

01672

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

8

FOTORREFRACTARIEDAD REPRODUCTIVA EN LA OVEJA PELIBUEY

T E S I S

**PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS**

PRESENTADA POR

XOCHITL HERNÁNDEZ MARTÍNEZ

**COMITÉ: DR. ANTONIO PORRAS ALMERAYA
DR. JAIME GALLEGOS SÁNCHEZ
DR. ANDRES ALUJA SCHUMENMAN
DR. LUIS ALBERTO ZARCO QUINTERO
DR. ALBERTO J. DELGADILLO SÁNCHEZ**

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

LISTA DE CONTENIDO

Capítulo.	Página
1. Introducción general.	1
2. Objetivos	4
3. Revisión de literatura.	5
4. Efectos del fotoperiodo constante del solsticio de invierno o de verano sobre la actividad ovárica en la oveja Pelibuey.	26
5. Efectos del fotoperiodo constante corto (11 horas luz) o constante largo (13 horas luz) sobre la secreción de hormona luteinizante.	42
6. Discusión general	52
7. Literatura citada.	56

FOTORREFRACTARIEDAD REPRODUCTIVA EN LA OVEJA PELIBUEY.

1. Introducción general.

En las zonas templadas, las variaciones marcadas en el medio ambiente a lo largo de año son uno de los principales factores a los que todo organismo viviente debe de enfrentarse. Las diferentes especies han desarrollado diferentes estrategias fisiológicas que les permiten adaptarse a los cambios ambientales anuales; como por ejemplo la hibernación, el crecimiento y muda de pelo, lana ó plumas, la formación de reservas corporales, la migración (Malpaux *et. al.*, 1997). Una de las estrategias más comunes en la mayoría de las especies animales, es el cese de la actividad reproductiva durante ciertas épocas del año para evitar que los nacimientos se presenten en una época desfavorable para sus crías. Esta estacionalidad en la reproducción permite que los nacimientos se produzcan al final de invierno ó principios de la primavera, cuando las condiciones climáticas son más favorables para el desarrollo de la cría (Malpaux *et. al.*, 1997).

En las razas de ovinos de zonas templadas la reproducción es estacional, y se caracteriza por la alternancia de un periodo de reposo sexual (en primavera y verano) y un periodo de actividad sexual (en otoño e invierno) (Yeates, 1949). En las hembras el periodo de reposo sexual (anestro) esta asociado con la ausencia de ovulaciones, mientras que, la estación sexual se caracteriza por la sucesión de ciclos estrales cada 16 a 18 días (Thimonier y Mauleón, 1969). En las razas ovinas que muestran estacionalidad reproductiva, ésta es controlada por los cambios anuales de fotoperiodo (Hafez, 1952), donde el inicio de la estación reproductiva esta asociado con el acortamiento de fotoperiodo al final de verano e inicio de otoño, mientras que el comienzo del anestro esta relacionado con el alargamiento de fotoperiodo que se presenta al final de invierno e inicio de la primavera (Karsch y Foster, 1981).

En 1949; Yeates demostró que la inversión del ciclo luminoso ocasionaba que la actividad sexual de la oveja también se invirtiera. Posteriormente, se demostró que la disminución de la longitud del día estimulaba el inicio de la actividad reproductiva (Ducker *et. al.*,1970), mientras que el incremento de la longitud del día la inhibía (Ducker y Bowman, 1970). Además, bajo condiciones de fotoperiodo artificial los "días cortos" inducen un periodo de actividad sexual, en tanto que los "días largos" inhiben dicha actividad (Legan y Karsch, 1980). Por esta razón, la oveja es clasificada como una especie de "días cortos" debido a que

su periodo reproductivo inicia al final del verano, cuando la longitud del día disminuye y termina al final del invierno, cuando se incrementa la longitud del día.

Actualmente se sabe que la regulación del ciclo anual de reproducción es más compleja, diversos estudios han demostrado que la exposición continua a "días cortos" después del solsticio de invierno no hace que la actividad sexual de las ovejas se prolongue más tiempo de lo normal, ni tampoco la exposición a "días largos" después del solsticio de verano impide que durante el otoño se inicie la actividad sexual (Robison y Karsch, 1984; Worthy y Haresing, 1983). Es decir, el inicio de la estación sexual, se debe a la aparición de un "estado refractario" (insensibilidad) a la acción inhibidora de los días largos. El mismo fenómeno se observa la final de la estación sexual, cuando las ovejas se hacen insensibles a los efectos estimulantes de los días cortos (Worthy y Haresing, 1983; Robison y Karsch, 1984; Malpoux *et. al.*, 1988).

El fenómeno de fotorrefratariedad ha sido estudiado ampliamente en diversas especies con estacionalidad reproductiva marcada; sin embargo, poco se conoce acerca del mismo en razas ovinas con patrones estacionales menos marcados, como las que tuvieron su origen en latitudes cercanas al ecuador (Lindsay, 1991, Phillips, 1992). Algunos autores consideran que las razas de origen cercano al ecuador, como la oveja de pelo denominada en México oveja Pelibuey ó Tabasco, no presenta estacionalidad reproductiva, siendo capaces de reproducirse en cualquier época del año (Castillo, *et. al.*, 1972; Valencia, *et. al.*, 1975; González, *et. al.*, 1992; Cruz *et. al.*, 1994).

El fenómeno de fotorrefratariedad ha sido ampliamente estudiado en diversas especies con estacionalidad reproductiva marcada, sin embargo poco se conoce acerca del mismo en razas ovinas con patrones estacionales menos marcados, tal es el caso de aquellas que tuvieron su origen en latitudes bajas (Lindsay, 1991 y Phillips, 1992)

En el caso de la oveja Pelibuey desde que se demostró el efecto directo del fotoperiodo sobre la actividad ovárica (Porrás, 1999; Cerna, 2000) parecería probable que en condiciones naturales de fotoperiodo el rápido inicio de la actividad ovárica antes del solsticio de verano es debido a la refratariedad a días largos mas bien que por la exposición a días cortos (Robinson *et. al.*, 1985). Si este es el caso, la fotorrefratariedad debería naturalmente ocurrir en la oveja Pelibuey después de 5 o 6 meses de ser expuestas a un fotoperiodo creciente. Esto podría explicar porque las ovejas mantenidas únicamente 3 meses a días largos (16 horas luz) necesitaron requirieron más tiempo (60 a 90 días) para iniciar su actividad

ovárica después de un cambio abrupto (Porras, 1999) o gradual (Cerna, 2000) a un fotoperiodo corto que el tiempo requerido por las ovejas mantenidas en condiciones naturales. La refractariedad a días largos parecer tener acción en todas las ovejas mantenidas en fotoperiodo natural por varios meses antes del inicio de la actividad ovárica (Cerna, 2000).

2. Objetivos.

Υ General.

Determinar si la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey es controlada por el mecanismo de fotorrefractoriedad.

Υ Específicos.

- * Comparar la fecha de inicio de la época de anestro en ovejas mantenidas en fotoperiodo corto (11 horas luz, 13 horas oscuridad) a partir del solsticio de invierno y en ovejas mantenidas en fotoperiodo natural (creciente a partir del solsticio de invierno).
- * Comparar la fecha de inicio de la estación reproductiva en ovejas mantenidas en fotoperiodo largo (13 horas luz , 11 horas de oscuridad) a partir del solsticio de verano y en ovejas mantenidas en fotoperiodo natural (decreciente a partir del solsticio de verano)

Hipótesis.

El mecanismo de fotorrefractoriedad regula el inicio y cese de la actividad reproductiva en la oveja Pelibuey en la latitud de 19° 13' N.

3. Revisión de literatura.

a. Estacionalidad reproductiva.

Desde el origen de la vida en la tierra han existido cambios rítmicos en las variables ambientales, tales como la longitud del día, la temperatura y la precipitación pluvial. Estas variaciones estacionales dependen de los movimientos planetarios, y se repiten año con año por lo cual, los animales se han adaptado a ellos para asegurar la sobre vivencia de sus especies. Es decir, han sincronizado su actividad reproductiva de tal manera que los partos coincidan con el periodo del año en la cual las condiciones de vida sean optimas para sus crías (Pévet, 1986)

Dichos ciclos reproductivos, necesitan una organización temporal sincronizados con los factores ambientales, por lo que los cambios en ciertas condiciones biometereológicas envían señales al sistema endocrino, el cual responde con alteraciones adaptativas del estado fisiológico en anticipación de la próxima estación reproductiva (Pévet, 1986). En la mayoría de los mamíferos, incluyendo muchas especies domesticas, el fotoperiodo actúa como el principal factor que determina el tiempo de la estación reproductiva, considerándolo como el mayor zeitgeber (sincronizador) (Baker y Ranson, 1932; Bissonnette, 1932; Yeates, 1949). Sin embargo, los animales también pueden considerar otras variables como la temperatura, precipitación pluvial y la variabilidad en la disponibilidad de alimento (Arendt, 1986)

En los animales domésticos, los ovinos originarios de latitudes altas o medias (>40° LN o LS) constituyen un excelente ejemplo de especie con estacionalidad reproductiva. En esta especie se ha observado variaciones de la actividad sexual en ambos sexos. En el carnero existen variaciones marcadas de actividad espermatogénica durante el transcurso del año. Durante su periodo de reposo sexual la talla testicular, el número de espermatozoides, el volumen y el rendimiento de la espermatogénesis son inferiores al de los animales en estación reproductiva (Dacheux et. al., 1981). En las ovejas, la estacionalidad se traduce por la alternancia entre una estación sexual y una estación de anestro. La estación sexual esta caracterizada, en ausencia de gestación, por la sucesión a intervalos regulares (17 días) de ovulaciones acompañadas de comportamiento estral. La estación de anestro está caracterizada por una ausencia completa de ovulaciones y de comportamiento reproductivo (Thimonier y Mauléon, 1969). La duración de la estación reproductiva varía según la raza (Préalpes del Sur 250 días, Ile- de- France 180 días, Suffolk 165 días) (Thimonier y Mauléon, 1969; Robinson y Karsch, 1984), y la estación sexual inicia en la mayoría de las razas hacia el

final del verano o a principios de otoño (Préalpes del Sur: finales de junio, Ile-de-France: mediados de otoño, Suffolk: principios de septiembre; Thimonier y Mauléon, 1969; Robinson y Karsch, 1984)

Así como existen variaciones de la estacionalidad reproductiva en ovinos, también los hay entre individuo dentro de la misma raza, algunas ovejas presentan solamente pequeños periodos de anestro, mientras que otras no presentan ninguno (Thimonier y Mauléon, 1969).

b. Control del ciclo anual de la reproducción en ovinos.

b.1. Variaciones estacionales de la actividad sexual y la secreción de gonadotropinas

Las variaciones estacionales de la actividad sexual de los ovinos son el resultado de los cambios de secreción de las hormonas gonadotrópicas (Karsch *et. al.*, 1984). La estación influye en la frecuencia de episodios de liberación de LH (secreción pulsátil), que es la característica más importante de la secreción de esta hormona por dos mecanismos complementarios: La dependencia de esteroides gonadales y la no dependencia de estos (Pelletier y Ortavant, 1975).

En las ovejas y machos castrados la secreción pulsátil de LH es menos frecuente durante la estación de reposo sexual que durante la estación sexual (1 contra 2 pulsos por horas en ovejas castradas; Pelletier y Ortavant, 1975; Montgomery *et. al.*, 1985; Robinson *et. al.*, 1985 a). Esta diferencia en la secreción de LH entre las estaciones de reposo y actividad sexual es mucho más marcada en presencia de estradiol o de testosterona (Pelletier y Ortavant, 1975; Karsch *et. al.*, 1984; Chemineau *et. al.*, 1988). Así, en las ovejas ovariectomizadas y tratadas con un implante de estradiol (liberando niveles análogos observados a la mitad de una fase folicular de 3 a 5 pg/ml) se observó un pulso cada 12 a 24 horas durante la estación de anestro contra 1 pulso cada 30 minutos en la estación sexual (Karsch *et. al.*, 1984). Por consecuencia, los cambios en la sensibilidad al estradiol en la hembra y a la testosterona en el macho son el principal mecanismo responsable de la estacionalidad en la reproducción.

Estas variaciones de sensibilidad al estradiol son el origen de un modelo experimental muy utilizado, la ovejas ovariectomizadas y tratadas con un implante subcutáneo de estradiol que libera una cantidad constante de esta hormona. Las concentraciones plasmáticas de LH que son medidas en dichos animales reflejan las modificaciones de la sensibilidad del estradiol

y son perfectamente correlacionadas con las variaciones de la actividad ovárica en la hembra entera (Karsch *et. al.*, 1984).

Goodman *et. al.*, (1982) estudiaron el efecto del fotoperiodo sobre el patrón anual de secreción pulsátil de LH, utilizando ovejas Suffolk ovariectomizadas para eliminar efecto de esteroides, observando que durante el anestro la frecuencia de los pulsos de LH era baja (3 pulsos en un periodo de 3 horas) pero su amplitud fue mayor, mientras que la estación reproductiva la frecuencia en los pulsos de LH fue mayor (6 pulsos en un periodo similar) aunque de menor amplitud. Cambios similares ocurren también en hembras ovariectomizadas pero sometidas a fotoperiodos artificiales, donde la frecuencia en los pulsos de LH disminuye al exponerlas a un fotoperiodo largo (16 horas luz) y se incrementa después de someterlas a un fotoperiodo corto (8 horas luz) (Karsch *et. al.*, 1984). Estos hallazgos son más dramáticos cuando se aplica a las ovejas ovariectomizadas implantes con estradiol, lo que permite demostrar la función que desempeña el ciclo luminoso anual (efecto independiente de esteroides) y los esteroides (efecto de esteroide dependiente) sobre la actividad reproductiva estacional de la oveja (Goodman *et. al.*, 1982, Martín *et. al.*, 1983).

b.2. Regulación del ciclo anual de reproducción en la oveja.

En 1937, Marshall mostró que la estacionalidad de la oveja está ampliamente controlada por los factores medio ambientales. La inversión de estación (transportar ovejas del hemisferio norte al hemisferio sur) causa, después de un periodo de adaptación, una inversión del ciclo reproductivo de las ovejas, donde el periodo de actividad sexual se desplazó hacia el otoño del hemisferio sur. Sin embargo, no demostró el rol de un factor particular del medio ambiente, porque las variaciones anuales de las variables (fotoperiodo, temperatura, precipitación pluvial y humedad) están asociadas entre sí. La utilización de regímenes de luz artificial permitió disociar el fotoperiodo de los otros factores medio ambientales, y establecer el rol determinante de la duración del día en la regulación del ciclo reproductivo de la oveja. Estos regímenes de luz permitieron una mejor comprensión de la regulación del ciclo anual de reproducción (Malpoux, 1988).

b.3. Evidencia del papel del fotoperiodo y sus efectos.

Debido a las variaciones en el fotoperiodo a lo largo del año son idénticas entre año y año, el fotoperiodo es el mejor indicador de la época del año, por lo que permite predecir el momento favorable de la época reproductiva.

Los estudios experimentales que efectivamente confirmaron el papel del fotoperiodo en el control de la estacionalidad reproductiva de los ovinos son:

✓ Experimentos de inversión del ciclo fotoperiódico anual:

Múltiples experimentos se realizaron tanto en el carnero como en la oveja, donde la inversión del ciclo fotoperiodico, sin cambios de otros factores ambientales, fue suficientemente para observar el efecto de inversión de la estacionalidad que Marshall había observado (Yeates, 1949; Thwaites, 1965; Alberio 1976).

✓ Experimentos de aceleración del ciclo fotoperiodico:

La utilización de ciclos semestrales que reproducen en seis meses las fluctuaciones en la duración del día que en forma natural se producen a lo largo de un año, induce en las ovejas dos estaciones sexuales por año (Ortavant y Thibault, 1956, Mauléon y Rougeot, 1962, Lindsay *et. al.*, 1984).

Otros factores ambientales (factores sociales, temperatura, etcétera) que puedan modular la actividad reproductiva de los ovinos juntos no son capaces de controlar el ciclo anual de reproducción (Ortavant *et. al.*, 1985). Por ejemplo, la temperatura de dos meses antes de la estación sexual puede modificar la fecha del inicio de esta (Dutt y Bush, 1955; Dutt, 1960). Sin embargo, al mantener animales en un fotoperiodo constante y un ritmo de temperatura anual inverso, este último fue incapaz de iniciar o de modificar el ciclo reproductivo (Wodzicka-Tomaszewska *et. al.*, 1967).

Numerosos experimentos realizados, han demostrado que en general en el ovino los días cortos son estimulantes de la actividad sexual y que los días largos son inhibitorios de esta. De esta forma, ha sido posible adelantar el inicio de la estación reproductiva cuando se somete a la oveja a días cortos o decrecientes a finales de la primavera (Ducker *et. al.*, 1970; English *et. al.*, 1986). De la misma forma, es posible suspender la estación reproductiva de los animales sometidos a días largos o crecientes al final de otoño (Ducker y Bowman, 1970). La utilización de ritmos de alternancia entre periodos de días cortos y periodos de días largos constantes indican que el paso de días largos a días cortos estimula el inicio de la actividad ovárica, mientras que el paso de días cortos a días largos resulta en la terminación de la actividad sexual. Sin embargo, en ambos caso se observa un periodo de latencia entre el cambio de fotoperiodo y la repuesta en la actividad reproductiva (Lincoln, 1979; Legan y Karsch, 1980; Thimonier *et. al.*, 1985). Como el resultado de los cambios en el fotoperiodo los

ovinos generalmente tiene actividad reproductiva durante los días cortos de finales del otoño y el invierno, por lo que han sido definidos como animales de días cortos.

Esta expresión hace suponer que los ciclos anuales de reproducción resultan de una alternancia entre la acción inhibitoria del fotoperiodo durante una parte del año proseguido de la acción estimuladora durante el resto del año. El nivel de la actividad de la función de la reproducción sería impuesto por la duración del día. En la siguiente parte, se mencionará los resultados obtenidos en la oveja que permiten poner en duda el concepto de que la oveja es especie de días cortos (Malpoux1988)

c. Regulación de la organización temporal del ciclo reproductivo anual de las ovejas.

c.1. Estado refractario y transición entre la estación reproductiva y el anestro.

Dado el papel del fotoperiodo en el control del ciclo reproductivo anual, es lógico pensar que la estación reproductiva para especies fotoperiodicas se inician cuando cierto umbral de luz ha sido traspasado en un sentido y subsecuentemente finaliza cuando el mismo umbral es traspasado en el sentido inverso. Sin embargo, es muy raro encontrar estaciones reproductivas simétricas con respecto a la longitud del día (Follet y Robinson, 1980)

Por ejemplo, en la mayoría de las especies de aves (animales de días largos que son objeto de la mayoría de los estudios) su actividad sexual se termina cuando la duración del día es mucho mayor que aquella con la cual inicio (Hammer, 1968). Estos animales, que hacia el final de la estación reproductiva, perdieron toda la capacidad de responder a una duración del día, que en otras circunstancias fue estimuladora, se dice que se hicieron refractarias. (Hammer, 1968, Reiter, 1972, Turek *et. al.*, 1975; Zucker *et. al.*, 1980; Robinson y Follet, 1981, Almeida y Lincoln, 1984).

En la mayoría de las razas ovinas existe una asimetría entre el ciclo reproductivo y el ciclo anual del fotoperiodo. La estación sexual inicia cuando la duración del día es mucho mayor a la presente cuando termina (Hafez, 1952, Lincoln, 1980; Robinson y Karsch, 1984; Thimonier y Guathier, 1984). Por ejemplo, en ovejas Suffolk localizadas a una latitud 42° 18' N la estación reproductiva inicia cuando la duración del día es de 14 horas y termina cuando la duración del día es de 11.5 horas (Robinson y Karsch, 1984).

El desarrollo del estado refractario, tanto los efectos inhibitorios de los días largos como los efectos estimulatorios de los días cortos, juntos explican esta asimetría del ciclo de reproducción de los ovinos, estos ha sido demostrado en tres razas diferentes de ovinos (Suffolk, Dorset Horn y Welsh Mountain), en las cuales la estación sexual inicia por una pérdida de la respuesta al fotoperiodo inhibitorio y no por la disminución de las horas luz después del solsticio de verano (Robinson *et. al.*, 1985; Worthy *et. al.*, 1985). De la misma forma, el cese de la actividad sexual termina por la perdida de la respuesta al fotoperiodo inductivo y no por el aumento del fotoperiodo después del solsticio de invierno (Worthy y Harensing, 1983, Robinson y Karsch, 1984).

En ovinos es posible provocar una alternancia entre periodos de anestro y actividad sexual mediante la exposición alterna a periodos constantes de días cortos o días largos, por ejemplo, 90 días con un periodo de 16 horas luz y 8 horas oscuridad (día largo) seguido por 90 días de exposición a 8 horas luz y 16 horas oscuridad (día cortos). En este caso, la exposición a días cortos es seguida por el inicio de la actividad ovulatoria después de 40 a 50 días en las hembras y crecimiento testicular en machos después de 30 a 40 días de exposición (Karsch *et. al.*, 1984; D'Occhio *et. al.*, 1984). La exposición a días largos es, así mismo, seguida por una inhibición de la actividad reproductiva, la cual se expresa, en ambos sexos, después de 20 a 30 días. La duración de la respuesta a un determinado fotoperiodo constante o es indefinida, ya que si los animales son mantenidos en fotoperiodo corto en 120 a 150 días se vuelven refractarios dejando de ciclar (Thimonier, 1989). Similarmente, durante una exposición prolongada a días largos, la actividad reproductiva eventualmente se reanuda en la oveja después de aproximadamente 6 meses (Thimonier, 1989).

El desarrollo del estado refractario parece ser crítico en controlar el ciclo reproductivo anual. En la oveja, aunque la estación reproductiva inicia después del solsticio de verano, este inicio no es el resultado de una estimulación por la disminución de los días que ocurre en esta época del año. Ciertamente, en ovejas mantenidas en días largos constantes desde el solsticio de verano o expuestas a un continuo incremento de la longitud de los días desde el equinoccio de la primavera, la estación reproductiva o la activación de LH inicia al mismo tiempo que lo hace en animales testigo en condiciones naturales (Robinson *et. al.*, 1985; Worthy *et. al.*, 1985; Malpaux *et. al.*, 1989). Por lo tanto, al parecer la estación reproductiva inicia porque las ovejas se hacen refractarias a los efectos inhibitorios de la longitud del día en verano. Igualmente, el cese de la estación reproductiva en febrero no es resultado de los efectos inhibitorios del incremento de la longitud del día, sino bien, una

consecuencia de la refractariedad a los efectos estimulatorios de los días cortos (Worthy y Harensing, 1983, Robinson y Karsch, 1984; Malpaux *et. al.*, 1988).

Este estado refractario, o cambio obligatorio en el estado reproductivo, es necesario para el control de la estación reproductiva, y podría ser la expresión de un subyacente ritmo endógeno de la reproducción.

c.2. Ritmo endógeno (circanual) de la reproducción.

Un ritmo circanual es un ciclo interno que persiste en condiciones constantes con un periodo de un año, y que esta controlado por un "zeitgeber" (oscilador externo que tiene la capacidad de controlar un ciclo endógeno), este último, puede ser el ciclo anual fotoperiodico (Yeates, 1949; Arendt, 1986).

La existencia de ritmos circanales de muchas funciones fisiológicas ha sido demostrada en una gran variedad de especies (Gwinner, 1986). Los mecanismos implicados en el establecimiento de estos ciclos a lo largo del tiempo no se han descubierto, pero se han propuesto dos modelos:

1. Los ciclos pudieran ser la expresión de un oscilador interno dado en un periodo que sería igual al siguiente año.(Pengelley y Asmundson, 1974; Dark y Zucker, 1985).
2. Estos ciclos pueden ser el resultado de la sucesión en el tiempo de una serie de eventos, cada uno de los cuales con una duración definida antes de dar curso al siguiente evento de la serie. En conjunto, todos los eventos tendrán alrededor una duración de 365 días (Enright, 1970; Mrosovsky, 1978).

La evidencia de un ritmo circanual endógeno de reproducción en la oveja ha sido obtenida por diferentes experimentos. Estos incluyeron monitoreos de la función reproductiva después de la ceguera (Legan y Karsch, 1983), gangliotomía cervical superior (Lincoln *et. al.*, 1989) y la pinealectomía (Barrell y Lapwood, 1979; Bittman *et. al.*, 1983) las cuales alteran la transmisión del fotoperiodo. También se ha demostrado que continua habiendo ciclos reproductivos anuales cuando los animales son mantenidos en fotoperiodos fijos (Thwaites, 1965; Ducker *et. al.*, 1973, Howles *et. al.*, 1982, Almeida y Lincoln, 1984).

Por ejemplo, ovejas Suffolk mantenidas en días cortos constantes por 4 años continuaron mostrando oscilaciones entre la secreción baja y alta de LH. Estos ciclos de secreción de LH no

estuvieron sincronizados entre animales y tuvieron periodos cercanos al año de duración (en promedio 11 meses, Karsch *et. al.*, 1989).

El papel del fotoperiodo en condiciones naturales pudiera, por lo tanto, ser el de sincronizador del ritmo endógeno, ajustándolo a una duración de un año.

c.3. Importancia de la historia fotoperiodica y los cambios del fotoperiodo

¿Existe un fotoperiodo decisivo que separa las duraciones del día? La idea de un fotoperiodo crítico ha sido originada a partir de los experimentos en el hámster dorado (Elliot, 1976), en el cual se ha demostrado que en fotoperiodos superiores a 12 horas son estimulatorios y en los fotoperiodos inferiores a 12 horas son inhibitorios.

Así, en la oveja, 13 horas luz son interpretadas como un día corto si estas proceden de una exposición de días largos (16 horas luz). Inversamente, 13 horas luz son interpretados como un día largo si los animales proceden de una exposición de días cortos (10 horas luz). Esta importancia de la historia fotoperiodica ha sido demostrada en la oveja (Robinson y Karsch, 1987), codorniz japonesa (Robison y Follet, 1981), hámster siberiano (Hoffman *et. al.*, 1986), hámster dorado (Hasting *et. al.*, 1987) y conejo europeo (Boyd, 1986).

Esta importancia en el pasado fotoperiodico parece ser una propiedad general en la respuesta fotoperiodica. Esta sugiere, que los cambios en el fotoperiodo, más que la duración del día, son un signo esencial para inducir una respuesta reproductiva. El animal utilizará todos los días su pasado fotoperiodico como una referencia para determinar su respuesta reproductiva (Malpoux, 1988).

Otros experimentos sugieren que el cambio en el fotoperiodo es también importante para detener la actividad sexual (Assenmacher y Trixier- Vidal, 1962, Lindsay *et. al.*, 1984). Por ejemplo, en las aves el desarrollo del estado refractario se produce normalmente en junio, pero puede ser retrazado por un aumento drástico de la duración del día a principios de junio (Assenmacher y Trixier- Vidal, 1962)

El desarrollo de un estado refractario, el pasado fotoperiodico y la importancia de los cambios en el fotoperiodo pueden explicar la asimetría del ciclo de reproducción en relación con la duración del día.

d. Mecanismo de acción del fotoperiodo

d.1. Transducción de la información fotoperiodica en un mensaje hormonal

En la mayoría de los mamíferos, la información fotoperiodica es percibida por la retina y transmitida por una vía nerviosa a la glándula pineal en varias etapas. Dicha información es transmitida a los núcleos supraquiasmáticos a través de la vía monosináptica retino - hipotalámica (Herbert *et. al.*, 1978, Legan y Winans, 1981). A partir de esta estructura hipotalámica la señal es transportada al núcleo hipotalámico paraventricular, posteriormente sobre un agrupamiento de células intermediobasales situadas sobre la médula y enseguida a los ganglios cervicales superiores (Lincoln, 1979; Swanson y Kuypers, 1980; Klein *et. al.*, 1983). La señal llega a la glándula pineal por medio de las neuronas simpáticas postganglionares. La glándula pineal no tiene proyecciones nerviosas, su influencia sobre las funciones fisiológicas ponen en juego un factor endocrino. La principal hormona secretada por dicha glándula es la "melatonina" la cual traduce los efectos del fotoperiodo sobre la función reproductiva (Malpoux *et. al.*, 1996). La importancia funcional de estas vías fotoneuroendocrinas fue demostrada experimentalmente en la rata, y se admite que es similar en los otros mamíferos.

En los carneros, Legan y Winans (1981) demostraron la existencia de una vía retino - hipotalámica. Por otra parte, dentro de esta especie, el papel de la retina, núcleo supraquiasmático y ganglios cervicales superiores ha sido establecido en los ovinos mediante la demostración de que las lesiones en estas estructuras modifican la respuesta al fotoperiodo (Lincoln, 1979; Domanski *et. al.*, 1980; Legan y Karsch, 1983, Tessonneaud *et. al.*, 1995). Así, cuando los carneros de la raza Soay intactos son tratados con periodos alternos de 16 semanas de días largos y 16 semanas de días cortos experimentan ciclos de actividad sexual (variaciones en el pesos testicular) que están sincronizados entre animales y que ocurren en un periodo de 32 semanas. En cambio, después de la gangliotomía cervical superior, el peso testicular de no varió de manera significativa en la respuesta a la alternancia del fotoperiodo (Lincoln, 1979). De la misma forma, ovejas de la raza Suffolk expuestas a periodos alternos de 90 días cortos y 90 días largos se caracterizaron por un ciclo marcado en la secreción de LH. Después de la pinealectomía los ciclos de secreción de LH persistieron, pero estuvieron desincronizados entre un animal y otro y dejaron de guardar relación con los ciclos de fotoperiodo (Bittman *et. al.*, 1983b).

d.2. Ritmo de secreción.

La melatonina es secretada por la glándula pineal según un ritmo circadiano bien definido (Rollang y Nisvender, 1976; Arendt, 1986). En los ovinos, los niveles plasmáticos diurnos ^{3m} bajos (<5 pg/ml), prácticamente indetectables por radioinmunoanálisis. En cambio los niveles nocturnos son elevados, y varían de 100 a 500 pg/ml en los ovinos (Malpaux *et. al.*, 1987). Este ritmo de secreción de melatonina es un ritmo endógeno. En efecto, cuando los animales son mantenidos en oscuridad constante, la secreción de melatonina continua oscilando rítmicamente pero el periodo del ciclo es diferente de 24 horas, y no está sincronizado entre animales (Ebling *et. al.*, 1988). El papel de la luz es, por consiguiente, sincronizar este ritmo endógeno dentro de un periodo de 24 horas. Los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo (reloj biológico) son los responsables de controlar la secreción circadiana de melatonina. Por lo tanto, la luz ejerce igualmente un efecto inhibitorio sobre la secreción de melatonina. así, la presencia de luz durante la noche provoca una caída de los niveles plasmáticos de melatonina (Malpaux *et. al.*, 1996).

En los ovinos, la secreción de melatonina inicia muy rápidamente después del inicio de la noche (U) menos de 10 minutos y los niveles se mantienen elevados durante el resto de la noche (Malpaux *et. al.*, 1988). En el transcurso de la noche, los niveles de melatonina varían considerablemente, lo que sugiere una liberación episódica de esta hormona (Malpaux *et. al.*, 1987, 1988).

La melatonina llega a la circulación sanguínea a través de la vena de Galien que drena a la glándula pineal. La melatonina esta igualmente presente dentro del líquido cefalorraquídeo en concentraciones 2 a 10 veces más elevadas que dentro de la circulación periférica (Kanematsu *et. al.*, 1989; Shaw *et. al.*, 1989). Dado el bajo volumen de liquido cefalorraquídeo, la cantidad de melatonina que libera este a la sangre es baja (0.1 %). La importancia funcional de la melatonina en liquido cefalorraquídeo es desconocida (Malpaux *et. al.*, 1996).

La pinealectomía origina niveles nocturnos de melatonina no detectables, indicando que la glándula pineal es la fuente principal de esta hormona.

d.3. Importancia de la secreción de la melatonina.

La importancia de la melatonina sobre el control de la reproducción fue demostrada por la posibilidad de producir los efectos de días cortos en animales expuestos a días largos mediante la administración de melatonina durante el día. Otros autores mostraron que administrando melatonina de manera continua (implantes subcutáneos) o a la mitad del día (inyección o la

incorporación en la comida) es posible lograr una estimulación de la actividad reproductiva en las ovejas similar a la que se produce mediante la exposición a días cortos (Chemineau *et. al.*, 1986, English *et. al.*, 1986, Chemineau *et. al.*, 1992).

La demostración definitiva de la implicación de la melatonina fue hecha a través de experimentos donde se emplearon animales pinealectomizados (Bittman *et. al.*, 1983 y 1984; Goldman y Nelson, 1993). La perfusión de melatonina dentro de la circulación periférica para mimetizar los perfiles de secreción de melatonina tipo "días largos" o "días cortos" permiten reproducir los efectos de días largos o de días cortos. Así, ovejas pinealectomizadas, ovariectomizadas y tratadas con un implante de estradiol, transferidas de días largos a días cortos, sin perfusiones de melatonina, no muestran ninguna modificación en los niveles de LH. En cambio, si al momento de transferirlas, reciben una perfusión de melatonina que restablece los niveles elevados durante 16 horas cada noche (perfil de "días cortos"), la estimulación de la secreción de LH se observa alrededor de 50 días, o sea, una respuesta de tipo "días cortos" clásica (Bittman y Karsch, 1984).

d.4. Parámetros críticos del ritmo de secreción de melatonina.

El ritmo circadiano de secreción de melatonina traduce los efectos del fotoperiodo sobre la función reproductiva. Sin embargo, resta establecer cual es el parámetro de este ritmo que es crítico para obtener estos efectos. Tres parámetros principales han sido considerados:

- ✓ La amplitud: Diferente entre el nivel nocturno y diurno.
- ✓ La fase: Presencia de la melatonina en un momento dado del ritmo circadiano que coincide con un periodo de sensibilidad a esta hormona.
- ✓ La duración de la secreción: Duración cotidiana de la presencia de niveles elevados.

La hipótesis de "amplitud" no es muy reconocida, porque la amplitud (niveles máximos) no es diferente entre días largos y días cortos. Además, varía demasiado entre los animales para constituir una característica fiable del ritmo capaz de traducir la información (Malpoux *et. al.*, 1987)

En el hámster dorado, la inyección de melatonina a finales del medio día, produce un efecto de "días cortos" (inhibición de la actividad reproductiva) mientras que, en otros momentos no se obtiene tal efecto (Tmarkin *et. al.*, 1976). Esta observación sugiere que existe un ritmo de sensibilidad a la melatonina. Experimentos más recientes, reportan el mismo tipo de diferentes respuesta en función al momento de sensibilidad en animales

pinealectomizados, en los cuales esta característica no se aplicó (Stertson y Watson - Whytmire, 1986).

Sin embargo, la mayoría de los resultados disponibles están a favor de la hipótesis de la "duración". En particular, en las ovejas y en el hámster siberiano, la perfusión de melatonina produce siempre una respuesta característica de la duración de la perfusión, independientemente de la duración de la iluminación o de la relación de la fase entre el ciclo luminoso y el momento de la perfusión (Carter y Goldman, 1983, Karsch *et. al.*, 1984; Wayne *et. al.*, 1988). Los antecedentes a favor de la hipótesis de duración fueron igualmente obtenidos en el hámster dorado, en el visón y en la rata "patas blancas" (Dowell y Lynch, 1987, Bonnefond *et. al.*, 1989; Goldman y Nelson, 1993). La mayoría de los antecedentes a favorecen la hipótesis de "duración", pero la existencia de un ritmo de sensibilidad a la melatonina ha sido poco explorado (Pitrosky, 1994).

Que la duración y / o la fase sean las características críticas del ritmo de secreción de melatonina, no es absoluto. En efecto, se ha demostrado dentro de varias situaciones fisiológicas que los perfiles de melatonina caracterizados por una duración y una fase idénticas pudieran inducir respuestas opuestas. Por ejemplo, en ovejas ovariectomizadas y tratadas con un implante de estradiol expuestas inicialmente a días largos (16 horas luz) y luego sometidos a 13 horas luz, ocurre una estimulación de la secreción de LH. En cambio, si las ovejas están inicialmente expuestas a días cortos (10 horas luz), la exposición a 13 horas luz se traduce en una inhibición de la secreción de LH (Robinson y Karsch, 1987). Por consecuencia, la misma señal fotoperiódica (13 horas luz) induce los efectos estimulatorios o inhibitorios según la historia fotoperiódica previa. Los perfiles de secreción de melatonina medidos en el experimento de Robinson y Karsch (1987) indican que en todos los casos la secreción de melatonina se mantuvo durante todo el periodo de oscuridad por lo que los animales respondieron diferentemente a una misma señal de "melatonina" según la naturaleza de su exposición previa a la hormona. Es decir, el animal no interpretó una duración o una fase del ritmo de secreción de melatonina dentro de lo absoluto sino relativo a lo que percibieron anteriormente (Malpoux *et. al.*, 1996).

e. Modo de acción de la melatonina.

e.1. Efecto principal a nivel del sistema nervioso central.

La melatonina puede actuar en diferentes niveles del eje hipotalámico - hipófisis - gonadal. Sin embargo, una etapa clave en su acción implica los eventos a nivel del sistema

nervioso central. En particular, el efecto principal de la melatonina es el de modificar la frecuencia de liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), que por consecuencia, cambia la frecuencia de liberación de la LH y la actividad de las gónadas. Así, en ovejas ovariectomizadas y tratadas con un implante subcutáneo de estradiol y sometidas a días largos, se encontró una frecuencia de liberación de GnRH del orden de 1 pulso cada seis horas. El tratamiento de tales animales con un implante subcutáneo de melatonina que produce un efecto de "días cortos", resultó en una estimulación de la liberación pulsátil de GnRH, que tuvo una frecuencia del orden de 10 pulsos cada 6 horas (Viguié *et. al.*, 1995a).

e.2. Sitios de acción de la melatonina.

Los receptores a la melatonina se han puesto en evidencia dentro de numerosas estructuras. Sin embargo, dentro de todas las especies de mamíferos estudiados, la mayor densidad de receptores de melatonina se encuentra dentro de la pars tuberalis de la hipófisis (Bittman, 1993). En dos especies muy sensibles al fotoperiodo, el visón y el hurón, la pars tuberalis es el único sitio que ha sido detectado para la melatonina (Boissin -Agasse *et. al.*, 1992, Bittman, 1993). Estas observaciones llevaron a proponer a la pars tuberalis como el sitio principal de acción de la melatonina. Sin embargo, los micro - implantes de melatonina dispuestos junto a la pars tuberalis o en el interior de esta, fueron incapaces de estimular la secreción de LH en ovejas ovariectomizadas y tratadas con un implante de estradiol (Malpoux *et. al.*, 1994 y 1995). En cambio los micro - implantes fueron capaces de estimular la secreción de LH cuando se colocaron en el tercer ventrículo, esta observación sugiere que la pars tuberalis no es el sitio de acción de la melatonina para sus efectos sobre la función reproductiva (Malpoux *et. al.*, 1996).

La colocación de micro - implantes de melatonina dentro de diversos sitios hipotalámicos ha permitido identificar los sitios potenciales de acción. En efecto, de los micro - implantes de melatonina dispuestos dentro del hipotálamo mediobasal permiten estimular la secreción de LH en la oveja de la misma manera que los días cortos o los implantes de melatonina (Lincoln y Maeda, 1992, Malpoux *et. al.*, 1993). Estos resultados sugieren una localización de los sitios de acción de la melatonina dentro del hipotálamo medio basal, donde los receptores a la melatonina han sido identificados (Bittman y Weaver, 1990; Chabot *et. al.*, 1994). Esta hipótesis fue reforzada por la observación de los efectos de la lesión del hipotálamo medio basal en el hámster dorado. En efecto, en tales animales, después de la lesión, la melatonina no tienen efecto sobre la actividad reproductiva (Maywood y Hasting, 1995). La clonación de un receptor de membrana a la melatonina y la puesta en evidencia de

un receptor en el núcleo celular que es capaz de unirse a la melatonina posiblemente permite resolver la incoherencia aparente entre la localización de los sitios de acción y de la unión (Reppert *et. al.*, 1994; Becker-André *et. al.*, 1994).

Actualmente se conocen dos tipos de receptores de melatonina (Mel_{1a} y Mel_{1b}) que han sido identificados y clonados en mamíferos (Reppert *et. al.*, 1995) pero la especificidad de estos receptores en el control central de la estacionalidad reproductiva no ha sido identificada (Pelletier *et. al.*, 2000)

e.3. Mediadores de la acción de la melatonina sobre las neuronas de GnRH.

Al nivel del sistema nervioso central, el punto final de la acción de la melatonina es la modificación de la secreción pulsátil del GnRH. Los cuerpos celulares de las neuronas de GnRH están localizados en su mayoría (60%) en el área pre -óptica (Caldani *et. al.*, 1988). Estas neuronas se proyectan hacia de la eminencia media para liberar GnRH al sistema porta hipotálamo - hipofisiario. La ausencia de receptores a la melatonina y de la acción de micro -implantes de melatonina sobre la región septo -pre -óptica sugiere que la acción de la melatonina sobre las neuronas de GnRH es indirecta poniendo en juego a inter - neuronas. Esta hipótesis es reforzada por el largo intervalo entre el inicio de la acción de la melatonina y la modificación de la secreción de GnRH (40 a 60 días, Viguié *et. al.*, 1995).

✓ Dopamina.

Numerosos resultados sugieren que la dopamina (DA) ejerce una acción inhibitoria sobre la secreción de LH, y que la intensidad de esta acción puede ser modulada por la acción del fotoperiodo (Thiéry *et. al.*, 1995). Así, en ovejas enteras u ovariectomizadas con implante de estradiol, la administración sistémica de un antagonista dopaminérgico (pimozide) permite estimular la secreción de LH (Meyer y Goodman, 1985; LeCorre y Chemineau, 1993). Por lo contrario, la administración intracerebrointra ventricular de un agonista dopaminérgico durante la estación sexual inhibe la secreción de LH (Curlewis *et. al.*, 1990). Además, la lesión de un núcleo hipotalámico dopaminérgico (A15) induce un aumento de la frecuencia de liberación de LH durante la estación de anestro en la oveja (Thiéry *et. al.*, 1989). Dentro de este núcleo, la síntesis y la liberación de DA son estimulados por el estradiol en ovejas expuestas a días largos, lo que sugiere que esta estructura pudiera estar implicada dentro de las variaciones de retroalimentación negativa del estradiol (Gayrard *et. al.*, 1992, 1994).

La eminencia media parece ser un sitio particularmente importante donde la DA es modificado en respuesta a la melatonina. En efecto, dentro de este sitio, la exposición a días cortos o el tratamiento por un implante de melatonina induce una disminución de la concentración de DA (Thiéry, 1991) y de síntesis de DA (Viguié *et. al.*, 1994; Viguié, 1995). Por otra parte, el bloqueo de la síntesis de DA por perfusión local de un inhibidor, induce una estimulación de la secreción de LH en las ovejas expuestas a días largos (Viguié, 1995). Estos resultados indican que una modulación de la actividad dopaminérgica al nivel de la eminencia media constituye un de los mecanismos responsables de la acción de la melatonina sobre la secreción de GnRH en las ovejas (Malpaux *et. al.*, .1996).

✓ Noradrenalina.

La noradrenalina parece ejercer inhibición sobre la secreción pulsátil de LH durante la estación de anestro. Efectivamente, la inyección por vía intravenosa de un antagonista noradrenérgico (fenoxibenzamine) provoca un aumento de la secreción de LH (Meyer y Goodman, 1985). Además, el estradiol aumenta las concentraciones intra y extracelulares de un metabolito de la noradrenalina (MHPG) del núcleo A15 durante los días largos (Thiéry, 1991), proponiendo que la noradrenalina pudiera estar implicada sobre el establecimiento de la retroalimentación negativa de la secreción de LH por el estradiol en la exposición de días largos.

✓ Serotonina.

La serotonina parece también ejercer inhibición de la secreción de LH durante la estación de anestro. En efecto, la inyección por vía intravenosa de un antagonista (ciproheptadina) de esta indolamina, provoca una estimulación de la secreción de LH durante la estación de anestro en ovejas ovariectomizadas (Meyer y Goodman, 1986). La serotonina pudiera jugar un rol inhibitorio esencial durante el estado refractario a los días cortos (Chemineau *et. al.*, 1991). La inyección de ciproheptadina a ovejas ovariectomizadas, tratadas con un implante de estradiol y refractarias a días cortos provoca una estimulación de la secreción de LH (LeCorre y Chemineau, 1993).

✓ Aminoácidos excitatorios.

En el hámster y en el carnero, la inyección de NMDA (N- metil, D, L. aspartato, un agonista de los Aminoácidos excitatorios tales como el ácido glutámico) causan una liberación masiva de LH cuando la actividad gonadotrópica de estos animales esta inhibida por el fotoperiodo

(Lincoln y Wu, 1991, Hui *et. al.*, 1992, Urbanski, 1992, Viguié *et. al.*, 1995b). En contraste, la liberación de LH es débil o inexistente cuando el NMDA fue inyectado en animales que presentaban una actividad gonadotrópica elevada. Estas variaciones de liberación de LH en respuesta al NMDA en función del estado fisiológico se producen en respuesta a los cambios idénticos de liberación de GnRH (Viguié *et. al.*, 1995b). Estas variaciones de la liberación de GnRH inducidos por el NMDA pueden simplemente deberse a una descarga de los depósitos de liberación inmediata de GnRH, los cuales son grandes en los animales de baja actividad gonadotrópica.

Alternativamente, esta variación pudiera traducirse en un cambio sobre la estimulación endógena de los receptores a NMDA que fueran parte de los mecanismos responsables de la acción de la melatonina. La observación de la variación de la densidad de los receptores a NMDA en función del fotoperíodo en el hámster esta a favor de esta segunda posibilidad (Urbanski y Pierce, 1992).

✓ **Hormona tiroidea.**

Las ovejas tiroidectomizadas no muestran variaciones estacionales de la actividad sexual o de la secreción de LH (Nicholls *et. al.*, 1988, Moenter *et. al.*, 1991, Parkinson y Follet, 1994). La administración de T4 anula los efectos de la tiroidectomía restableciendo la inhibición de la secreción de LH (Webster *et. al.*, 1991). Las hormonas tiroideas están implicadas sobre los fenómenos de neuroplasticidad (Malpaux *et. al.*, 1996), lo que sugiere que los efectos de la melatonina sobre el sistema nervioso son mediados por los cambios en la organización neuronal.

e.4. Melatonina y fotorrefractoriedad

Dos hipótesis han sido propuestas para explicar el papel de la melatonina en el desarrollo de la fotorrefractoriedad:

La primera fue propuesta por Almeida y Lincoln (1984), quienes describieron un perfil anormal en la secreción de melatonina ya sea en un estado refractario a días cortos o días largos. Estos perfiles anormales fueron caracterizados por niveles altos de secreción de melatonina durante el día y ocasionalmente niveles bajos en la noche.

La segunda hipótesis sugiere que la refractoriedad a días cortos es originada por una pérdida en la respuesta a la melatonina (Bittman, 1978, Reiter *et. al.*, 1979) y que el perfil de

24 horas de melatonina controlado por la glándula pineal no cambia en relación con la refractariedad (Rollang *et. al.*, 1980; Arendt *et. al.*, 1981, Kennaway *et. al.*, 1983, Robinson y Karsch, 1984).

Esta última hipótesis, en la oveja es apoyada por los siguientes hallazgos:

✓ Karsch *et. al.*, 1986 caracteriza la respuesta reproductiva (perfil de secreción de LH) en ovejas ovariectomizadas y tratadas con un implante de estradiol durante la exposición prolongada un fotoperiodo inductivo (días cortos), continuado con una transferencia a días largos y posteriormente a días cortos. El promedio de concentración sérica de LH permaneció bajo durante los primeros de 50 días después del cambio de días largos a cortos se incremento dramáticamente a un máximo alrededor del día 70; permaneciendo elevados hasta el día 110 y decayendo hasta alcanzar niveles indetectables por el día 150. Esta tipificación del perfil de la inducción reproductiva y el desarrollo eventual de la refractariedad se observaron en numerosas ocasiones de las continuas transferencias de las ovejas entre días largos y días cortos.

Los resultados de dicha investigación sugirieron que la refractariedad a fotoperiodos inductivos puede deberse a la pérdida de respuesta al perfil de secreción de melatonina de días cortos, por lo que posteriormente se utilizaron ovejas pinealectomizadas, equipadas con un dispositivo de infusión y tratadas inicialmente con un perfil de secreción de melatonina de días largos (8 horas de infusión cada noche) para suprimir la secreción de LH. La infusión se cambió a un perfil de secreción de melatonina de días cortos (16 horas de infusión cada noche) y se mantuvo en un intervalo suficiente para el desarrollo de la refractariedad a días cortos en ovejas sin pinealectomía. La respuesta de LH en ovejas pinealectomizadas durante la infusión del perfil de melatonina de días cortos fue la misma que en las ovejas sin pinealectomía. Es importante enfatizar que todas las ovejas pinealectomizadas al parecer se hicieron eventualmente insensibles a un perfil de melatonina que una vez fue inductivo. Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Wayne *et. al.*, 1986.

✓ Malpoux *et. al.*, (1987) monitoreo los perfiles de secreción circadiana de melatonina durante el transcurso de la inducción reproductiva y el subsiguiente desarrollo de la refractariedad. Los muestreos fueron obtenidos cada hora durante 24 a 48 horas cada dos semanas posteriores al cambio de luz. Una vez que el perfil de secreción de melatonina se estabiliza alrededor del día 8 después del cambio de día largo al corto, no se observó

modificación alguna en la secreción de melatonina referente a la duración o en su fase relativa al ciclo luz - oscuridad.

La serie de experimentos precedentes proporcionan una evidencia convincente para la conclusión que la refractariedad a la longitud del día inductiva resulta de un cambio post-pineal en el procesamiento del mensaje fotoperiódico sin alteración de la señal de melatonina, siendo un proceso que resulta en la transición de la estación reproductiva a una condición de anestro en condiciones naturales (Worthy y Harensing, 1983, Robinson y Karsch, 1984; Malpoux *et. al.*, 1987)

Los mecanismos celulares asociados a la refractariedad en la glándula pineal en la oveja, el área hipotalámica precisa y los componentes neuroendocrinos se desconocen aún (Lincoln y Clarke, 1997, Malpoux *et. al.*, 1998).

Nicholls y colaboradores (1988) sugieren que la glándula tiroides puede tener un papel en el control de la fotorrefractariedad en la oveja. Tiroidectomizaron a ovejas en el verano, durante el anestro, y monitorizaron los cambios en la actividad reproductiva sometidas a diferentes fotoperiodos. Observaron que la tiroidectomía no tiene efecto sobre el inicio de la estación reproductiva en el otoño, pero la finalización e inicio del anestro se retrasó marcadamente, y tuvieron animales que continuaron ciclando durante el periodo normal de anestro.

Por otra parte, Le Corre y Chemineau (1993) encontraron que las lesiones en el área anterior hipotalámica (AHA) en ovejas prolonga el periodo de estró durante los días largos sin afectar el tiempo de iniciación de los ciclos estrales a días cortos y que las lesiones de AHA bilateral eliminan la respuesta fotorrefractaria a días cortos constantes.

f. Modelo de la regulación fotoperiódica del ciclo reproductivo anual.

En las ovejas, los resultados obtenidos en los diversos experimentos (Malpoux *et. al.*, 1989; Malpoux y Karsch, 1990; Wayne *et. al.*, 1990; Woodfill *et al.*, 1991) se incorporaron dentro de un modelo de la regulación fotoperiódica sobre la estacionalidad reproductiva en la oveja.

Según el modelo, un ritmo endógeno circanual provee una guía primaria para generar ambas transiciones reproductivas. El fotoperiodo pone a tiempo este ritmo circanual por medio de un ritmo de secreción de melatonina. El incremento progresivo en la duración del

día después del solsticio de invierno permite una disminución estable en la duración de la secreción de melatonina. Esto origina una señal endógena para la fase invierno - primavera del año. Esta señal sincroniza un proceso endógeno que finalmente genera la transición hacia la estación de anestro. Una vez que este proceso está sincronizado, la estación reproductiva no comienza inmediatamente, porque la longitud del fotoperiodo del entorno del solsticio de verano es inhibitoria. El descenso gradual en el fotoperiodo después del solsticio de verano permite un incremento estable en la duración de la secreción de melatonina. Esto provee una señal endógena para la fase verano - otoño del año, una señal que hace que se inicie la estación reproductiva y se mantenga hasta que un proceso endógeno finalice la reproducción. La respuesta a esta señal para mantener la estación reproductiva disminuye con el tiempo después del solsticio de verano, de tal manera que la duración de la estación reproductiva, en gran medida, ha sido determinada una vez que inicia el equinoccio de otoño. Esto no implica, sin embargo, que el acortamiento de los días cortos sea intrascendente, ya que estos son necesarios para sensibilizar a la oveja al incremento del fotoperiodo que se experimentará después del solsticio de invierno.

Una consecuencia obvia de este modelo es darse cuenta que la oveja, la cual generalmente se considera como "raza de días cortos" no maneja activamente su estación reproductiva en otoño como consecuencia de la disminución de los días cortos. Un incremento en el fotoperiodo durante la primavera es más importante que una disminución del fotoperiodo en el otoño para controlar el inicio de la estación reproductiva. Esto puede conducir a las imprecisiones sobre una idea mecánica: El inicio de la estación sexual está sincronizado por los días largos de la primavera en un animal denominado "raza de día cortos" como la oveja (Karsch *et. al.*, 1989).

g. Reproducción en la oveja Pelibuey.

g.1. Estacionalidad reproductiva

Ha sido demostrado en numerosas investigaciones que en la mayoría de las hembras de las razas ovinas de climas templado o fríos únicamente son aptas para la reproducción durante un periodo limitado del año, presentando lo que se ha caracteriza como una anestro estacional (Hafez, 1952). En contraste, en latitudes tropicales o subtropicales, la estacionalidad de la actividad reproductiva está reducida y en algunos casos ausentes (Chemineau *et. al.*, 1995).

Los resultados de los trabajos de investigación para determinar el comportamiento reproductivo anual en la oveja Pelibuey no han sido concluyentes. Esto se debe, probablemente, a la aplicación de diversos esquemas metodológicos para su estudio como consecuencia del desconocimiento de los factores que inducen este fenómeno. No obstante, existen indicios acerca de la manifestación des este patrón de comportamiento en la oveja Pelibuey.

La aparente falta de estacionalidad reproductiva en la oveja Pelibuey se origina de los estudios iniciales del comportamiento reproductivo (Ruiz, 1966, Castillo *et. al.*, 1972, Valencia *et. al.*, 1975). En su momento, se considero que dicha oveja no presentaba estacionalidad reproductiva, siendo capaz de reproducirse en cualquier época del año.

Sin embargo, Valencia *et. al.*, (1981) observaron mediante un empadre continuo con monta controlada durante 3 años, una marcada disminución en la actividad estral de las ovejas durante el periodo de enero a abril (17 % de ovejas en estro) con respecto al periodo de mayo a diciembre (95 al 100%).

Últimamente diversos estudios han demostrado que la oveja Pelibuey presenta anualmente "un periodo de actividad estral reducida" (Valencia, *et. al.*, 1981; Heredia *et. al.*, 1991a, González *et. al.*, 1992), aunque algunos autores consideran que esta reducción estral no obedece a una estacionalidad real, sino que es una respuesta a deficiencias nutricionales (González *et. al.*, 1991).

Sin embargo, en la actualidad existen evidencias que indican que la disminución de la actividad estral durante la primavera en dicha oveja es independiente al estado nutricional; señalando que la diferencia en la presentación de calores durante el año constituyen una evidencia en la estacionalidad de la oveja Pelibuey (Heredia, 1991b).

g.2. Evidencia del papel del fotoperiodo sobre la estacionalidad en la oveja Pelibuey

El efecto del fotoperiodo como agente regulador de la actividad reproductiva en ovejas de lana ha sido demostrado categóricamente (Yeates, 1949; Thwaites, 1965). Sin embargo, en la oveja Pelibuey no se habían realizado estudios para evaluar el efecto del fotoperiodo sobre la actividad reproductiva en una zona de trópico.

En 1997, Porras realizó los primeros estudios sobre el efecto del fotoperiodo sobre la actividad ovárica. Dicho autor emplea fotoperiodos artificiales alternos de 90 días largos (16

horas luz) y 90 días cortos (8 horas luz), encontrando que las ovejas Pelibuey presentaron dos periodos alternos de descanso y dos de actividad sexual en un lapso de un año, medidos a través de los niveles plasmáticos de progesterona. Estos hallazgos demostraron que la oveja Pelibuey es capaz de responder al efecto del fotoperiodo artificial.

Posteriormente, Cerna (1999) utilizó el fotoperiodo artificial inverso correspondiente al latitud de México (19 ° N), donde existe una diferencia máxima de 2 horas 12 minutos entre el día más largo y el más corto (Muhlía y Chávez, 1980). Los resultados obtenidos en dicha investigación indican que la oveja Pelibuey es capaz de responder a los cambios graduales en el fotoperiodo artificial inverso, y que este efecto es mediado por la secreción nocturna de melatonina, tal como sucede en ovejas de clima templado.

g.3. Posible mecanismo de fotorrefractoriedad en la oveja Pelibuey.

El fenómeno de fotorrefractoriedad ha sido ampliamente estudiado en diversas especies con estacionalidad reproductiva marcada, sin embargo poco se conoce acerca del mismo en razas ovinas con patrones estacionales menos marcados, tal es el caso de aquellas que tuvieron su origen en latitudes bajas (Lindsay, 1991 y Phillips, 1992)

En el caso de la oveja Pelibuey desde que se demostró el efecto directo del fotoperiodo sobre la actividad ovárica (Porrás, 1999; Cerna, 2000) parecería probable que en condiciones naturales de fotoperiodo el rápido inicio de la actividad ovárica antes del solsticio de verano es debido a la refractoriedad a días largos mas bien que por la exposición a días cortos (Robinson *et. al.*, 1985). Si este es el caso, la fotorrefractoriedad debería naturalmente ocurrir en la oveja Pelibuey después de 5 o 6 meses de ser expuestas a un fotoperiodo creciente. Esto podría explicar porque las ovejas mantenidas únicamente 3 meses a días largos (16 horas luz) necesitaron requirieron más tiempo (60 a 90 días) para iniciar su actividad ovárica después de un cambio abrupto (Porrás, 1999) o gradual (Cerna, 2000) a un fotoperiodo corto que el tiempo requerido por las ovejas mantenidas en condiciones naturales. La refractoriedad a días largos parecer tener acción en todas las ovejas mantenidas en fotoperiodo natural por varios meses antes del inicio de la actividad ovárica (Cerna, 2000).

4. EFECTOS DEL FOTOPERIODO CONSTANTE DEL SOLSTICIO DE INVIERNO O DE VERANO SOBRE LA ACTIVIDAD OVÁRICA EN LA OVEJA PELIBUEY.

Resumen.

El objetivo del presente estudio fue determinar si el fenómeno de fotorrefractoriedad a días corto y largos se presenta en el control anual de la actividad ovárica de la oveja Pelibuey. Se utilizaron 25 ovejas Pelibuey distribuida en cuatro grupos: Grupo 1 (n = 5) ovejas con historia fotoperiodica natural, grupo 2 (n = 7) ovejas con historia fotoperiodica inversa, ambos grupos se mantuvieron en las mismas condiciones durante el año de estudio; grupo 3 (n = 6) ovejas con historia fotoperiodica natural y que al 21 de diciembre al 20 de junio fueron expuestas a un fotoperiodo constante del solsticio de invierno propio de una latitud de 19° 13' N (fotoperiodo constante corto) y del 21 de junio al 15 de diciembre fueron expuestas a un fotoperiodo constante del solsticio de verano propio de una latitud de 19° 13' N (fotoperiodo constante largo) y grupo 4 (n = 4) ovejas con historia fotoperiodica inverso y que del 21 de diciembre al 20 de junio fueron sometidas a un fotoperiodo constante largo y del 21 de junio al 15 de diciembre fueron expuestas a un fotoperiodo constante corto. Se emplearon tres cámaras de luz controlada provistas con lámparas en cantidad suficiente para proveer una iluminación de 350 lux de intensidad para los grupos 2, 3 y 4. La actividad ovárica se determino mediante la cuantificación de progesterona plasmática en muestras de sangre obtenidas dos veces por semanas. Se considero que una oveja había ciclado cuando se encontraron por lo menos dos determinaciones ≥ 1 ng / ml. Las ovejas del grupo 3 mantenidas en condiciones de fotoperiodo constante de solsticio de invierno presentaron un estado de fotorrefractoriedad a los días cortos. Sin embargo, no se determino si existe un fenómeno de fotorrefractoriedad a los días largos.

a. Introducción.

La estación reproductiva anual de la oveja esta controlada por los cambios estacionales en la longitud del día. El marcado efecto del fotoperiodo en esta especie fue demostrado por una serie de experimentos donde la actividad sexual pudo ser desplazada en el tiempo al modificar el fotoperiodo sin cambiar otros factores ambientales. Por ejemplo, la inversión del ciclo fotoperiodico anual causa un desfase de 6 meses de la estación sexual, o la reducción a 6 meses del ciclo fotoperiodico origina la aparición de dos estaciones sexuales por año (Mauleón y Rougeot, 1962; Thwaites, 1965).

Posteriormente, se demostró que la utilización de fotoperiodos alternos de días cortos (8 horas luz) o días largos (16 horas luz) son respectivamente seguidos de una estimulación o de una inhibición de la actividad reproductiva (Legan y Karsch, 1980). Por esta razón, la oveja es clasificada como una especie de días cortos debido a los efectos de los días decrecientes percibidos después del solsticio de verano o de fotoperiodos artificiales cortos estimulan la actividad ovárica, por el contrario, el aumento de la duración del día después del solsticio de invierno o de fotoperiodos artificiales largos conducen la cese de dicha actividad.

La simetría anual entre el ciclo reproductivo y el fotoperiodo es sumamente rara en vertebrados que poseen estacionalidad y la oveja no es la excepción (Follet y Robinson, 1980). En 1984, Robinson y Karsch observaron en ovejas Suffolk que el inicio de la estación reproductiva ocurría cuando la duración del día era de 2.5 horas mayor que cuando iniciaba el anestro, sugiriendo que dicha falta de asimetría no se debe a que las ovejas inicien su anestro debido al incremento de la duración del día, sino que pierden la capacidad de responder al fotoperiodo prevaleciente, es decir, se vuelven fotorrefractarias.

Diversos estudios han demostrado que la actividad sexual de ovejas mantenidas en días constantes equivalentes al solsticio de verano a partir de este, inician su actividad ovárica al mismo momento que las ovejas mantenidas en fotoperiodo natural (Robinson *et.al.*, 1985; Worthy *et.al.*, 1985). Por lo tanto, bajo condiciones naturales el inicio de la estación reproductiva de la oveja no es una respuesta de la duración del día después del solsticio de verano, por el contrario, la época reproductiva inicia espontáneamente en conjunción con una pérdida en la capacidad de respuesta a los efectos inhibitorios iniciado por los días largos de verano (Worthy y Harensing 1983; Robinson y Karsch, 1984; Malpoux *et.al.*, 1989)

En el caso de los ovinos originarios de latitudes tropicales y subtropicales, la estacionalidad esta fuertemente reducida, algunos autores consideran que en este tipo de animales la estacionalidad que se observa en frecuencia de distribución de partos, podría deberse a cambios en la disponibilidad de alimentos (Chemineau *et.al.*, 1995). En México, se suponía que la oveja de pelo denominada Pelibuey o Tabasco no presenta una estacionalidad reproductiva, siendo capaces de reproducirse en cualquier época del año (Castillo *et.al.*, 1972; Valencia *et.al.*, 1975; González *et.al.*, 1992; Cruz *et.al.*, 1994). No obstante, diversos estudios han encontrado que dicha oveja presenta "un periodo anual de actividad estral reducida" (Valencia *et.al.*, 1981; Heredia *et.al.*, 1991; González *et.al.*, 1992) la cual es controlada por la disponibilidad de alimento.

Porras *et.al.*, (1997) realizaron los primeros experimentos sobre el efecto del fotoperiodo sobre la actividad ovárica en ovejas Pelibuey. Dicho autores utilizaron fotoperiodos alternos de 90 días largos (16 horas luz) y 90 días cortos (8 horas luz) y bajo condiciones controlados de alimentación, encontrando que las ovejas presentaron dos periodos alternos de anestro y dos de actividad ovárica en un lapso de un año medidos a través de los niveles plasmáticos de progesterona. Estos hallazgos demostraron que la oveja Pelibuey es capaz de responder al fotoperiodo. Posteriormente, Cerna (1999) demostró que la oveja Pelibuey bajo condiciones controladas de alimentación, es capaz de responder a cambios graduales en la longitud del fotoperiodo como los que ocurren en forma natural en una latitud de México (19°, donde la diferencia entre del día más largo y el más corto es de tan sólo 2 horas 12 minutos (Muhlia y Chávez, 1980).

El fenómeno de fotorrefractoriedad ha sido ampliamente estudiado en diversas especies con estacionalidad reproductiva marcada, sin embargo poco se conoce acerca del mismo en razas ovinas con patrones estacionales menos marcados, tal es el caso de aquellas que tuvieron su origen en latitudes bajas (Lindsay, 1991 y Phillips, 1992)

En el caso de la oveja Pelibuey desde que se demostró el efecto directo del fotoperiodo sobre la actividad ovárica (Porras, 1999; Cerna, 2000) parecería probable que en condiciones naturales de fotoperiodo el rápido inicio de la actividad ovárica antes del solsticio de verano es debido a la refractoriedad a días largos mas bien que por la exposición a días cortos (Robinson *et.al.*, 1985). Si este es el caso, la fotorrefractoriedad debería naturalmente ocurrir en la oveja Pelibuey después de 5 o 6 meses de ser expuestas a un fotoperiodo creciente. Esto podría explicar porque las ovejas mantenidas únicamente 3 meses a días largos (16 horas luz) necesitaron requirieron más tiempo (60 a 90 días) para iniciar su actividad ovárica después de un cambio abrupto (Porras, 1999) o gradual (Cerna 2000) a un fotoperiodo corto que el tiempo requerido por las ovejas mantenidas en condiciones naturales. La refractoriedad a días largos parecer tener acción en todas las ovejas mantenidas en fotoperiodo natural por varios meses antes del inicio de la actividad ovárica (Cerna, 2000).

En ambos trabajos, se observó que en condiciones naturales cesa su actividad ovárica a finales de febrero o principios de marzo y reinicia hasta finales de junio principios de julio, lo que significa que dicha actividad inicia antes de que ocurra la reducción de longitud del día. Al parecer bajo condiciones de fotoperiodo natural el rápido inicio de la actividad ovárica antes del solsticio de verano en la oveja Pelibuey se debe al fenómeno de fotorrefractoriedad a días largos (Robinson *et.al.*, 1985).

Esto implicaría, que en condiciones naturales la actividad ovárica en la oveja Pelibuey no inicie por la exposición a un fotoperiodo corto, sino por una pérdida de sensibilidad al fotoperiodo largo. El fotoperiodo corto sería necesario para mantener por tiempo suficiente la época de la actividad reproductiva.

El objetivo del presente trabajo fue determinar si el fenómeno de refractariedad en la oveja Pelibuey se presenta en fotoperiodos constantes del solsticio de verano o invierno propios de una latitud de 19° 13' LN.

Material y métodos.

Localización geográfica.

El presente trabajo se realizó en el Centro de Enseñanza Práctica, Investigación y Unidad Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, localizado en la delegación Tlalpan, en el Distrito Federal. Su localización por coordenadas geográficas es 19° 13' de latitud norte y 99° 8' de longitud oeste, a una altitud de 2800 msnm, donde la duración máxima del día es de 13.04 horas luz y 10.54 horas de oscuridad (solsticio de verano) (Muhlía y Chávez, 1980).

El clima de la región es del tipo C(W) b(ij), es decir semifrío - semihúmedo con lluvias en verano, con precipitación pluvial anual en un rango de 800 a 1200 mm y una temperatura media anual de 10° C (García, 1981).

Animales y alimentación.

Se utilizaron 25 ovejas de la raza Pelibuey con una edad promedio de 4.0 años y un peso vivo promedio de 35 Kg. Durante todo el estudio el sistema de alimentación estuvo compuesto por alfalfa a razón de 1.8 kg/ animal / día, ensilaje de maíz 1.0 kg. / animal / día, alimento concentrado a base de sorgo (300 g. / animal / día), agua y sales minerales *ad libitum*.

Diseño experimental.

El experimento tuvo una duración de un año (Diciembre 1998 a Diciembre 1999), en el cual se utilizaron 25 ovejas Pelibuey, las cuales estuvieron expuestas durante dos años en los siguientes tratamientos fotoperiodicos:

Υ Grupo 4 (n = 7). Fotoperiodo constante largo y constante corto.

Ovejas que contaban con una historia fotoperiodica artificial inversa y que a partir del 21 de diciembre de 1998 al 20 de junio de 1999 fueron expuestas a un fotoperiodo constante del solsticio de verano (fotoperiodo constante largo) y del 21 de junio al 15 de diciembre se les aplico un fotoperiodo constante del solsticio de invierno (fotoperiodo constante corto).

Para tal fin se empleo una tercera cámara de luz controlada.

Para fines prácticos, la cantidad de horas luz del grupo 3 y 4 se ajusto de 10.54 y 11.06 horas a 11 y 13 horas respectivamente.

Los grupos 2, 3 y 4 recibieron 8 horas de luz natural (8:00 a 16:00 horas) en un corral provisto de sombra, agua y alimentos, posteriormente en la tarde regresaban a su respectiva cámara.

Análisis de laboratorio.

De todas las ovejas se obtuvieron muestras de sangre por punción de la vena yugular, en tubos heparinizados, dos veces por semana en días preestablecidos, las muestras se centrifugaron a 3500 r.p.m. durante 10 minutos. El plasma fue colectado y mantenido en congelación (-20° C) hasta su posterior análisis. Las concentraciones de progesterona se determinaron en el laboratorio de Hormonas Esteroides del Instituto Nacional de Nutrición A. Subirán, por medio de un radioinmunoanálisis heterólogo de fase sólida usando un kit comercial (Coat- a - Count® , DPC®) (Pulido et.al. 1991). La sensibilidad del ensayo fue de 0.01 ng / ml y los coeficientes de variación intra e inter ensayo fueron 4.48% y 10.5% respectivamente.

Se consideró que una oveja había ciclado cuando se encontraron por lo menos dos determinaciones consecutivas ≥ 1.0 ng/ml (Rodríguez, 1991).

Análisis estadístico.

Se realizo estadística descriptiva y los parámetros analizados fueron:

- ✓ Duración de la inactividad ovárica (anestro)
- ✓ Duración de la actividad ovárica anual.

✓ Tiempo requerido del día 0 (inicio del experimento) al inicio del cese de la actividad ovárica.

En el caso del grupo 2 y 4 algunas ovejas se encontraban en anestro cuando inicio el experimento, por tal motivo se considero en mes de noviembre para determinar la duración total de su periodo de anestro.

c. Resultados.

Durante el año de estudio se observó que 7 ovejas presentaron actividad ovárica continua en los cuatros grupos (Cuadro 4.1).

Cuadro 4.1 Ovejas Pelibuey que presentaron actividad ovárica todo el año.

Grupo	N	Identificación de la oveja
1	1	41
2	3	8, 29, 33
3	1	39
4	2	30, 36
Total	7	

En el cuadro 4.2 se muestra la actividad ovárica anual del grupo 1 (testigo), y se observó que 4 de 5 ovejas presentaron un periodo de anestro de 119.5 ± 28.67 días (promedio \pm error estándar) registrándose desde marzo hasta agosto. La duración de la actividad ovárica fue de 269.4 ± 32.4 días.

En el cuadro 4.3 se muestra la actividad ovárica del grupo 2 (fotoperiodo inverso) en el cual 4 de 7 ovejas presentaron un periodo de anestro de 105.5 ± 32.06 días entre los meses de noviembre a abril, la duración de la actividad ovárica fue de 349.71 ± 27.35 días ¹.

En el caso del grupo 3, se observó que al exponer las ovejas a un fotoperiodo constante corto, 4 de 6 ovejas presentaron un periodo de anestro de 72.75 ± 27.96 días entre los meses de febrero a junio. Posteriormente, al ser expuestas a un fotoperiodo constante largo, 3 de 6 ovejas presentaron un periodo de anestro de 26.67 ± 3.71 días, presentándose a finales del mes de junio a septiembre. La respuesta a los tratamientos fotoperiodicos fue diferente entre ovejas, ya que se observó que solamente dos ovejas (n° 28 y 46) presentaron dos periodos de anestro, otras dos ovejas (n° 34 y 42) presentaron un solo periodo de anestro cuando fueron

¹ La duración total fue de 410 días, ya que se tomo en cuenta el mes de noviembre de 1998.

expuestas a un fotoperiodo constante corto y solo una oveja presentó un periodo de anestro cuando fue sometida a un fotoperiodo constante largo. La duración de la actividad ovárica fue de 303.17 ± 23.10 días. (Cuadro 4.4)

Con relación al grupo 4 antes de iniciar el tratamiento se observó que en el mes de noviembre de 1998, 2 de 7 ovejas (n° 4 y 37) presentaron un periodo de anestro de 29 y 43 días respectivamente y la oveja 35 iniciaba su periodo de anestro. Al iniciar el tratamiento de fotoperiodo constante largo se observó que la oveja 35 continuaba en anestro, la oveja 16 iniciaba su periodo de anestro en el mes de enero y las ovejas 4 y 37 presentaban un periodo de anestro con una duración de 32 y 36 días respectivamente iniciando este en el mes de enero. Sin embargo, durante el transcurso del tratamiento la oveja 35 finalizó su periodo de anestro en el mes de marzo, la oveja 16 continuo en anestro hasta el 31 de agosto, y las ovejas 4 y 37 presentaron periodos de ciclicidad intermitente, es decir, un periodo de actividad ovárica seguido por niveles bajos de progesterona de 6 a 9 muestreos y subsecuentemente reiniciando su actividad ovárica (Nugent *et. al.* 1988). Con respecto a la oveja 4 presentó tres periodos de actividad ovárica de 14.5 ± 1.5 días y 3 periodo de anestro de 33.66 ± 6.76 días y la oveja 37 presentó 4 periodos de actividad ovárica de 16.0 ± 0.71 días y 4 periodos de anestro de 20.0 ± 4.26 días.

Al iniciar el tratamiento de días cortos constantes se observó que en 3 de 7 ovejas presentaron un periodo de anestro de 22.33 ± 1.76 días, el cual inicio en el mes de julio, de estas tres ovejas se encontraba la 4 y 37. La oveja 37 presentó únicamente un periodo de anestro de 19 días y posteriormente continuo ciclando hasta el final del tratamiento, sin embargo, la oveja 4 continuó presentando periodos de ciclicidad intermitente, iniciando con un periodo de anestro de 25 días, posteriormente reinicio su actividad ovárica por un periodo de 63 días, enseguida presento un segundo periodo de anestro de 25 días y reinicio por segunda ocasión su actividad ovárica (24 días), finalmente, ceso su actividad ovárica a principios de diciembre hasta el final del experimento. La duración de la actividad ovárica anual de este grupo fue de 298.85 ± 38.53 días (Cuadro 4.5).

Finalmente, se calculo para los grupos 4 grupos el tiempo requerido del inicio del experimento (día cero) al inicio del cese de la actividad ovárica. En el grupo 1, el tiempo requerido para el cese de la actividad ovárica fue de 101.5 ± 15.44 días (promedio \pm error estándar), con respecto al grupo 2 no se calculo este parámetro debido a que 5 de 7 ovejas se encontraban ciclando, y dos ovejas se encontraban en anestro,

Para el grupo 3 y 4 el tiempo promedio requerido cese de la actividad ovárica al aplicar un fotoperiodo constante corto fue de 99.0 ± 15.14 días para el grupo 3 y de 11.66 ± 1.86 días para el grupo 4. Al aplicar un fotoperiodo constante largo el tiempo promedio requerido para el cese de la actividad ovárica fue de 55.33 ± 14.38 para el grupo 3 y de 20.66 ± 5.69 días para el grupo 4.

d. Discusión.

En este estudio se observó que en condiciones de fotoperiodo natural y en fotoperiodo artificial inverso, las ovejas Pelibuey presentaron un periodo de inactividad ovárica similares a los reportados por Porras (1999) y Cerna (1999). Lo que demuestra que la oveja Pelibuey es capaz de responder a los cambios graduales de luz naturalmente y artificialmente propios de una latitud de $19^{\circ}13'$ N. Cabe señalar que las ovejas Pelibuey que se encontraban en condiciones de fotoperiodo artificial el cese de la actividad ovárica inició meses antes (mes de noviembre) con respecto a las condiciones naturales.

Por otro lado, en el presente trabajo se observó que la aplicación de fotoperiodos constantes de solsticio de verano y / o de invierno (fotoperiodo constante largo y fotoperiodos constante cortos) provocaron que las ovejas presentaran periodos de inactividad ovárica desfasados de su patrón reproductivo natural, estos resultados fueron observados también cuando las ovejas fueron sometidas a fotoperiodos artificiales alternos (16 horas luz u 8 horas luz) presentando dos periodos de inactividad sexual y dos periodos de actividad sexual durante un año (Porras, 1999).

Con relación al tiempo que necesitaron las ovejas expuestas a un fotoperiodo artificial para responder a los cambios de luz, se necesita de 9 a 25 semanas, para que un tratamiento de luz artificial tenga efecto (Hulet y Shelton, 1980). En el grupo 3, al ser expuesto a un fotoperiodo constante corto, el intervalo medio a la respuesta fue de 99.0 ± 15.14 días, ubicándose en este rango. Tal como ha reportado Malpoux *et. al.* (1989) y Wayne *et. al.* (1990) la historia fotoperiódica previa influye la respuesta en la oveja, por lo tanto, antes de ser sometidas a un fotoperiodo constante corto, las ovejas estuvieron a 6 meses a un fotoperiodo natural decreciente (de junio a diciembre) y al exponerlas a un tratamiento fotoperiodo constante corto, el cese de la actividad ovárica se originó en un tiempo similar a lo que sucedió en condiciones naturales (101.5 ± 15.44 días). Por lo tanto la aplicación de un fotoperiodo constante del solsticio de invierno no favoreció la continuación de la actividad ovárica en las ovejas del grupo 3, dichos resultados son similares a los obtenidos en diferentes

razas ovinas de clima templado, que fueron sometidas a un fotoperiodo constante de solsticio de invierno propios de su latitud (Worthy y Harensing, 1983; Malpaux *et al.*, 1988), indicando que este estado de insensibilidad al fotoperiodo prevaleciente se debe a un estado de fotorrefractoriedad a los días cortos. En el presente estudio, el cese de la actividad ovárica en el grupo 1 y 3 se debió al fenómeno de fotorrefractoriedad hacia los días cortos las cuales fueron expuestas previamente (junio a diciembre) antes del inicio del experimento. Dicho estado de fotorrefractoriedad podría ser parte de un ritmo endógeno que regula el cese de la actividad ovárica.

Posteriormente, al ser expuestas las ovejas del grupo 3 a un fotoperiodo constante del solsticio de verano (13 horas luz) el cese de la actividad ovárica se originó en 55.33 ± 14.38 días después del solsticio de verano. Porras (1999) observó que ovejas mantenidas durante 6 meses a un fotoperiodo corto (8 horas luz), la respuesta a un fotoperiodo largo de 16 horas luz, origina el cese de la actividad ovárica en un periodo de 31.5 ± 2.5 días, indicando que posiblemente esta respuesta se debió a un fenómeno de fotorrefractoriedad a los días cortos.

La respuesta tan rápida hacia el fotoperiodo largo (13 horas luz) después de haber sido expuestas a un fotoperiodo corto (11 horas luz) durante 6 meses confirma lo propuesto por Porras (1999) que en la oveja Pelibuey existe un fenómeno de fotorrefractoriedad a días cortos y es necesario una previa exposición de 6 meses a un fotoperiodo corto para que se presente dicho fenómeno.

En el presente estudio se observó que el cese de la actividad ovárica en las ovejas que se encontraban en fotoperiodo natural ocurrió en 101.5 ± 15.44 días. Porras (1999) observó que cuando las ovejas solamente habían estado expuestas a un fotoperiodo corto durante 3 meses, la respuesta al fotoperiodo largo tardó 100.0 ± 4.8 días en producirse, indicando que en condiciones naturales esto permitiría que las ovejas Pelibuey dejaran de ciclar alrededor de 60 a 90 días después del solsticio de invierno. Con ambos resultados, se propone que el cese de la actividad ovárica en la oveja Pelibuey sucede alrededor del día 100 después del solsticio de invierno.

Con referencia al grupo 4, el tiempo que tardaron en responder a los tratamientos fotoperiodicos fue muy rápida. En el tratamiento de fotoperiodo constante largo tardaron 20.66 ± 5.69 días en responder a los efectos inhibitorios, sin embargo esta respuesta no era la esperada, ya que antes de iniciar el tratamiento, 6 de 7 ovejas se encontraban ciclando, y se esperaba que continuaran ciclando. Sin embargo, al exponerlas a dicho tratamiento, tres

ovejas respondieron a los efectos inhibitorios de los días largos, donde dos ovejas presentaron periodos de ciclicidad intermitente y la otra presentó un anestro de 225 días. Al someterlas al segundo tratamiento fotoperiódico constante corto, 3 de 7 ovejas y necesitaron 11.66 ± 1.86 días en presentar un periodo de anestro después de solsticio de verano, lo que indicaría que se hicieron refractarias a un fotoperiodo largo, sin embargo dos ovejas habían presentado periodo de inactividad intermitente anteriormente, por consecuencia, el periodo de anestro que se observó no se pudo atribuir directamente a que se debió a un fenómeno de fotorrefractoriedad a los días largos.

La presencia de ciclos intermitentes ha sido reportada en ovejas Dorset (Nugent *et.al.*, 1987) y en ovejas Rambouillet x Dorset (Minton, 1990), los cuales atribuyen este comportamiento al genotipo de las ovejas con relación a la estacionalidad reproductiva.

Por otra parte, la inactividad ovárica en las hembras mantenidas en fotoperiodo natural tuvo una duración de $119. \pm 28.67$ días, equivale a un periodo corto de anestro (3.9 meses), lo que origina que las ovejas puedan reiniciar su actividad ovárica aun antes de solsticio de verano. Dicha tendencia de las ovejas Pelibuey para comenzar a ciclar cuando los días son más largos ha sido reportada por Porras (1999) y Cerna (2000) y es uno de los argumentos que se han utilizado para señalar que la estacionalidad en la oveja Pelibuey no es controlada por el fotoperiodo, sin embargo, en el presente estudio fue evidente que la exposición a días largos inhibió la actividad reproductiva, pero el anestro fue muy pequeño 26.67 ± 3.71 días, reiniciando su actividad ovárica por una "rápida pérdida" de sensibilidad al fotoperiodo largo. Sin embargo, estos resultados no son una evidencia para afirmar que sucede lo mismo en condiciones naturales.

En los cuatro grupos, la duración de la inactividad ovárica varió marcadamente entre ovejas (rango de 22 a 225 días), dicha variabilidad ha sido reportada por Porras (1999). Además, la presencia de 7 ovejas que tuvieron actividad ovárica continua ha sido reportada por Martínez (1998), Porras (1999) y Cerna (1999). No obstante, al tener conocimiento de la actividad ovárica del año 1998 ², se observó que no todas las ovejas habían tenido actividad ovárica continua durante los dos años, tal es el caso de 4 ovejas (n° 6, 8, 39, 41). Sin embargo, existieron 4 ovejas que tuvieron actividad continua durante los dos años (n° 29, 30, 33, 36). La variabilidad de la respuesta de la actividad ovárica entre años, fue reportada por Porras (1999) que detectó dos ovejas que tuvieron actividad ovárica continua, aunque solamente durante en uno de los dos años del experimento. Además, Cerna (2000) detectó dos

² Datos proporcionados por el Dr. Zarco.

ovejas que ciclaron continuamente durante los dos años de estudio. Thimonier y Mauleón (1969) señalan que la duración de la época reproductiva es variable debido a un efecto de raza, pero también dentro de una raza existe variación individual, siendo posible encontrar individuos con periodos reducidos de anestro. Conjuntamente, Wheeler y Land (1977) indican que la estacionalidad reproductiva no es una condición del todo o nada, es decir, existe la posibilidad de encontrar individuos que presente actividad estral y ovulatoria en cualquier época del año. Esta gran variabilidad inter e intra individuo en la oveja Pelibuey dificultan los estudios de los efectos del fotoperiodo sobre la actividad ovárica.

En conclusión, los resultados del presente estudio confirman que la oveja Pelibuey tiene estacionalidad reproductiva real regida por el fotoperiodo, y que el cese de la actividad ovárica se debe a un fenómeno de fotorrefractoriedad a los días cortos, que podría ser parte de un ritmo endógeno.

Adicionalmente, los resultados obtenidos sugieren la necesidad de estudiar si hay un mecanismo de fotorrefractoriedad a días largos, tomando en cuenta que existe una gran variabilidad en la duración del anestro entre individuos, con el fin de determinar la existencia de un ritmo endógeno que regule la actividad ovárica en la oveja Pelibuey.

Cuadro 4.2 Actividad ovárica anual de ovejas Pelibuey mantenidas en condiciones naturales a una latitud de 19° 13' norte

N° oveja	Mes del año												Duración del anestro(días)	Fecha del inicio y fin del anestro	Duración de la época ovárica (días)	Intervalo (días) desde la aplicación del fotoperiodo al cese de la actividad ovárica
	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N				
10													105	20 marzo al 2 julio	260	94
32													150	10 marzo al 6 agosto	215	85
41													-	No presentó	365	
45													176	5 marzo al 27 agosto	189	80
513													47	14 mayo al 29 junio	318	147
	Promedio ± error estándar												119.5 ± 28.67	5 marzo a 27 agosto	269.4 ± 32.4	101.5 ± 15.4

■ Periodo de inactividad ovárica.

Cuadro 4.5 Actividad ovárica de ovejas Pelibuey mantenidas en condiciones de fotoperiodo constante de solsticio de verano (13 horas luz o constante largo) y fotoperiodo constante de solsticio de invierno (11 horas luz o constante corto).

N° oveja	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	Duración del anestro (días) en fotoperiodo constante largo	Fecha de inicio y final del anestro	Duración del anestro (días) en fotoperiodo constante corto	Fecha de inicio y final del 2° periodo de anestro	Duración de la época ovárica (días)
	[Bar chart showing ovulatory activity across months]																		
6	[Bar chart]														-	No presentó	23	7 al 29 de julio	387
16	[Bar chart]														225	22 enero a 31 agostos	-	No presentó	185
30	[Bar chart]														-	No presentó	-	No presentó	410
35	[Bar chart]														141	1 novieb a 16 marzo	-	No presentó	269
36	[Bar chart]														-	No presentó	-	No presentó	410
4*	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	32	5 enero a 5 febrero	25	17 julio a 10 agosto	183
37**	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	[■]	36	8 enero a 12 febrero	19		248
Promedio ± error estándar															109.5 ± 45.9	5 febrero a 29 junio	22.33 ± 1.76	6 julio a 10 agosto	298.5 ± 38.53

[■] Periodo de inactividad ovárica.

[■] Corresponde al fotoperiodo constante de solsticio de invierno (11 horas luz)

4* Presento durante el transcurso del tratamiento de días largos constantes: 3 periodos de anestro de 33. 66 ± 6.76 días.

Presento durante el transcurso del tratamiento de días cortos constantes: 2 periodos de anestro de 20.0 ± 5.0 días.

37** Presento durante el transcurso del tratamiento de días largos constantes: 4 periodos de anestro de 20.0 ± 4.26 días.

5. EFECTO DE FOTOPERIODOS CONSTANTES CORTOS (11 HORAS LUZ) O CONSTANTES LARGOS (13 HORAS LUZ) SOBRE LA SECRECIÓN DE HORMONA LUTEINIZANTE EN LA OVEJA PELIBUEY.

Resumen.

El objetivo del presente estudio fue caracterizar el patrón mensual de secreción de hormona luteinizante (LH) en ovejas Pelibuey ovariectomizadas en condiciones de fotoperiodo natural (19° 13' LN) o en fotoperiodo artificial. El fotoperiodo artificial consistió en aplicar durante 6 meses un fotoperiodo artificial constante del solsticio de invierno (11 horas luz o fotoperiodo constante corto) seguido de 6 meses de una exposición de fotoperiodo artificial constante del solsticio de verano (13 horas luz o fotoperiodo constante largo). Se utilizaron 14 ovejas Pelibuey ovariectomizadas, la mitad de las ovejas permanecieron en confinamiento expuestas al fotoperiodo natural (grupo testigo) y las restantes se sometieron a condiciones de fotoperiodo artificial (grupo tratado). El patrón de secreción de LH mensual se caracterizó colectando muestras dos veces por semana durante 15 meses. Dicho patrón de secreción de LH se analizó por mes, dividiendo en tres periodos los 15 meses con relación al tratamiento fotoperiodico al que fue sometido el grupo tratado. En primer periodo (15 de Septiembre al 21 de Diciembre 1998) no se encontró diferencia en la media mensual entre ambos grupos ($P > 0.01$) ni existió diferencia entre los meses ($P > 0.01$). En el segundo periodo (exposición a un fotoperiodo constante corto) y en el tercer periodo (exposición a un fotoperiodo constante largo) la media mensual de LH entre grupos fue diferente ($P < 0.01$), pero no existió diferencia dentro del grupo sobre los niveles medios de LH ($P > 0.01$). Dicha diferencia entre grupos no fue asociada al tratamiento fotoperiodico al que fueron sometidas las ovejas, sino que posiblemente otros factores afectaron la respuesta. Se concluye que en condiciones de fotoperiodo natural o artificial las concentraciones medias mensuales de LH en ovejas Pelibuey ovariectomizadas no varían con el tiempo.

a. Introducción.

La estación reproductiva es una característica común en muchas razas de ovinos de clima templado y se ha demostrado que el fotoperiodo es el principal factor que controla la estación reproductiva (Yeates 1949; Hafez, 1952). Se ha demostrado la existencia de variaciones anuales en la secreción de la hormona luteinizante (LH) asociadas con la actividad reproductiva de la oveja, detectando que los niveles de LH son mayores en la estación reproductiva y menores en la anestro (Yuthasastradosol *et. al.*, 1977).

Karsch *et. al.*, (1984) indica que el fotoperiodo regula la actividad del centro generador de pulsos de GnRH y de LH, así los días cortos incrementan la frecuencia de secreción de LH necesaria para desencadenar la actividad reproductiva de la oveja, mientras que los días largos deprimen dicha secreción

Goodman *et. al.*, (1982) estudiaron el efecto del fotoperiodo sobre el patrón anual de secreción pulsátil de LH, utilizando ovejas Suffolk ovariectomizadas (ovx) para eliminar los efectos de los esteroides, observando que durante el anestro la frecuencia de los pulsos de LH era baja (3 pulso en un periodo de 3 horas) pero su amplitud fue mayor, mientras que en la estación reproductiva la frecuencia en los pulsos de LH fue mayor (6 pulsos en un periodo similar) aunque de menor amplitud. Cambios similares ocurren también en hembras ovx pero sometidas a fotoperiodo artificial, donde la frecuencia en los pulsos de LH disminuye al exponerlas a un fotoperiodo largo (16 horas luz) y se incrementa después de someterlas a un fotoperiodo corto (8 horas luz). Estos hallazgos son más dramáticos cuando se aplica a las ovejas ovx implantes de estradiol, lo que permite demostrar la función que desempeña el ciclo luminoso anual (efecto independiente de esteroides) y los esteroides (efecto esteroide dependiente) sobre la actividad reproductiva estacional de la oveja (Goodman *et. al.*, 1982; Martin *et. al.*, 1983).

En contraste con la vasta información que existe acerca del patrón de secreción anual de LH en diversas razas ovina, en la oveja Pelibuey solamente existe evidencia de variaciones estacionales en la secreción pulsátil de LH en machos castrados y en ovejas ovariectomizadas Pelibuey sin tratamiento de esteroides (González *et. al.*, 1992).

El objetivo del presente estudio fue evaluar el patrón de secreción anual de LH bajo condiciones de fotoperiodo natural y en fotoperiodo artificial en ovejas Pelibuey ovariectomizadas.

b. Material y métodos.

Localización geográfica.

El presente trabajo se realizó en el Centro de Enseñanza Práctica, Investigación y Sanidad Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, localizado en la delegación Tlalpan, en el Distrito Federal. Su localización por coordenadas geográficas es 19° 13' de latitud norte y 99° 8' de longitud oeste, a

una altitud de 2800 msnm, donde la duración máxima del día es de 13.04 horas luz y 10.54 horas de oscuridad (solsticio de verano) (Muhlía y Chávez, 1980).

El clima de la región es del tipo C(W) b(lj), es decir semifrío - semihúmedo con lluvias en verano, con precipitación pluvial anual en un rango de 800 a 1200 mm y una temperatura media anual de 10° C (García, 1981).

Animales y alimentación.

Se utilizaron 14 ovejas de la raza Pelibuey ovariectomizadas, con una edad promedio de 5.0 años y un peso vivo promedio de 36 kg. Durante todo el estudio el sistema de alimentación estuvo compuesto por alfalfa a razón de 1.8 Kg/ animal / día, ensilaje de maíz 1.0 kg / animal / día, alimento concentrado basado en sorgo (300 g. / animal / día), agua y sales minerales *ad libitum*. La ovariectomía en las ovejas habían sido realizada 4.0 años antes de inicio del experimento y durante 1.5 años previos al experimento, estuvieron en condiciones naturales con implante de estradiol, el cual fue retirado en el mes de septiembre de 1998.

Diseño experimental.

El trabajo experimental inició el 15 de septiembre de 1998 y finalizó el 1 de diciembre de 1999.

Los animales fueron divididos aleatoriamente en dos grupos

✓ Grupo 1: Fotoperiodo natural (testigo).

Las ovejas (n = 7) continuaron en condiciones de fotoperiodo natural de una latitud 19° 13' LN, es decir, que al 21 de diciembre la cantidad mínima de luz fue de 10.54 horas (solsticio de invierno) y el 21 de junio, la cantidad máxima de luz es 13.06 horas (solsticio de verano).

✓ Grupo 2. Fotoperiodo artificial constante corto y fotoperiodo artificial constante largo (Grupo tratado).

Las ovejas (n =7) permanecieron del 15 de septiembre al 20 de diciembre de 1999 en condiciones de fotoperiodo natural. A partir del 21 de diciembre de 1998 al 21 de junio de 1999 fueron expuestas a un fotoperiodo artificial constante del solsticio de invierno (10.54

horas luz, fotoperiodo constante corto) y del 22 de junio al 1 de diciembre de 1999 se les aplico un fotoperiodo artificial constante del solsticio de verano (13.05 horas luz, fotoperiodo constante largo). Con fines prácticos, se ajusto la cantidad 10.54 y 13.06 horas luz a 11 y 13 horas luz respectivamente.

Para tal fin, se empleo una cámara de luz controlada la cual consistía en un cuarto con iluminación artificial suministrada por lámpara fluorescente (350 lux al nivel de la cabeza del animal) conectadas a un interruptor automático de tiempo que permitió simular a voluntad los días constantes cortos y constantes largos.

Análisis de laboratorio.

De todas las ovejas se obtuvieron muestras de sangre por punción de la vena yugular, en tubos heparinizados, dos veces por semana en días preestablecidos, las muestras se centrifugaron a 3500 r.p.m. durante 10 minutos. El plasma fue colectado y mantenido en congelación (-20° C) hasta su posterior análisis. Las muestras fueron cuantificadas por medio de un radioinmunoanálisis heterólogo en fase líquida (Perera, 1996). La sensibilidad del ensayo fue de 0.100 ng / ml, los coeficientes de variación intra ensayo fueron de 11.85% (0.225 ± 0.026 ng /ml; promedio ± error estándar) para dosis baja y de 9.28% (3.226 ± 0.229 ng /ml) para dosis alta. Mientras que los coeficientes de variación inter ensayo fueron para dosis baja de 3.49% (0.222 ± 0.007 ng /ml) y la alta de 5.37% (3.317 ± 0.178 ng /ml)

Análisis estadístico.

El patrón de secreción anual de LH se analizo por mes, los 15 meses de muestreo se dividieron en tres periodos con relación al tiempo del tratamiento fotoperiodico que fueron sometidas las ovejas del grupo 2; quedando de la siguiente manera:

∩ Periodo 1. Del 15 de septiembre al 20 de diciembre de 1998 (Periodo preliminar).

∩ Periodo 2. Del 21 de diciembre al 20 de junio.

∩ Periodo 3. Del 21 de junio al 1 de diciembre.

Para evaluar el efecto del tratamiento sobre los niveles mensuales plasmáticos de LH se utilizo una análisis de varianza para un diseño de parcelas divididas con mediciones repetidas, empleando el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = M + T_i + O(T_i) + M_j + T_i * M_j + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = variable de respuesta (nivel medio plasmático mensual de LH)

M = Media general.

T_i = Efecto del i - ésimo tratamiento.

$O(T_i)$ = Efecto de la oveja anidado en el i - ésimo tratamiento.

M_j = Efecto del j - ésimo mes.

$T_i * S_j$ = Efecto del i - ésimo tratamiento sobre el j - ésimo mes.

E_{ij} = Error aleatorio.

Posteriormente el patrón de secreción anual de LH se analizó en forma independiente para ambos grupos (testigo y tratado). Evaluando el efecto del mes y de la oveja sobre los niveles plasmáticos mensuales de LH utilizado un análisis de varianza para diseño de bloques aleatorios, empleando el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = M + O_i + ME_j + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = variable de respuesta (nivel medio mensual plasmático de LH)

M = Media general.

O_i = Efecto debido a la i - ésima oveja (bloque)

ME_j = Efecto de la j - ésimo mes.

E_{ij} = Error aleatorio.

Se comparó por mes los niveles medios de LH utilizando una prueba de Tukey.

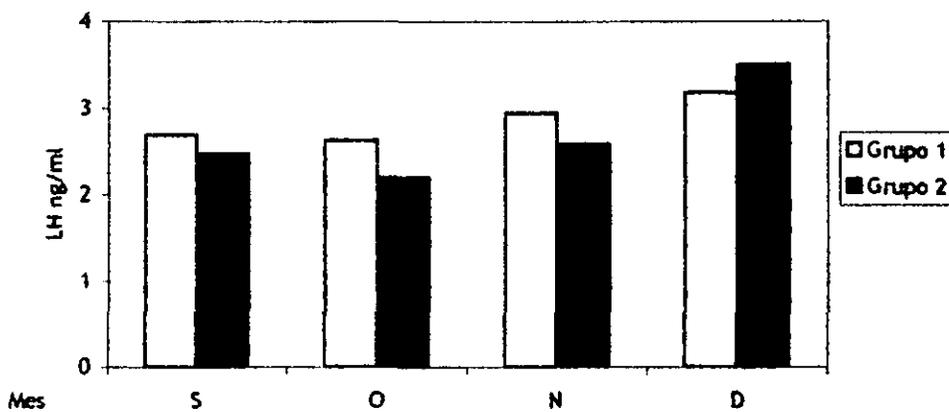
Se utilizó el paquete estadístico SAS.

c. Resultados.

Las concentraciones plasmáticas de LH de la oveja 19 presentaron valores elevados en todos los muestreos (promedio de 28.5 ng/ml), por tal motivo los datos de esta oveja se descartaron de los análisis estadísticos respectivos.

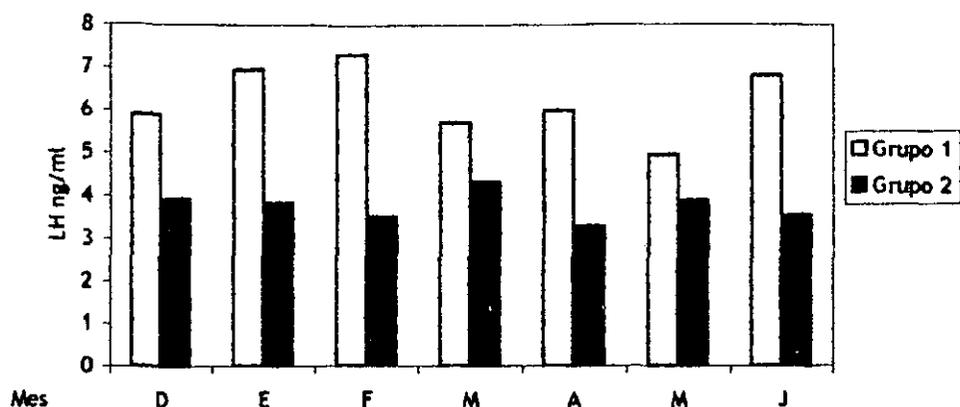
Durante el primer periodo la media mensual de LH no fueron estadísticamente diferente entre ambos grupos ($P>0.01$) ya que en ambos las concentraciones fueron < 4.0 ng/ml (Figura 1). No se observo diferencia entre meses estadísticamente significativa ($P>0.01$) ni existió un efecto de interacción ($P>0.01$).

Figura 1. Promedio mensual de hormona luteinizante en ovejas ovariectomizadas mantenidas en condiciones naturales.



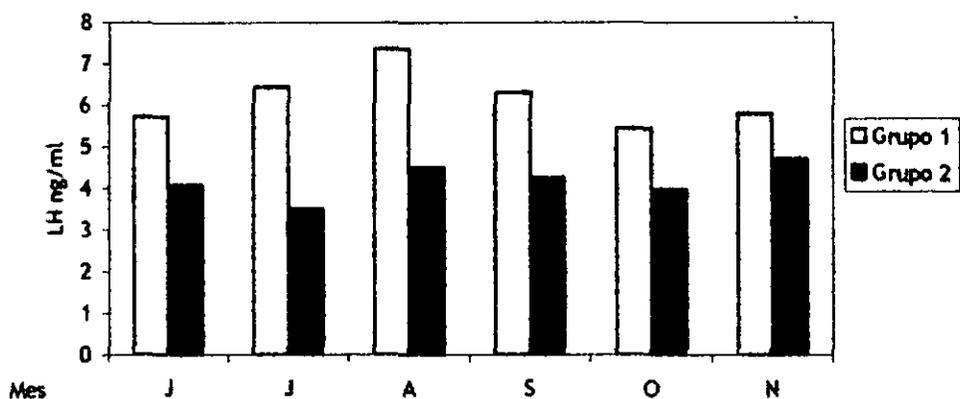
Durante el segundo período, la media mensual de LH fue estadísticamente diferente entre grupos ($P<0.01$), ya que en el grupo 1 los niveles medios de LH fueron >4.5 ng/ml y para el grupo 2 fueron ≤ 4.5 ng/ml. Sin embargo, no existió un efecto del tratamiento sobre los niveles mensuales (interacción tratamiento * mes) ($P>0.01$). Los niveles medios mensuales de LH de cada grupo no fueron estadísticamente diferentes ($P>0.01$). (Figura 2)

Figura 2. Promedio mensual de hormona luteinizante en ovejas Pellibuey ovariectomizadas (Periodo 2)



En la figura 3 se muestra el último período, y se observó que la media mensual de LH fue estadísticamente diferente ($P > 0.01$) entre grupos, los niveles mensuales del grupo 1 fueron > 5.0 ng/ml y de ≤ 5.0 ng/ml para el grupo 2. No se encontró diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.01$) entre los meses, ni tampoco existió un efecto de interacción ($P > 0.01$).

Figura 3. Promedio mensual de hormona luteinizante en ovejas Pellibuey ovariectomizadas (período 3)



En la figura 4 y 5 se muestra el comportamiento mensual en la secreción de LH para cada oveja del grupo 1 y 2 respectivamente. Individualmente las ovejas de cada grupo tuvieron variaciones significativas en los niveles mensuales de LH ($P < 0.01$).

d. Discusión.

En ambos grupos no existieron variaciones mensuales significativas en las concentraciones de LH plasmático. Este tipo de secreción fue descrito por Legan *et. al.*, (1977), en el cual observaron que las concentraciones medias de LH en ausencia de estradiol no cambiaban con el tiempo. Sin embargo, en este estudio se observó que las ovejas sometidas a tratamientos fotoperiodicos artificiales la secreción de LH mensual fue menor en relación con el grupo testigo, pero sus concentraciones medias mensuales no variaron aun siendo sometidas a dos diferentes tipos de tratamientos fotoperiodicos.

La diferencia que se observó entre los niveles mensuales de LH en ambos grupos no es atribuible al fotoperiodo, ya que es necesario utilizar una fuente constante de estradiol (implantes subcutáneos) para atribuir que la diferencia se debió al tratamiento fotoperiodico (Legan *et. al.*, 1977). Aunque existió una diferencia entre los niveles mensuales, las concentraciones medias en ambos grupos no variaron con el tiempo, por lo tanto, dicha diferencia pudo deberse a otros factores (alimentación, manejo, procesamiento de muestras).

Se concluye que en condiciones de fotoperiodo natural o artificial las concentraciones medias mensuales de LH en ovejas Pelibuey ovariectomizadas no cambian con el tiempo.

Figura 5. Perfil mensual de secreción de LH en ovejas Pelibuey ovariectomizadas mantenidas en condiciones de fotoperiodo natural

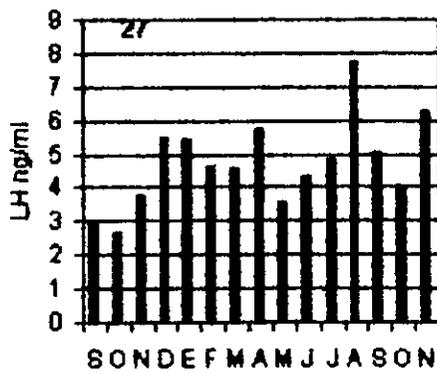
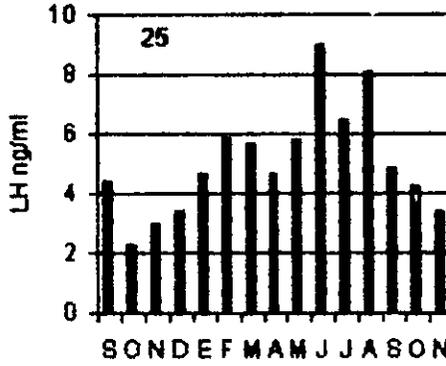
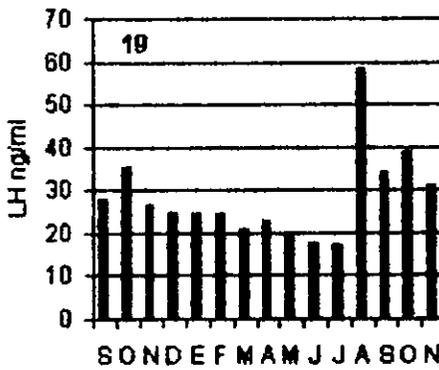
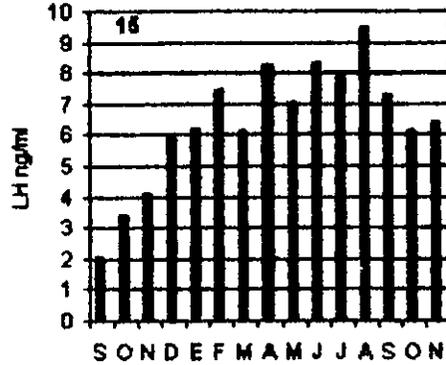
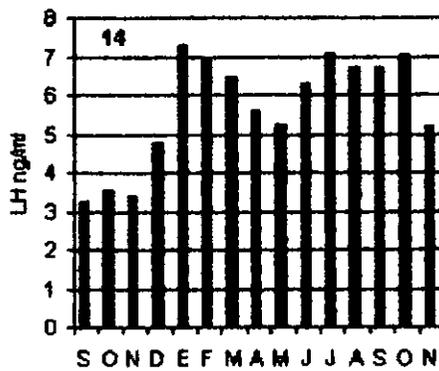
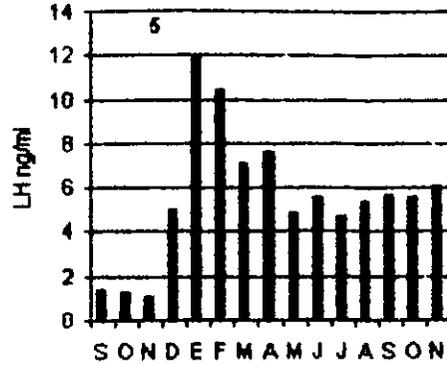
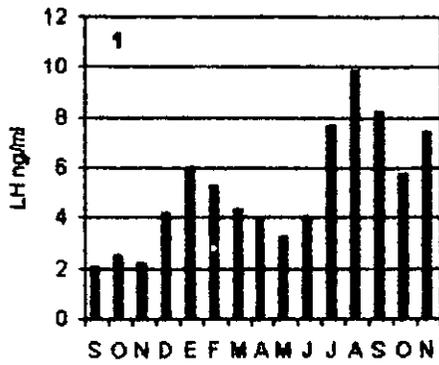
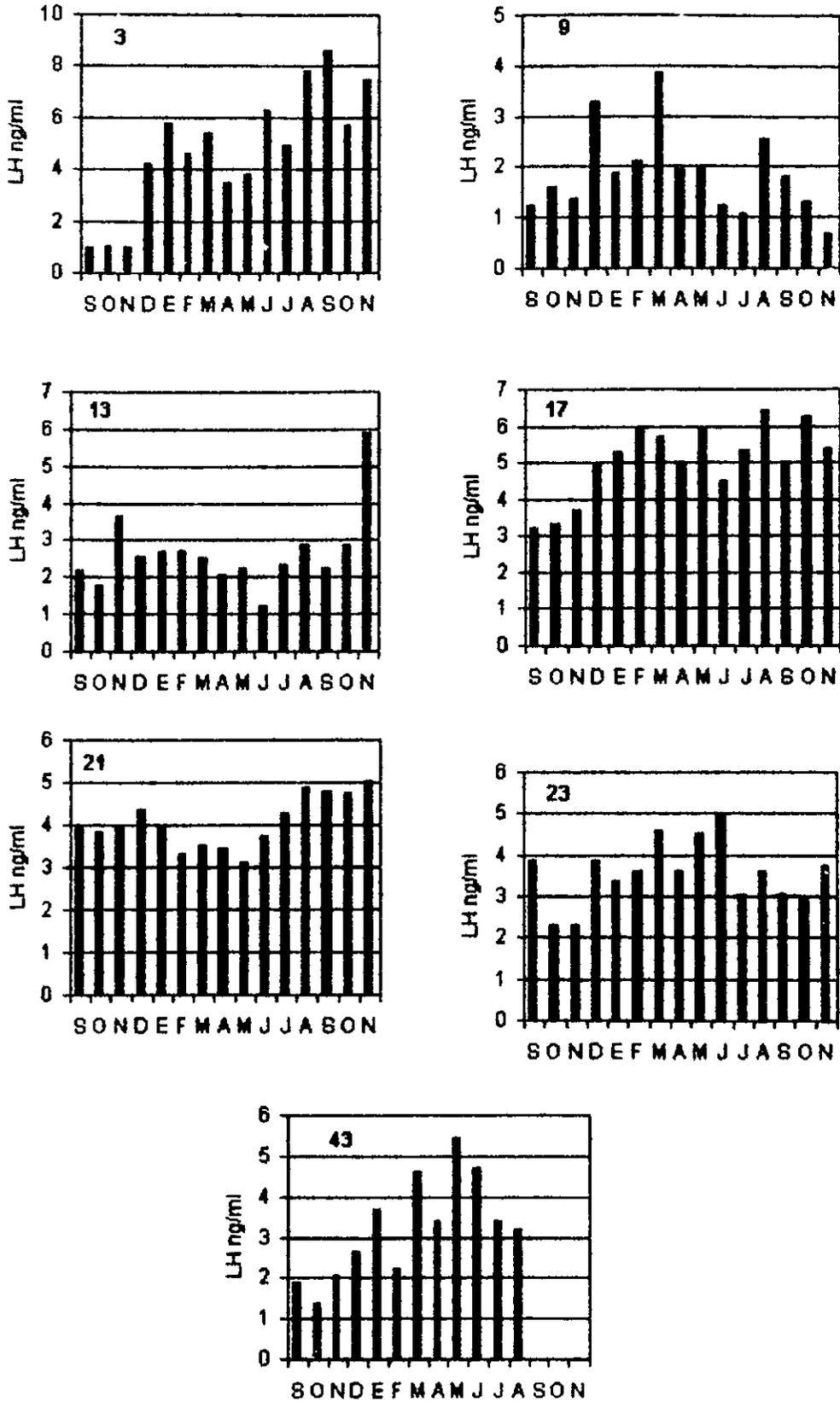


Figura 6. Perfil mensual de secreción de LH en ovejas Pelibuey ovariectomizadas mantenidas en condiciones de fotoperiodo artificial



6 Discusión general..

La estacionalidad reproductiva ha sido estudiado ampliamente en ovinos de clima templado, y se conoce que el fotoperiodo es el principal factor ambiental que regula dicho fenómeno en ovinos de latitudes altas o medias (Yeates 1949, Hafez 1952, Thwaites 1965, Karsch *et. al.* 1984). En el caso de la oveja Pelibuey los trabajos han demostrado que las ovejas son capaces de responder a los cambios graduales en el fotoperiodo natural (Porras 1999, Cerna 1999) y a los cambios graduales en fotoperiodo artificial inverso (Cerna *et. al.* 2000).

En el presente trabajo se observo que en condiciones de fotoperiodo natural las ovejas presentaron un periodo de anestro, lo cual es similar a lo reportado por otros autores (Valencia *et. al.* 1981, Heredia *et. al.* 1991, Martínez *et. al.* 1998, Porras 1999, Cerna 1999). En condiciones de fotoperiodo artificial inverso, también se presento un periodo de inactividad ovárica, la cual ocurrió más temprano (mes de noviembre) que en los animales que se mantuvieron en condiciones de fotoperiodo natural (mes de marzo), dicho resultado es similar al reportado por Cerna (1999).

Con relación al tiempo que necesitaron las ovejas expuestas a un fotoperiodo artificial para responder a los cambios de luz, se necesita de 9 a 25 semanas para que un tratamiento con luz artificial tenga efecto (Hulet y Shelton 1980). En el caso del grupo 3 (con previa historia fotoperiodica natural), al ser expuestas las ovejas a un fotoperiodo constante corto el intervalo medio a la respuesta fue de 99.0 ± 15.14 días, ubicándose en el rango señalado. Tal como ha reportado Malpaux *et. al.* (1989) y Wayne *et. al.* (1990) en ovejas que la historia fotoperiodica previa influyo en el tipo de respuesta. Dicha respuesta sucedió en un tiempo similar que en ovejas que se encontraban en condiciones naturales (101.5 ± 15.44 días) después del solsticio de invierno. Por lo tanto, la utilización de un fotoperiodo constate corto después del solsticio de invierno no favoreció la continuación de la actividad ovárica en la oveja Pelibuey, ya que las ovejas presentaron un estado de refractariedad a los días cortos, estos resultados han sido reportados en oveja de clima templado por Worthy y Harensing (1983) y Malpaux (1988).

Porras (1999) observo que cuando las ovejas habían estado expuestas a un fotoperiodo corto durante tres meses (8 horas luz), la respuesta al fotoperiodo largo (16 horas luz) tardó 101.5 ± 4.8 días indicando que en condiciones naturales las ovejas Pelibuey dejarían de ciclar alrededor de 90 días después del solsticio de invierno. Los resultados del presente trabajo

sobre el tiempo del cese de la actividad ovárica en condiciones de fotoperiodo natural o constante corto indicaría que en la oveja Pelibuey necesita alrededor de 100 días después del solsticio de invierno, situación que confirma lo propuesto por Porras (1999).

Posteriormente, al ser expuestas las ovejas del grupo 3 a un fotoperiodo constante de solsticio de verano (13 horas luz, fotoperiodo constante largo) el cese de la actividad ovárica se origino en 55.33 ± 14.38 días, después de 6 meses de exposición de un fotoperiodo constante corto, este resultado fue reportado por Porras (1999), que observo que en ovejas mantenidas durante 6 meses a un fotoperiodo corto de 8 horas luz, la respuesta al fotoperiodo largo (16 horas luz) se produjo en 31.5 ± 2.5 días. Esto indica que existe un estado de refractariedad hacia un fotoperiodo artificial corto, ya sea de 8 horas o de 11 horas luz, que provoca que la respuesta al fotoperiodo largo sea más rápido después haber sido expuesta a un fotoperiodo artificial corto durante varios meses. Lo que confirma que la oveja presenta un estado de refractariedad a días cortos que regula el cese de la actividad ovárica.

Con referencia al grupo 4, el tiempo que tardaron en responder a los tratamientos fotoperiodicos fue muy rápida. En el tratamiento de fotoperiodo constante largo tardaron 20.66 ± 5.69 días en responder a los efectos inhibitorios, sin embargo esta respuesta no era la esperada, ya que antes de iniciar el tratamiento, 6 de 7 ovejas se encontraban ciclando, y se esperaba que continuaran ciclando. Sin embargo, al exponerlas a dicho tratamiento, tres ovejas respondieron a los efectos inhibitorios de los días largos, de las cuales dos ovejas presentaron periodos de ciclicidad intermitente y la otra presento un anestro de 225 días. Al someterlas al segundo tratamiento fotoperiodico constante corto, 3 de 7 ovejas tardaron 11.66 ± 1.86 días en presentar un periodo de anestro después de solsticio de verano, lo que indicaría que se hicieron refractarias a un fotoperiodo largo, sin embargo dos ovejas habían presentado periodo de inactividad intermitente, por consecuencia, el periodo de anestro que se observó no se pude atribuir directamente a que se debió a un fenómeno de fotorrefractariedad a los días largos.

La presencia de ciclos intermitentes ha sido reportada en ovejas Dorset (Nugé *et.al.*, 1987) y en ovejas Rambouillet x Dorset (Minton, 1990), los cuales atribuyen este comportamiento al genotipo de las ovejas con relación a la estacionalidad reproductiva. Sin embargo, este comportamiento no se había descrito en estudios anteriores del efecto del fotoperiodo sobre la actividad ovárica en la oveja Pelibuey.

Por otra parte, la inactividad ovárica en las hembras mantenidas en fotoperiodo natural, en el presente estudio, tuvo una duración de 119.5 ± 28.67 días, esto equivale a un periodo de anestro de 3 meses. Sin embargo, este periodo de anestro corto ocasiona que las ovejas puedan reiniciar su actividad ovárica aun antes del inicio del solsticio de verano. Dicha característica ha sido observada por Porras (1999) y Cerna (1999), esta tendencia de las ovejas para comenzar a ciclar cuando los días son más largos, es uno de los argumentos que se ha utilizado para señalar que su estacionalidad no es controlada por el fotoperiodo. En el presente trabajo fue evidente que la aplicación de un fotoperiodo constante largo (13 horas luz) provoca inicialmente una inhibición de la actividad ovárica, sin embargo, el periodo de anestro fue muy corto (aunque algunas ovejas no respondieron), reiniciando su actividad ovárica rápidamente, lo que significaría que existió un estado de "insensibilidad" a los días largos, sin embargo esto no comprueba que realmente suceda en condiciones naturales

En los cuatro grupos, la duración de la inactividad ovárica varió marcadamente entre ovejas (rango de 22 a 225 días), así como la presencia de ovejas que ciclaron todo el año (7 ovejas), lo cual ha sido reportado por Martínez (1998), Porras (1999) y Cerna (1999). No obstante, al tener conocimiento de la actividad ovárica del año 1998, se observó que no todas las ovejas habían tenido actividad ovárica continua durante los dos años, tal es el caso de 4 ovejas (n° 6, 8, 39, 41). Sin embargo, existieron 4 ovejas que tuvieron actividad continua (n° 29, 30, 33, 36). La variabilidad de la respuesta de la actividad ovárica entre años, fue reportada por Porras (1999) que detectó dos ovejas que tuvieron actividad ovárica continua, aunque solamente durante en uno de los dos años del experimento. Además, Cerna (2000) detectó dos ovejas que ciclaron continuamente durante los dos años de estudio. Esta gran variabilidad inter e intra individuo en la oveja Pelibuey puede ser otra de las razones por la que se estableció que la oveja Pelibuey carezca de estacionalidad (Castillo et.al., 1972; Berruecos et.al. 1975) y además es una característica que dificultó el presente trabajo.

Los resultados del segundo experimento, no demostraron un efecto del fotoperiodo sobre la secreción de la hormona luteinizante, debido a que no se utilizó una fuente constante de estradiol, necesaria para observar dicho efecto (Legan et.al., 1977). Por lo tanto, la secreción de LH no varió durante el año.

Conclusión.

En el presente trabajo, comprueban que en condiciones de fotoperiodo natural y artificial inverso la oveja Pelibuey es capaz de responder a cambios graduales en el fotoperiodo de una latitud de 19°13' N.

El cese de la actividad ovárica en la oveja Pelibuey en condiciones naturales se originó por un fenómeno de fotorrefractoriedad a los días cortos, similar al reportado en ovejas de clima templado. Sin embargo, el fenómeno de fotorrefractoriedad a días largos no se determinó.

En ovejas Pelibuey ovariectomizadas y sin implante de estradiol, sus concentraciones plasmáticas de LH no variaron en el tiempo.

En las ovejas Pelibuey existe una variabilidad inter y intra individuo que dificulta los estudios de los efectos de fotoperiodo.

7. Literatura citada.

Malpoux B, Delgadillo JA, Chemineau P: Neuroendocrinología del Fotoperiodo en el control de la actividad reproductiva. Seminario Internacional. Tópicos avanzados en Reproducción Animal. Memorias del XVIII Aniversario de la Especialidad de Ganadería. Montecillo, Estado de México 1997: 23-41.

Yeates NTM. The breeding season of the sheep with particular reference to its modification by artificial light. *Journal Agriculture Sciences Cambridge* 1949; 39: 1-43.

Thimonier J, Mauleón P. Variations saisonnières du comportement d'œstrus et des activités ovarienne et hypophysaire chez les ovins. *Annales de biologie animal biochimie le biophysique* 1969; 9:223-250.

Hafez ESE. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. *Journal Agriculture Science Cambridge* 1952; 42: 189-265.

Karsh FJ and Foster DL. Environmental control of season breeding: A common final mechanism governing seasonal breeding and sexual maturation. Desmond Gilmore and Brian Cook: 30 -53. The Scientific and Medical Division. 1981.

Ducker MJ, Thwaites CJ and Bowman JC. Photoperiodism in the ewe. 2. The effects of various patterns of decreasing daylength on the onset of oestrus in Clun-Forest ewes. *Animal Production* 1970; 12: 115-123.

Ducker MJ and Bowman JC. Photoperiodism in the ewe. A note on the effect on onset of oestrus in Clun Forest ewes of applying the same decrease in daylength at two different times of the year. *Animal Production* 1970; 12: 513 -516.

Legan SJ and Karsh FJ. Photoperiodic control of seasonal breeding in ewes: Modulation of negative feedback action of oestradiol. *Biology of Reproduction* 1980; 23: 1061-1068.

Robison JE and Karsh FJ. Refractoriness to inductive daylengths terminates the breeding season of the Suffolk ewe. *Biology of Reproduction* 1984 31: 656-663.

Worthy K and Harensign W. Evidence that the onset of seasonal anoestrus in the ewe may be independent of increasing prolactin concentrations and daylength. *Journal of Reproduction and Fertility* 1983; 69: 41-48.

Malpoux B, Robison JE, Brown MB and Karsch FJ. Importance of changing photoperiod and melatonin secretory pattern in determining the length of the breeding season in the Suffolk ewe. *Journal of Reproduction and Fertility* 1988; 83: 461-470.

Lindsay DR. Reproduction in the Sheep and Goat. In: *Reproduction in Domestic Animals*. Edited by: Cupps, P.T. 491-515. Academic Press, Inc. San Diego, California, 1991.

Phillips CJC. Photoperiod. In: *Farm Animals and the Environment*. Edited by: Phillips, C. and Piggins, D. 49-65. CAB Internacional, UK. 1992.

Castillo, RH, Valencia, ZM y Berruecos, JM. Comportamiento reproductivo del borrego "Tabasco" mantenido en clima tropical y subtropical. 1. Índices de fertilidad. Técnica. Pecuaria en México 1972; 20: 52-56.

Valencia ZM, Castillo RH y Berruecos, VJM. Reproducción y manejo del borrego Tabasco o Pelibuey. Técnica. Pecuaria. México 1975; 29: 66-72.

González RA, Valencia MJ, Foote WC y Murphy BD. Hair sheep in Mexico: Reproduction in the Pelibuey sheep. Animal Breeding Abstracts 1991; 59: 509-524.

Cruz LC, Fernández-Baca S, Alvarez LJA y Pérez RH. Variaciones estacionales en presentación de ovulación, fertilización y sobrevivencia embrionaria de ovejas Tabasco en el trópico húmedo. Veterinaria México 1994; 251: 23-27.

Porras AA. Efectos del fotoperiodo artificial sobre la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey. Tesis de Doctorado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1999.

Cerna C, Porras A, Valencia JM, Perera G, Zarco L. effect of an inverse subtropical (19° 13'N) photoperiod on ovarian activity, melatonin and prolactin secretion in Pelibuey ewes. Animal Production Sci. 2000 .In press.

Robinson, JE, Wayne, NL and Karsch, FJ. Refractoriness to inhibitory daylength initiates the breeding season of the Suffolk ewes. Biology Reproduction 1985; 32: 1024-1030

Pévet P. Environmental Control of Annual Reproductive Cycles in Mammals. Comparative Physiology of Environmental Adaptation 1986; 3, 82-100.

Baker JR, Ranson RM. Factors affecting the breeding of the field mouse (*Microtus agrestis*) . Ligth Proceedings Research . Society. Brit. 1932; 110: 313.

Bissonnette TH. Modification of mammalian sexual cycles. Reactions of ferret of both sexes to electric light added after dark in November and December. Proc. Research Soc. B. 1932; 110: 322.

Arendt J. Role of the pineal gland and Melatonin in seasonal reproductive function in mammals. Oxfords Reviews of Reproductive Biology 1986; 8: 266-320.

Dacheux JL, Pisselet C, Blanc MR, Hochereau-de- Reviers MT, Courot M. Seasonal variations in rete testis fluid secretion and sperm production in deferent breeds of ram. Journal of Reproduction and Fertility 1981; 61: 363-371.

Karsh FJ, Bittman EL, Foster DL, Goodman RL, Legan SJ and Robison JE. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. Recent Progress Hormone Research 1984; 40:185 -232.

Pelletier J. Ortavant R. Photoperiodic control of LH release in the ram: I light-androgens interaction. Acta Endocr. Copenh. 1975; 78, 442-450.

Montgomery GW, Martin GB, Pelletier J. Changes in pulsatile LH secretion after ovariectomy in Ile-de-France ewes in two seasons. Journal of Reproduction Fertility 1985; 73, 173-183.

Robinson JE, Radford HM, Karsch FJ. Seasonal changes in pulsatile luteinizing hormone (LH) secretion in the ewe, relationship of frequency of LH pulses to day length and response to estradiol negative feedback. *Biology of Reproduction* 1985; 33, 324-334.

Chemineau P, Martin GB, Saumande J, Normant E. Seasonal and hormonal control of pulsatile LH secretion in the dairy goat (*Capra hircus*). *Journal of Reproduction Fertility* 1988; 83, 91-98.

Goodman RL, Bittman EL, Foster DL, Karsch FJ. Alterations in the control of luteinizing hormone pulse frequency underlie the seasonal variation in oestradiol negative feedback in the ewe. *Biology of Reproduction* 1982; 27: 580- 589.

Martin GB, Scaramuzzi RJ, Hestridge JD. Effects of oestradiol, progesterone and androstenedione of the pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized ewes during spring and autumn. *Journal Endocrinology* 1986; 96: 181-183.

Marshall FHA. On the change over in the estrous cycle in animals after transference across the equator, with future observations on the incidence of the breeding seasons and the factor controlling sexual periodicity. *Proc. Roy. Soc. Lond. B.* 1937; 122: 413 - 428.

Malpoux B. Cycle annuel de reproduction chez la brebis: Signaux Photopériodiques et rythme endogène. Thèse Doct. De l' Université Paris 6. 1988.

Thwaites CJ. Photoperiodic control of breeding activity in the Southdown ewe with particular reference to the effects of an equatorial light regime. *J. Agric. Sci. Camb.* 1965; 65, 57-64.

Alberio R. Rôle de la photopériode dans le développement de la fonction de reproduction chez l'agneau de la naissance à 21 mois. Thèse Doct. De l' Université Paris 6. 1976.

Ortavant R, Thibault C. Influence de la durée d'éclaircissement sur les productions spermatiques du bélier. *Séanc. Soc. biol.* 1956; 150: 358-362.

Mauléon P et Rougeot J. Régulation des saisons sexuelles chez des brebis de races différentes au moyen de divers rythmes lumineux. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 1962; 2, 209-222.

Lindsay DR, Pelletier J, Pisselet C, Courot M. Changes in photoperiod and nutrition and their effect on testicular growth of rams. *Journal of Reproduction Fertility* 1984; 71: 351 -356.

Ortavant R, Pelletier J, Ravault JP, Thimonier J, Volland-Nail P. Photoperiod: main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm animals. *Oxford Rev. Reproduction and Biology* 1985; 7, 305-345.

Dutt RH, Bush LF. The effect of low environmental temperature on initiation of the breeding season and fertility in sheep. *J. Anim. Sci.* 1955; 14: 885-889.

Dutt RH. Temperature and light as factors in reproduction among farm animals. *J. Dairy Sci.* 1960; 43: Suppl: 123-144.

Wodzicka-Tomaszewska M, Hutchinson JCD, Bennett JW. Control of the annual rhythm of breeding in ewes: effect of an equatorial daylength with reversed thermal seasons. *J. Agric. Sci. Camb.* 1967; 68: 61-67.

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

English J, Poulton AL, Arendt J, Simons AM. A comparison of the efficiency of melatonin treatments in advancing oestrus in ewes. *Journal of Reproduction Fertility* 1986; 77, 321-27.

Lincoln G A. Photoperiodic control of seasonal breeding in the ram: participation of the cranial sympathetic nervous system . *J. Endocrinology* 1979; 82,135-147.

Thimonier J, Brieu V, Ortavant R, Pelletier J. Daylength measurement in sheep. *Biology Reproduction*1985; 32 : Suppl 1 abst 36.

Follet BK and Robinson JE. Photoperiod and gonadotrophin secretion in birds. In seasonal reproduction in higher vertebrates. *Prog. Reprod. Biol.*1980; 5: 39-61.

Hammer WM. The photorefractory period of the house finch. *Ecology* 1968; 49: 211-227.

Reiter RJ. Evidence for refractoriness of the pituitary-gonadal axis to the pineal gland in Golden hamster and its possible implications in annual reproductive rhythms. *Anat. Rec.* 1972; 173: 365- 372.

Turek FW, Elliot JA, Alvis JD, Menaker M. Effect of prolonged exposure to non-stimulatory photoperiod on the activity of the neuroendocrine - testicular axis of golden hamster. *Biology Reproduction* 1975; 13: 475 -481.

Zucker I, Johnston PG, Frost D. In Reiter RJ, Follet BK. *Progress in Reproductive Biology. 5. Seasonal Reproduction in Higher Vertebrates.* Basal. Switzerland Karger: 102-133. 1980

Robinson JE and Follet BK. Photoperiodism in Japanese quail: The termination of seasonal breeding by photorefractoriness. *Proc. R. Soc. Lond. B. Sci.* 1981; 215: 95-116.

Almeida OFX and Lincoln GA. Reproductive refractoriness in rams and accompanying changes in the patterns of melatonin and prolactin secretion. *Biology Reproduction* 1984; 30: 143 -158.

Lincoln GA. Photoperiod control of seasonal breeding in rams. The significance of short- day refractoriness. In *Proceedings of the VI International Congress of Endocrinology.* 1980; 52-57.

Thimonier J et Gauthier D. Seasonality of reproduction in cattle and sheep and its consequences of reproduction management. In: *The reproductive potential of cattle and sheep.* INRA: 1984, 139-158.

Worthy K, Harensing W, Donson S, McLeod BJ, Foxcroft GR, Haynes NB. Evidence that the onset of the breeding seasons in the ewe may be independent of decreasing plasma prolactin concentration. *Journal of Reproduction Fertility* 1985; 75: 237-246.

D'Occhio MJ, Schanbacher BD, Kinder JE. Profiles of luteinizing hormone, follicle - stimulating hormone, testosterone and prolactin in rams of diverse breeds: effects of contrasting short and long photoperiods. *Biology Reproduction*1984; 30: 1039.

Thimonier J. Contrôle photopériodique de l'activité ovulatoire chez la brebis. Existence de rythmes endogènes. Thèses 1989.

Malpaux B, Robinson JE, Wayne NL, Karsch FJ. Regulation of the onset of the breeding season of the ewe. Importance of long days of and endogenous reproductive rhythm. *J. Endocrinology* 1989; 122: 269.

Malpaux B, Wayne NL, Karsch FJ. Termination of the breeding season in the Suffolk ewe: involvement of and endogenous rhythm of reproduction. *Biology Reproduction* 1988; 39: 254.

Gwinner E. In: *Circannual rhythms*. Berlin 1986

Pengelley ET and Asmundson SJ. Circannual rhythmicity in hibernating mammals. In: Pegelley ET. *Circannual clocks: Annual Biological rhythms*. New York: Academic Press. INC.1974; 95-160.

Dark J and Zucker I. Circannual rhythms in ground squirrels. Role of the hypothalamic paraventricular nucleus. *J. Biol. Rhythms* 1985; 61: 363-371.

Enright JT. Ecological aspect of endogenous rhythmicity. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 1970; 1: 221 - 238.

Mrosovsky N. Circannual cycles in hibernators. In: Wang LCH, Hudson JW. *Strategies in cold: Natural torpidity and thermogenesis*. New York: Academic Press, 1978; 21-65.

Legan SJ and Karsch FJ. Importance of retinal photoreceptors to the photoperiodic control of seasonal breeding in the ewe. *Biology Reproduction* 1983; 29: 316-325.

Lincoln GA, Libre EA, Merriam GR. Long-term reproductive cycles in rams after pinealectomy of superior cervical ganglionectomy. *Journal Reproduction Fertility* 1989; 85: 678-704.

Barrell GBK and Lapwood KR. Effect of pinealectomy on the secretion of luteinizing hormone, testosterone and prolactin in rams exposed to various lighting regimes. *J. Endocrinology* 1979; 80: 397-405.

Bittman EL, Dempsey RJ, Karsch FJ. Pineal melatonin secretion drives the reproductive response to daylength in the ewe. *Endocrinology* 1983; 113: 2276-2283.

Ducker MJ, Bowman JC, Temple A. The effect of constant photoperiod on the expression of oestrus in the ewe. *Journal of Reproduction Fertility Suppl.* 1973; 19: 143-150.

Howles CM, Craigon J, Haynes NB. Long term rhythms of testicular volume and plasma prolactin concentrations in rams reared for 3 years in constant photoperiod. *Journal of Reproduction Fertility* 1982; 65: 439-446.

Karsch FJ, Robinson JE, Woodfill CJI, Brown MB. Circannual cycles of luteinizing hormone and prolactin secretion in ewes during a prolonged exposure to a fixed photoperiod: evidence for an endogenous reproductive rhythm. *Biology Reproduction* 1989; 41: 1034-1046.

Elliot JA. Circadian rhythms and photoperiodic time measurement in mammals. *Fed. Proc.* 1976; 35: 321-327.

Robinson JE and Karsch FJ. Photoperiodic history and a changing melatonin pattern can determine the neuroendocrine response of the ewe to daylength. *Journal of Reproduction Fertility* 1987; 80: 159- 165.

Hoffman K, Illenerova H, Vanecek J. Change in duration of the nighttime melatonin peak may be a signal driving photoperiodic responses in the Djungarian hamster. *Neurosci. Lett.* 1986; 67: 68 - 72.

Hasting MH, Herbert J, Hutchinson J, Powers JB, Steel EA, and Walker AP. Photoperiod history controls the neuroendocrine interpretation of the pineal melatonin signal in the male Syrian hamster. Abstract 242.7. Annual meeting of the Society for Neuroscience. New Orleans. 1987

Boyd IL. Photoperiod regulation of seasonal testicular regression in the wild European rabbit. *Journal of Reproduction Fertility* 1986; 77: 463 -470.

Assemacher I et Trixie- Vidal A. La réactivité a divers agents de l'axe hypophyse-testicule de canard traité a l'extrême début de la période réfractaire du cycle sexuel. *Séan. Soc. Biol. Paris* 1962; 156: 267 -272.

Lindsay DR, Pelletier J, Pisselet C, Courot M. Changes in photoperiod and nutrition and their effects on testicular growth of ram. *Journal of Reproduction Fertility* 1984;71: 351- 356.

Herbert J, Stacey PM, Thorpe DH. Recurrent breeding seasons in pinealectomized or optic-nerve-sectioned ferrets. *J. Endocrinology* 1978; 78, 389-397.

Legan SJ, Winans SS. The photoneuroendocrine control of seasonal breeding in the ewe. *Gen. Comp. Endoc.* 1981; 45, 317-328.

Lincoln G. A. Photoperiodic control of seasonal breeding in the ram: participation of the cranial sympathetic nervous system . *J. Endocrinology* 1979; 82,135-147.

Swanson LH, Kuypers HGJM. The paraventricular nucleus of the hypothalamus: cytoarchitectonic subdivisions and organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex, and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double-labeling methods. *J. Comp. Neurol.* 1980; 194, 550-570.

Klein DC, Smoot R, Weller JL, Higa S, Markley SP, Creed GJ, Jacobowitz DM. Lesions of the paraventricular nucleus area of the hypothalamus disrupt the suprachiasmatic to spinal cord circuit in the melatonin rhythm generating system. *Brain Res.* 1983; 10, 647-652.

Domanski E, Przekop F, Polkowska J. Hypothalamic centers involved in the control of gonadotropins secretions. *Journal of Reproduction Fertility* 1980; 58, 493-499.

Malpoux B, Vigué C, Thiéry P, Chemineau P. Contrôle photopériodique de la reproduction. *INRA Productions animal* 1996; 9: 9-23.

Tessonnaud A, Locatelli A, Caldani M, Vigué Martinez M.C. Bilateral lesions of the suprachiasmatic nuclei alter the nocturnal melatonin secretion in sheep. *J. Neuroendocrinol* 1995; 7: 145-152.

Bittman EL, Karsch FJ, Hopkins JW. Role of the pineal gland in ovine photoperiodism: regulation of seasonal breeding and the negative feedback effects of estradiol upon luteinizing hormone secretion. *Endocrinology* 113, 329-36. 1983b

Rollag MD, Niswender DG. Radioimmunoassay of serum concentrations of melatonin in sheep exposed to different lighting regimens. *Endocrinology* 1976; 98, 482-489.

Malpaux B, Robinson JE, Brown MB, Karsch FJ. Reproductive refractoriness of the ewe to inductive photoperiod is not caused by inappropriate secretion of melatonin. *Biology Reproduction* 36 1987; 1333-1341.

Ebling FJP, Lincoln GA, Wollnik F, Anderson N. Effects of constant darkness and constant light on circadian organization and reproductive responses in the ram, *J. Biol. Rhythms* 1988; 3, 365-384.

Kanematsu N, Mori Y, Hayashi S, Hoshino K. Presence of a distinct 24-hour melatonin rhythm in the ventricular cerebrospinal fluid of the goat. *J. Pineal Res.* 1989; 7, 143-152.

Shaw PF, Kennaway DJ, Seamark RF. Evidence of high concentrations of melatonin in lateral ventricular cerebrospinal fluid of sheep, *J. Pineal Res.* 1989; 6, 201-208.

Chemineau P, Normant E, Ravault JP, Thimonier J. Induction and persistence of pituitary and ovarian activity in the out-of-season lactating dairy goat after a treatment combining a skeleton photoperiod, melatonin and the male effect. *Journal of Reproduction Fertility* 1986; 78, 497-504.

Chemineau P, Malpaux B, Delgadillo JA, Guérin Y, Ravault JP, Thimonier J, Pelletier J. Control of sheep and goat reproduction: Use of light and melatonin. *Anim. Reprod. Sci.* 1992; 30, 157-184.

Bittman EL, Karsch FJ. Nightly duration of pineal melatonin secretion determines the reproductive response to inhibitory day lengths in the ewe. *Biology Reproduction* 1984; 30, 585-593.

Goldman BD, Nelson RJ. Melatonin and seasonality in mammals. In: Yu H.S., Reiter R.J. (Eds), *Melatonin: Biosynthesis, Physiological Effects, and Clinical Applications*, 225-252. CRC Press, Boca Raton, Florida. 1993

Tamarkin L, Westrom WK, Hamill AI, Goldman BD. Effect of melatonin on the reproductive systems of male and female Syrian hamsters: diurnal rhythm in sensitivity to melatonin. *Endocrinology* 1976; 99, 1534-1541.

Stetson MH, Watson-Whytmire M. Effects of exogenous and endogenous melatonin on gonadal function in hamsters. *Biology Reproduction*, 1986; 34, 664-669.

Carter DS, Goldman BD. Antigonadal effects of timed melatonin infusion in pinealectomized male Djungurian hamsters (*Phodopus sungorus sungorus*): duration is the critical parameter. *Endocrinology* 1983; 113, 1261-1267.

Wayne NL., Malpaux B, Karsch FJ. How does melatonin code for day length in the ewe: Duration of nocturnal melatonin release or coincidence of melatonin with a light-entrained sensitive period? *Biology Reproduction* 1988; 39, 66-75.

Dowell SF, Lynch GR. Duration of the melatonin pulse in the hypothalamus controls testicular function in pinealectomized mice (*Peromyscus leucopus*). *Biology Reproduction* 1987; 36, 1095-1101.

Bonnefond C, Walker AP, Stutz JA., Maywood E, Juss TS, Herbert J, Hastings MH. The hypothalamus and photoperiodic control of FSH secretion in the male Syrian hamster. *J. Endocrinology* 1989; 122, 247-254.

Pitrosky B. Mélatonine et photopériodisme : importance des différents paramètres du profil de sécrétion de la mélatonine chez le hamster syrien. Thèse Université Strasbourg, 148 pp. 1994

Vigulé C, Caraty A, Locatelli A, Malpaux B. Regulation of LHRH secretion by melatonin in the ewe. I Simultaneous delayed increase in LHRH and LH pulsatile secretion. *Biology Reproduction* 1995a; 52, 1114-1120.

Bittman EL. The sites and consequences of melatonin binding in mammals. *Amer. Zool.* 1993; 33, 200-211.

Boissin - Agasse L, Barberis C, Audigier S, Roch G, Boissin J. Localization of melatonin binding sites in the pars tuberalis of the mink at three times during the seasonal testicular cycle. *Neurosci. Lett.* 1992; 144, 147-151.

Malpaux B, Daveau A, Maurice F, Locatelli A, Thiéry JC. Evidence that melatonin-binding sites in the pars tuberalis do not mediate the photoperiodic actions of melatonin on LH and prolactin secretion in ewes. *Journal of Reproduction Fertility* 1994; 101, 625-632.

Malpaux B, Skinner DC, Maurice F. The ovine pars tuberalis does not appear to be targeted by melatonin to modulate luteinizing hormone secretion, but may be important for prolactin release. *J. Neuroendocrinology* 1995; 7, 199-206.

Lincoln GA, Maeda KI. Reproductive effects of placing micro implants of melatonin in the mediobasal hypothalamus and preoptic area in rams. *J. Endocrinology* 1992; 132, 201-215.

Malpaux B, Daveau A, Maurice F, Gayrard V, Thiéry JC. Short-day effects of melatonin on luteinizing-hormone secretion in the ewe: Evidence for central sites of action in the mediobasal hypothalamus. *Biology Reproduction* 1993; 48, 752-760.

Bittman EL, Weaver D. The distribution of melatonin binding sites in neuroendocrine tissues of the ewe. *Biology Reproduction* 1990; 43, 986-993.

Chabot V, Caldani M, de Reviers MM, Pelletier J. Localization and quantification of melatonin receptors in the diencephalon and posterior telencephalon of the sheep brain. XXIIIème Colloque de la Société de Neuroendocrinologie Expérimentale, Sophia Antipolis, 1-3 Septembre 1994.

Maywood ES, Hastings MH. Lesions of iodomelatonin-binding sites of the mediobasal hypothalamus spare the lactotropic, but block the gonadotropic response of male Syrian hamsters to short photoperiod and to melatonin. *Endocrinology* 1995; 136, 144-153.

Reppert SM, Weaver DR, Ebisawa T. Cloning and characterization of a mammalian melatonin receptor that mediates reproductive and circadian responses. *Neuron* 1994; 13, 1177-1185.

Becker-André M, Wiesenberg I, Schaeren-Wiemers N, André E, Missbach M, Saurat JH, Carlberg C. Pineal gland hormone melatonin binds and activates an orphan of the nuclear receptor super family. *J. Biol. Chem.*, 269, 28531-28534. 1994

Reppert SM, Godson C, Mahle CD, Weaver DR, Slangenaupt SA, Gusella JF. Molecular characterization of a second melatonin receptor expressed in human retina and brain: the Mel_{1b} melatonin receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995; 92: 8734 - 8738.

Pelletier J, Bodin L, Hanocq E, Malpaux B, Teyssier J, Thimonier J, Chemineau P. Association between expression of reproductive seasonality and alleles of the gene for Mel_{1a} receptor in the ewe. *Biology Reproduction* 2000; 62: 1096-1101.

Caldani M, Batailler M, Thiéry JC, Dubois MP. LH-RH immunoreactive structures in the sheep brain. *Histochem.* 1988; 89: 129-139.

Thiéry JC, Gayrard V, Le Corre S, Viguié C, Martin GB, Chemineau P, Malpaux B. Dopaminergic control of LH secretion by the A15 nucleus in anoestrous ewes. *Journal of Reproduction Fertility Suppl.* 1995; 49: 285-296.

Meyer SL, Goodman RL. Neurotransmitters involved in mediating the steroid-dependent suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion in anoestrous ewes: effects of receptor antagonists. *Endocrinology* 1985; 116: 2054-2061.

Le Corre S, Chemineau P. Control of photoperiodic inhibition of luteinizing hormone secretion by dopaminergic and serotonergic systems in ovariectomized Ile-de-France ewes supplemented with oestradiol. *Journal of Reproduction Fertility* 1993; 97: 367-373.

Curlewis JD, Naylor AM, McNeilly AS. Dopamine D-1 and D-2 receptor regulation of LH and prolactin secretion in the ewe. *Neuroendocrinology* 1990; 52, suppl. 1: 92.

Thiéry JC, Martin GB, Tillet Y, Caldani M, Quentin M, Jamain C, Ravault JP. Role of hypothalamic catecholamines in the regulation of luteinizing hormone and prolactin secretion in the ewe during seasonal anoestrus. *Neuroendocrinology* 1989; 49; 80-87. 1989

Gayrard V, Malpaux B, Thiéry JC. Oestradiol increases the extra cellular levels of amine metabolites in the ewe hypothalamus during anoestrus: a micro dialysis study. *J. Endocrinology* 1992; 135: 421-430.

Gayrard V, Malpaux B, Tillet Y, Thiéry JC. Estradiol increases tyrosine hydroxylase activity of the A15 nucleus dopaminergic neurons during long days in the ewe. *Biology Reproduction* 1994; 50: 1168-1177. 1994

Thiéry JC. 1991. Monoamine content of the stalk-median eminence and hypothalamus in adult female sheep as affected by daylength. *J. Neuroendocrinology* 1991; 3: 407-411. 1991

Viguié C, Thibault J, Thiéry JC, Tillet Y, Malpaux B. Reduction of tyrosine hydroxylase activity in the stalk-median eminence of the ewe by short days in relation to changes in luteinizing hormone and prolactin secretion. *Biology Reproduction* 1994; 50, Suppl. 1.

Viguié C. Régulation de la sécrétion pulsatile de LHRH par la photopériode et la mélatonine chez la brebis : mise en évidence et caractérisation d'une étape dopaminergique. Thèse Université Montpellier II, 152 pp. 1995

Meyer SL, Goodman RL. Separate neural systems mediate the steroid-dependent and steroid-independent suppression of tonic luteinizing hormone secretion in the anoestrus ewe. *Biology Reproduction* 1986; 35: 562-571.

Chemineau P, Daveau A, Maurice F. L'utilisation de PCPA, un inhibiteur de la synthèse de sérotonine, retarde l'apparition de l'état réfractaire aux jours courts chez la brebis Ile-de-France. 4ème Colloque Biotechnocentre, Seillac (France), 30-31 Octobre, abst 42. 1991.

Lincoln GA, Wu FCW. Luteinizing hormone responses to N-methyl-D,L-Aspartate during a photoperiodically induced reproductive cycle in the ram. *J. Neuroendocrinology* 1991;3: 309-317.

Hui Y, Hastings MH, Maywood ES, Ebling FJP. Photoperiodic regulation of glutamatergic stimulation of secretion of luteinizing hormone in male Syrian hamster. *Journal of Reproduction Fertility* 1992; 95: 935-946.

Urbanski HF. Photoperiodic modulation of luteinizing hormone secretion in orchidectomized Syrian hamsters and the influence of excitatory amino acids. *Endocrinology* 1992;131: 1665-1669.

Viguié C, Caraty A, Locatelli A, Malpaux B. Regulation of LHRH secretion by melatonin in the ewe. II Changes in N-Methyl-D,L-aspartic acid-induced LHRH release during the stimulation of LH secretion by melatonin. *Biology Reproduction* 1995b; 52: 1156-1161.

Urbanski HK, Pierce M. Photoperiodic control of seasonal breeding in Syrian hamsters: involvement of excitatory amino acid receptors. *Neuroendocrinol. Lett.* 1992; 14, 33-37.

Nicholls TJ, Follett BK, Goldsmith AR, Pearson H. Possible homologies between photorefractoriness in sheep and birds: the effect of thyroidectomy on the length of the ewe's breeding season. *Reprod. Nutr. Develop.* 1988; 28: 375-385.

Moenter SM, Woodfill CJI, Karsch FJ. Role of the thyroid gland in seasonal reproduction: thyroidectomy blocks seasonal suppression of reproductive neuroendocrine activity in ewes. *Endocrinology* 1991; 128: 1337-1344.

Parkinson TJ, Follett BK. Effect of thyroidectomy upon seasonality in rams. *Journal of Reproduction Fertility* 1994; 101: 51-58.

Webster JR, Moenter SM, Woodfill CJI, Karsch FJ. Role of the thyroid gland in seasonal reproduction. II. Thyroxine allows a season-specific suppression of gonadotropin secretion in sheep. *Endocrinology* 1991; 129: 176-183.

- Bittman EL. Hamster refractoriness: The role of insensitivity of pineal target tissues. *Sciences* 1978; 202: 648- 650.
- Reiter RJ, Peterborg LJ, Philo RC. Refractoriness to the antigonadotropic effects of melatonin in male hamster and its interruption by exposure of the animals to long daily photoperiods. *Life Science* 1979;25: 1571- 1576.
- Rollang MD, Panke ES, Reiter RJ. Pineal melatonin content in male hamsters throughout the seasonal reproductive cycle. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1980; 165: 330-334.
- Arendt J, Simons AM, Lauc C. Pineal function and photoperiod in the ewe. In "Photoperiodism and reproduction". Eds Ortavant R, Pelletier J, Ravault JP. INRA, Nouzilly 219-229. 1981,
- Kennaway DJ, Sanford LM, Godfrey B, Friensen HG. Patterns of progesterone, melatonin and prolactin in ewes maintained in five different photoperiods. *J. Endocrinology* 1983; 97: 229-242.
- Karsch FJ, Bittman EL, Robinson JE, Yellon SM, Wayne NL, Olster DH, Kanard AH. Melatonin and photorefractoriness: loss of response to the melatonin signal leads to seasonal reproductive transitions in the ewe. *Biology Reproduction* 1986; 34: 265-274.
- Wayne NL, Robinson JE, Malpoux B, Kaynard AH, Karsch FJ. Is exposure to a short day pattern of melatonin every night necessary to elicit reproductive induction and photorefractoriness in the ewe? *Biology Reproduction Suppl. 1.* 1986; 34, 239.
- Lincoln GA, Clarke JI. Refractoriness to a static melatonin signal develops in the pituitary gland for the control of prolactin secretion in the ram. *Biology Reproduction* 1997; 57: 460-467.
- Malpoux B, Daveau A, Maurice- Mandon F, Duarte G, Chemineau P. Evidence that melatonin acts in the premammillary hypothalamic area to control reproduction in the ewe. : Presence of bindings sites and stimulation of luteinizing hormone secretion by *in situ* micro implants delivery. *Endocrinology* 1998; 139: 1508- 1516.
- Malpoux B, Karsch FJ. A role for shot days in sustaining seasonal reproductive activity in the ewe. *Journal of Reproduction Fertility* 1990; 90: 555 -562.
- Wayne NL, Malpoux B, Karsch FJ. Photoperiodic requirements for timing the onset and duration of the breeding season of the ewe: Synchronization of an endogenous rhythm of reproduction. *J. Comp. Physiol. A.* 1990; 166, 835-842.
- Woodfill CJI, Robinson JE, Malpoux B, Karsch FJ. Synchronization of the circannual reproductive rhythm of the ewe by discrete photoperiodic signals. *Biology Reproduction* 1991; 45, 110-121.
- Chemineau P, Malpoux B, Thiéry JC, Viguié C, Morello H, Zarazaga L, Pelletier J. The control of seasonality: A challenge to small ruminant breeding. In: Enne G. Greppi GP, Lauria A. Editors. *Reproduction an animal Breeding, Advances and Strategy* Paris; Elsevier, 1995: 225-250

Ruiz JG. Estudio del ovino tropical Pelibuey del sureste de México sus cruizas con ovino Merino. Tesis de Licenciatura. México D.F. Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 1966,

Valencia ZM, Castillo RH, Berruecos VJ. Reproducción y manejo del borrego Tabasco o Pelibuey. Técnica Pecuaria México 1975; 29: 66-72.

Valencia ZM, Heredia AM, González PE. Estacionalidad reproductiva en hembras Pelibuey. Memorias de la VIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. 1981 octubre 4-10; Santo Domingo Republica Dominicana. Republica Dominicana. Asociación Latinoamericana de Producción Animal.

Heredia AM, Menéndez TM, Velásquez MA. Factores que influyen en la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey. Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria 1991. Ciudad Victoria México. México D.F. INIFAP SARH 1991.a

Gonzalez A, Murphy BD, Foote WC and Ortega E. Circannual estrous variations and ovulation rate in Pelibuey ewes. Small Ruminant Research 8: 225-232 1992.

González RA, Valencia MJ, Foote WC and Murphy BD. Hair sheep in Mexico: Reproduction in the Pelibuey sheep. Animal Breeding Abstracts, 59: 509-524 1991.

Heredia A, Velásquez MA, Quintal FJ, Mex, RJ y Aragón GA. Efecto de dos fuentes de alimentación sobre la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey. Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria 1991, p.95, Ciudad Victoria, Tamaulipas, 1991.b

Cerna CHC: Estacionalidad Reproductiva u Respuesta al Fotoperiodo Artificial en la oveja Pelibuey. Tesis de Doctorado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1999.

Muhlía A, Chávez A: Insolación y radiación solar en el tope de la atmósfera para las latitudes que cubre la República Mexicana. Anales del Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México 1980; 26, 127- 129.

Porras AA, Valencia MJ, Zarco QL y Rojas MS. Efectos del fotoperiodo artificial sobre la actividad ovárica de la oveja Pelibuey. Memorias de la XXII Reunión Anual de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción. Acapulco Guerrero 1997, pp. 149-156. Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, AC. Guerrero México 1997.

García E. Modificaciones al sistema de Clasificación climática de Köppen. 3ª. Edición. México: Instituto de Geografía UNAM. 1981

Pulido A, Zarco LA, Galina CS, Murcia C, Flores G, Posadas E. Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle. Effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. Theriogenology 35: 965-975.1991

Rodríguez MR. Efecto de la suplementación sobre el inicio de la pubertad en la borrega Tabasco o Pelibuey. Tesis de doctorado. México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 1991.

Hulet CV, Shelton M. Sheep and Goats. In: Hafez ESE, editor. Reproduction in Farm Animals. Philadelphia. LEA & Febiger 1980: 346-357.

Nugent RA, Notter DR, Beal WE. Effects of ewe breed and ram exposure on estrous behavior in may and june. J. Anim. Sci. 66: 1363-1370. 1988.

Minton JE. Role of photofractoriness in onset of anoestrus in Rambouillet x Dorset ewe. Journal of Reproduction Fertility 89: 261-268 1990

Wheeler AG, Land RB. Seasonal variations in Oestrus and ovarian activity of Finnish Landrace, Tasmanian Merino and Scottish Blackface. Anim. Prod. 24: 363-376. 1977

Yuthasastradosol P, Palmer WM, Howland BE. Luteinizing hormone, oestrogen and progesterone levels in peripheral serum of anoestrus and cyclic ewes as determined by radioimmunoassay. Journal Reproduction and Fertility 43: 57 - 65. 1977

Goodman RL, Karsch FJ. Pulsatile secretion of luteinizing hormone. Differential suppression by ovarian steroids. Endocrinology 107: 1286- 1290. 1980

Perera MG, Falcon AA, Salas VA. Estandarización de la técnica de radiomarcaje con Yodo-gen. Memorias del XXXIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Puebla. México 1996.

Legan SJ, Karsch FJ, Foster DL. The endocrine control of seasonal reproductive function in the ewe. A marked change in response to the negative feedback action of oestradiol on luteinizing hormone secretion. Endocrinology 101. 818-824. 1977

Martínez RR. Estudios sobre la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey del Trópico Húmedo Mexicano. Tesis de doctorado. México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 1998.