluğunun sezondan daha az olduğu ($P<0.05$), sezonda koçların spermalarında yoğunluk artışı olduğu dikkati çekti.

Smith ve ark.²⁸, koçlarda mevsimsel değişikliklerin sperma parametreleri üzerine etkili olduğunu ve dolayısıyla seminal plazmadaki spesifik proteinlerin yokluğunun ve toplam protein konsantrasyonlarındaki azalmanın donmuş spermadaki düşük motilite ile bağlantılı olabileceğini vurgulamışlardır. Sunulan araştırmada ise sezona geçiş dönemi ile karşılaştırıldığında sezonda ekilibrasyon sonrası ($P<0.001$) ve çözüm sonrasında motilitede artış, akrozomal ve toplam morfolojik bozukluk oranlarında ise azalma olduğu belirlendi

Salamon ve Maxwell^{25,26} koçlarda çözüm sonrası akrozomal bütünlük ile motilite arasında pozitif bir ilişki olduğunu belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada da hem sezonda hem de sezona geçiş dönemlerinde motilite ile akrozomal bozukluk oranı arasında negatif korelasyon bulunmuştur ($P<0.01$) (Tablo V). Bunun yanı sıra motilite ile toplam morfolojik bozukluk oranları arasında ve akrozom ile toplam morfolojik bozukluk oranları arasında negatif korelasyonlar ($P<0.001$) tespit edilmiştir.

Fiser ve ark.¹² sezon içinde alınan koç spermasının dondurulabilme başarısının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Nitekim sunulan çalışmada sezonda çözüm sonrası elde edilen spermatolojik bulguların sezona geçiş dönemine oranla daha iyi olduğu saptanmıştır. Öztürkler ve ark.²², 6 Kıvırcık koçtan aldıkları sperma örneklerini mevsim içi ve mevsim dışında süt tozuyumurta sarısı-fruktoz sulandırıcısıyla dondurmuşlar, eritme sonrasındaki motilite, akrozom ve toplam morfolojik bozukluk oranlarını mevsim içinde ve dışında sırasıyla; 52.60 ± 10.97 , 49.60 ± 14.58 , 50.03 ± 14.52 ; 35.35 ± 12.33 , 55.41 ± 11.66 , 55.24 ± 12.59 olarak saptamışlardır. Sunulan çalışmada çözüm sonrasındaki değerler Öztürkler ve ark.'nın²² saptadığı değerlerle karşılaştırıldığında sezonda motilite düşük, akrozomal ve toplam morfolojik bozukluk oranları benzer, sezona geçiş değerleri sezon dışı değerler ile karşılaştırıldığında ise motilite düşük, akrozomal ve toplam morfolojik bozukluk oranları yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak; gerek taze spermadan, gerekse çözüm sonrasında elde edilen bulguların ışığında, sıfat sezonunda alınan koç spermasının sezona geçiş dönemine oranla daha kaliteli ve dondurmaya daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

1. ABDELHAKEM AA, GRAHAM EF, VAZQUEZ IA. Studies on the presence and absence of glycerol in unfrozen and frozen ram semen: Fertility trials and the effect of dilution methods on freezing ram semen in the absence of glycerol. *Cryobiology*. 1991; 28: 36-42.
2. AISEN EG, ALVAREZ HL, VENTURINO A, GARDE JJ. Effect of trehalose and edta on cryoprotective action of ram semen diluents. *Theriogenology*. 2000; 53: 1053-1061.
3. BAG S, JOSHI A, RAWAT PS, MITTAL JP. Effect of initial freezing temperature on the semen characteristics of frozen-thawed ram spermatozoa in a semi-arid tropical environment. *Small Rumin. Res.* 2002; 43: 23-29.
4. BARENTON B, PELETIER J. Seasonal changes in testicular gonadotrophin receptors and steroid content in the ram. *J. Endocrinol.* 1983; 112: 1441-1446.
5. BOLAND MP, ALKAMALI AA, CROSBY TF, HAYNES NB, HOWLES CM. The influence of breed, season and photoperiod on semen characteristics, testicular size, libido and plasma hormone concentrations in rams. *Anim. Reprod. Sci.* 1985; 9: 241-252.
6. BONANNO A, ALABISO M, PORTOLANO B, ALICATA ML. Valutazione spermatica e prove di inseminazione artificiale su ovini Comisani in Sicilia (Spermatic evaluation and trials of artificial insemination in Comisiana sheep breed in Sicilia) In: *Proceedings of Giornate Siculo-Tunisie su Zootecnia e Zoonosi*. Palermo, Italy, 1990, 119-136.
7. COLAS G, LEFEBVRE J, GUERIN Y. Etude de la transmission Perefils des variations saisonnières du diamètre testiculaire et du pourcentage de spermatozoides anourmaux chez le belier ile-de-France. *Repr. Nutr. Rev.* 1990; 30: 589-603.
8. DUFOUR JJ, FAHMY MH, MINVIELLE F. Seasonal changes in breeding activity, testicular size testosterone concentration and seminal characteristics in rams with long or short breeding season. *J. Anim. Sci.* 1984; 58: 416-422.
9. EL-ALAMY MA, FOOTE RH. Freezability of spermatozoa from Finn and Dorset rams in multiple semen extenders. *Anim. Reprod. Sci.* 2001; 65: 245-254.

10. EL-GAAFARY MN. A diluent for freezing of ram semen. *Indian J. of Anim. Sci.* 1990; 60 (7): 769-772.
11. FISER PS, AINSWORTH L, LANGFORD GA. Effect of osmolality of skim milk diluents and thawing rate on cryosurvival of ram spermatozoa. *Cryobiology*. 1981; 18: 399-403.
12. FISER PS, FAIRFUL RW, MARCUS GJ. The effect of thawing velocity on survival and acrosomal integrity of ram spermatozoa frozen at optimal rates in straw. *Cryobiology*. 1986; 23: 141-149.
13. FISER PS, FAIRFULL RW. Effects of changes in photoperiod on freezability of ram spermatozoa. *Cryobiology*. 1983; 20: 684-689.
14. FOLCH J, COLAS R. Inportance de l* activit  sexuelle du male dans le developpement du croisement industriel en Espagne (Importance of the male sexual activity in the development of industrial crossing in Spain). *Options M diterran ennes*. 1981; 135-141.
15. GIL J, LUNDEHEIM N, S DERQUIST L, RODRIGUEZ-MARTINEZ H. Influence of extender, temperature and addition of glycerol on post-thaw sperm parameters in ram semen. *Theriogenology*. 2003; 59: 1241-1255.
16. GIL J, RODRIGUEZ-IRAZOQUI M, S DERQUIST L, RODRIGUEZ-MARTINEZ H. Influence of centrifugation or low extension rates preefreezing on the fertility of ram semen after cervical insemination. *Theriogenology*. 2002; 57: 1781-1792.
17. GLOVER TD, D'OCCHIO MJ, MILLAR RP. Male life cycle and seasonality. In: LAMMING GE, ed. *Marshall's Physiology of Reproduction*. 4th ed. Churchill Livingstone, London. 213-378, 1990.
18. KAFI M, SAFDARIAN M, HASHEMI M. Seasonal variation in semen characteristics, scrotal circumference and libido of Persian Karakul rams. *Small Ruminant Research*. 2003 (in press).
19. KARAGIANNIDIS A, VARSAKELI S, ALEXOPOULOS C, AMARANTIDIS I. Seasonal variation in semen characteristics of Chios and Friesian rams in Greece. *Small Ruminant Research*. 2000; 37: 125-130.
20. LEBOEUF B. L'ins mation artificielle caprine en France,  tat actuel et perspectives d'avenir. *Atti Simp.Int. La riproduzione dei piccoli ruminanti: basi fisiologiche ed aspetti applicativi*, CCIA Varesa Ist. Sper.It.L Spallazani, Milano, APA Varesa, Italy, 1989, 87-113.
21. MANDIKI SNM, DERYCKE G, BISTER JL, PAQUAY R. Influence of season and age on sexual maturation parameters of Texel, Suffolk and Ile-de France rams 1. Testicular size, semen quality and reproductive capacity. 1998; 28: 67-79.
22.  ZT RKLER Y, AK K,  LERİ İK. Kivircik ko larında donma ve eritme sonrası spermatolojik  zellikler  zerine mevsimin etkisi. *Kafkas  niv. Vet. Fak. Dreg.* 1997; 3 (1): 73-79.
23.  ZT RKLER Y, AK K,  LERİ İK. Ko  spermasının yoğun gliseroll  sulandırıcılarda dondurulması. 1999; 25 (2): 399-414.
24. PONTBRIAND D, HOWARD JG, SCHIEWE MC, STUART LD, WILDT DE. Effect of cryoprotective diluent and method on freeze-thawing on survival and acrosomal integrity of ram spermatozoa. *Cryobiology*. 1989; 341-354.
25. SALAMON S, MAXWELL WMC. Frozen storage of ram semen. I: processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 1995; 37: 185-
26. SALAMON S, MAXWELL WMC. Frozen storage of ram semen. 2..Causes of low fertility after cervical insemination and methods of improvement.. *Anim. Reprod. Sci.* 1995; 38: 1-36.
27. SALEH AI. Seasonal variations in semen quality of local and crossbred rams raised in the United Arab Emirates. *Anim Reprod.Sci.* 1997; 49: 161-167.
28. SMITH JF, PARR J, MURRAY GR, MCDONALD RM, LEE RSF. Seasonal changes in the protein content and composition of ram seminal plasma. In: *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 1999, 59: 223-225.
29. TREJO GA, GONZALES PE, VASQUEZ PC. Seasonal effects on fertility in rams of five breeds on the high platesu in Mexico. III. *Congreso Nacionale de Production Ovina. Animal Breeding Abstract*. 1991, 193-197.
30. VIJL E, GONZALO C, RUIZPOVEDA J, RODRIGUEZ M, BOIXO JC. Seasonal variations in the testicular diameter, libido and seminal characteristics in Manchego rams. 38Th Annual meeting of the European Ass. for Anim. Prod.. (Animal Breeding Abstracts), Lisbon, 1984, 1888.
31. WATSON PF. Cooling of spermatozoa and fertilizing capacity. *Reprod. Domest. Anim.* 1996; 31: 135-140.
32. WATSON PF. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reprod. Fertil.Dev.* 1995; 7: 871-891.
33. XU ZZ, MCDONALD MF, MCCUTCHEON SN, BLAIR HT. Seasonal variation in testis size, gonadotrophin secretion and pituitary responsiveness to GnRH in rams of two breeds differing in time of onset of the breeding season. *Anim. Reprod. Sci.* 1991; 26: 281-292.