



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

MESTRÍA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

**MONITOREO NO INVASIVO DE LAS ETAPAS
REPRODUCTIVAS EN BORREGAS CIMARRÓN (*Ovis
canadensis mexicana*) EN CAUTIVERIO MEDIANTE LA
OBSERVACIÓN CONDUCTUAL REPRODUCTIVA Y LA
CUANTIFICACIÓN DE ESTEROIDES FECALES.**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO
EN CIENCIAS

P R E S E N T A

SAÚL SOTO MENDOZA

TUTOR PRINCIPAL
FERNANDO GUAL SILL

COMITÉ TUTORAL
ARTURO SALAME MENDEZ
OCTAVIO MEJÍA VILLANUEVA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

A mis viejos quienes me enseñaron a superar retos y desafíos aún estando en desventaja, quienes también me han hecho creer en mí y en los demás para brindar ayuda a los similares y a los que menos tienen.

Y a los que me han ayudado entregando todo sin pedir nada a cambio: mis
Hermanos

AGRADECIMIENTOS

A los doctores:

Fernando Gual Sill por haber dedicado tiempo para ser guía de este proyecto.

Arturo Salame Méndez por su apoyo, comprensión, ayuda y solidaridad a lo largo de este proceso.

Octavio Mejía Villanueva por su agudeza crítica en la investigación científica que se reflejó en este trabajo.

Arturo Ribera Rebolledo por su eterna disposición de ayudar y colaborar para la realización de este trabajo.

Y a todos aquellos que de alguna forma cooperaron para la realización de esta investigación.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
	1.1 El borrego cimarrón, una especie emblemática	1
	1.2 Clasificación taxonómica y su distribución	1
	1.3 Biología del borrego cimarrón	2
	1.4 Importancia biológica, ecológica y económica	3
	1.5 Aspectos reproductivos	5
	1.6 Endocrinología reproductiva	8
	1.7 Comportamiento sexual	14
	1.8 Mecanismos endocrinos de la conducta sexual de la hembra	17
	1.9 Estacionalidad y pubertad	20
	1.10 Evaluación del estatus reproductivo	22
II.	HIPÓTESIS	24
III.	OBJETIVOS	25
IV.	MATERIAL Y MÉTODOS	26
	4.1 Localización y sujetos de estudio	26
	4.2 Medición de la conducta reproductiva	27
	4.3 Cuantificación de las hormonas esteroides reproductivas	29
	4.4 Análisis estadístico de los datos	30
V.	RESULTADOS	32
	5.1 Etapas reproductivas del borrego cimarrón	32
	5.2 Perfil hormonal reproductivo	34
	5.3 Medición de la conducta	38
VI.	DISCUSIÓN	44
VII.	CONCLUSIONES	49
VIII.	REFERENCIAS	51
IX.	APÉNDICES	58

APÉNDICE I. Catálogo de conductas evaluadas para el borrego cimarrón.

APÉNDICE II. Planilla de observaciones utilizada en el borrego cimarrón.

APÉNDICE III. Etapas y conducta reproductiva de borregas cimarrón.

APÉNDICE IV. Perfil hormonal en el ciclo estral de borregas cimarrón.

APÉNDICE V. Perfil hormonal de la gestación de borregas cimarrón

APÉNDICE VI. Perfil Hormonal del anestro de borregas cimarrón.

RESUMEN

El borrego cimarrón es una especie emblemática de México, se distribuye en el norte del país en los estados de Sonora y Baja California. Son gregarios y las hembras son estacionalmente poliéstricas. En este trabajo se determinaron las etapas reproductivas (estro, gestación y anestro estacional) de las borregas cimarrón (*Ovis canadensis mexicana*) albergadas en el Zoológico de Chapultepec "Alfonso L. Herrera" de la Ciudad de México, monitoreando la conducta reproductiva y los esteroides sexuales (progesterona -P4- y estradiol -E2-) en heces mediante inmunoensayo enzimático, a lo largo de un año.

Se observó que la temporada reproductiva de los cimarrones fue muy extendida, comenzando a finales de junio de 2003 y concluyendo a principios de febrero 2004. El ciclo estral tuvo una duración de 29 ± 5 días. La gestación duró 24 semanas y el anestro estacional solo 4 meses.

El patrón de secreción de los esteroides reproductivos fue fluctuante durante las diferentes etapas. En el ciclo estral el patrón de secreción tanto del E2 y la P4 estuvieron correlacionados significativamente ($P < 0.001$) entre sí, y se pudo observar el pico previo de progesterona al pico de estradiol, esencial para la expresión completa de la conducta reproductiva de la hembra, la cual estuvo correlacionada significativamente ($P < 0.001$) con el patrón del E2 fecal.

En la gestación las concentraciones de progesterona fecal aumentaron de forma significativa hasta alcanzar un pico previo al parto; mientras esto ocurría, la hembra gestante fue ocupando mayor tiempo para el descanso ($P < 0.001$), estado en el cual se protege al producto.

A lo largo del anestro las concentraciones de ambas hormonas estuvieron en niveles basales como reflejo de la inactividad gonadal. Los ejemplares ocuparon la mayor parte del tiempo en descansar con respecto a otras pautas de conducta.

El monitoreo no invasivo mediante la observación de la conducta reproductiva y la cuantificación de las hormonas sexuales en heces son un excelente herramienta para estudiar la dinámica reproductiva y la salud reproductiva de los hatos de especies silvestres amenazadas como lo es el borrego cimarrón.

Palabras clave: borrego cimarrón, etapas reproductivas, hormonas sexuales, conducta reproductiva, monitoreo no invasivo, animales de zoológico.

ABSTRACT

The big horn sheep is an emblematic species of Mexico, it is distributed throughout the north of the country, in the states of Sonora and Baja California. They live in groups and the females are seasonal polyestrous. In this work, we determined the reproductive stages (estrous, pregnancy and seasonal anestrous) of big horn sheep females (*Ovis canadensis mexicana*) in the Chapultepec Zoo "Alfonso L. Herrera" in Mexico City, monitoring the reproductive behavior and steroids hormones (progesterone –P4- and estradiol –E2-) in feces with enzymeimmunoassay, through one year.

We observed that seasonal reproductive was lengthy, it started in late June 2003 and finished in early February 2004. We observed in this stage that the estrous cycle was 29 ± 5 days long. In another hand, pregnancy lasted 24 weeks long and the seasonal anestrous lasted for 4 months.

The excretion pattern of the steroid hormones was wavy through the different stages. In the estrous both the concentrations of E2 and P4 were correlated ($P < 0.001$), with a peak of progesterone priming the estradiol peak, essential for the full expression of sexual behavior in ewes, which was correlated ($P < 0.001$) with the faecal estradiol pattern.

Through the pregnancy the concentrations of P4 increased significantly until reaching a peak previous to giving birth, while this happened, the ewe occupied more time to rest ($P < 0.001$), in order to protect the fetus.

In the seasonal anestrous both P4 and E2 were in baseline levels because of inactivity of the gonads. In this way the animals occupied more time to rest regarding the others behaviors.

The non invasive monitoring of the reproductive behavior and steroid hormones in feces is an excellent tool for studying both reproductive dynamic and reproductive health of the herd in threatened wild animals like big horn sheep.

Key words: big horn sheep, reproductive stages, steroids hormones, reproductive behavior, non invasive monitoring, zoo animals.

I. INTRODUCCIÓN.

1.1 El borrego cimarrón, una especie emblemática

El borrego cimarrón (*Ovis canadensis*) es una de las especies emblemáticas de México, habitan en las áreas montañosas del noroeste del país, en los estados de Sonora, Baja California norte y Sur (Jiménez, et al., 1996; Lee y Mellink, 1996). Actualmente debido a la fragilidad de sus poblaciones, es considerada como una Especie Sujeta a Protección Especial dentro de la [NOM-059-ECOL-2001](#) en México e internacionalmente dentro del Apéndice II de [CITES](#). La International Union for the Conservation of Nature (IUCN) considera a la subespecie *Ovis canadensis mexicana* como Vulnerable (Eaton-González y Martínez, 2001).

1.2 Clasificación taxonómica y su distribución.

Clase: Mammalia

Orden: Artiodactyla

Familia: Bovidae

Género: *Ovis*

Especie: *Ovis canadensis* Shaw 1804

Subespecies: *Ovis canadensis cremnobates* Elliot, 1903

Ovis canadensis weemsi Goldman, 1937

Ovis canadensis mexicana

Nombre común: Borrego cimarrón o borrego del desierto.

En la familia bovidae se incluyen a los antílopes africanos y asiáticos, bisontes, ovejas, cebras y bóvidos, es el grupo de ungulados más importantes y diverso. Esta familia consta de 45 géneros y 124 especies que se distribuyen en África, Asia, Europa y casi toda Norteamérica. Algunas especies de esta familia

han sido sometidas a procesos de domesticación, el cual se estima inició en Asia hace unos 8,000 años. En el Continente Americano esta familia está representada por cuatro géneros, que viven de forma silvestre: *Bison* (bisonte), *Oreamos* (cabra de montaña), *Ovibos* (buey almizclero) y *Ovis* (borrego) (Nowak, 1999, Ayala, 2003).

En Norteamérica existen dos especies del género *Ovis*: *Ovis dalli* y *Ovis canadensis*. *Ovis dalli* incluye tres subespecies y *Ovis canadensis* siete, de las cuales *O. Auduboni* está extinta (Nowak, 1999). En México se encuentran tres subespecies de *Ovis canadensis*: *Ovis canadensis mexicana* con una distribución histórica en Arizona, Nuevo México y Texas en los Estados Unidos de Norteamérica, y en Chihuahua, Coahuila, Nuevo León y actualmente en Sonora, México (López et al., 2001). Las otras subespecies se encuentran en la Península de Baja California y se conocen como borrego cimarrón peninsular: *Ovis canadensis weemsi* se distribuye en Baja California Sur. La subespecie *Ovis canadensis cremnobates* habita desde el sur de California y norte de Baja California (Eaton-González y Martínez, 2001).

En Sonora, el borrego cimarrón (*Ovis canadensis mexicana*) se distribuye desde las Sierras desérticas ubicadas al Noroeste del estado, desde la reserva de El Pinacate y Gran Desierto de Altar hasta las inmediaciones del poblado pesquero conocido con el toponímico de Bahía Kino, 107 km al oeste de la Ciudad de Hermosillo (López et al., 2001).

1.3 Biología de los borregos cimarrones.

Los cimarrones son gregarios; en vida libre forman grupos de machos adultos que permanecen apartados de las hembras y las crías la mayor parte del año (Ruckstuhl, 1998; Nowak, 1999). Los machos alcanzan un peso entre 58 y 86 kg y poseen grandes cuernos en espiral de hasta 1.10 m de ancho; las hembras

pesan entre 34 y 52 kg y tienen cuernos pequeños ligeramente curvados. La coloración del pelaje varía del crema claro hasta el café oscuro, tienen nariz afilada y orejas puntiagudas. Esta especie es muy alerta, de ojos vivaces y son buenos trepadores de rocas (Nowak, 1999). Pueden comer intermitentemente durante el día, descansando en las horas más calurosas y también son activos durante la noche; su dieta en vida libre consiste de pastos y hojas de arbustos (Monson y Summer, 1980).

Debido a su sistema de apareamiento son considerados polígamos y promiscuos (Coltman et al., 2002) y tienen una temporada reproductiva muy amplia, principalmente durante el otoño e invierno; las hembras son poliéstricas estacionales (Monson y Summer, 1980). El período de gestación es de 180 días aproximadamente, dando a luz, entre los meses de abril a junio, a una sola cría y ocasionalmente a dos (Schoenecker et al., 2004). Las hembras alcanzan la madurez reproductiva dependiendo de su condición corporal alrededor de los 2 años de edad. Su longevidad depende en gran medida del estatus poblacional y pueden vivir hasta los 24 años, siendo un promedio de 10 años (Monson y Summer, 1980; Nowak, 1999). Dentro del grupo de machos existe una estricta dominancia que se define mediante la edad, la corpulencia y el tamaño de los cuernos y aunque el macho dominante no es territorial estas características determinan en gran medida su éxito en la competencia por hembras (Lindsay, 1988; Nowak, 1999; Coltman et al., 2002).

1.4 Importancia biológica, ecológica y económica.

Los primeros colonizadores que arribaron a la región norte de Mesoamérica registraron la presencia del borrego cimarrón y reportaron como los nativos los consideraban dentro de su cultura, incluyéndolo dentro de sus ritos y deidades; incluso lo utilizaban como alimento. Registro de esta relación ancestral hombre-borrego consta en las pinturas rupestres que se encuentran en la península de

Baja California y más al norte de Estados Unidos (Eaton-González y Martínez, 2001). Originalmente, el borrego cimarrón se encontraba en las áreas montañosas del norte de México en los estados de Baja California, Sonora, Chihuahua y Coahuila; sin embargo, en la actualidad solo se encuentran en Sonora y Baja California. Los factores de la reducción de la distribución de sus poblaciones en México fueron la cacería ilegal y la destrucción de su hábitat por el hombre por construcciones y caminos y la introducción de la ganadería que disminuyó el acceso a recursos del hábitat, así como el incremento de enfermedades infecciosas y parasitarias (Jiménez et al., 1996).

Al paso del tiempo y con el incremento de la actividad cinegética como deporte, el borrego cimarrón adquirió gran importancia como trofeo para los cazadores y como fuente de ingresos para los propietarios de los terrenos donde esta especie se distribuye. En México el uso intensivo comenzó formalmente desde 1964, cuando se reinició legalmente la cacería deportiva bajo control federal, y bajo continuas vedas en los años 90's esta especie fue declarada en peligro de extinción a fines de esta década (Eaton-González y Martínez, 2001).

Actualmente con el fortalecimiento de los aspectos legales, el aprovechamiento cinegético del borrego cimarrón en las Unidades de Manejo y Conservación de Fauna Silvestre (UMAS), ha cobrado gran importancia en el Noroeste de México, representando una importante derrama económica por el pago de los derechos de permisos de caza, así como la renta de los ranchos para la cacería (Pérez, 2005).

De esta forma, el borrego cimarrón del desierto tiene una función muy importante biológica, ecológica y económica para nuestro país. Tomando en cuenta que es un recurso cultural y potencial generador de divisas para la sociedad, basado en un manejo de las poblaciones de borrego cimarrón que esté guiado científicamente (López et al., 2001).

1.5 Aspectos reproductivos

El manejo de cualquier especie animal es facilitado por el conocimiento de su historia, su biología, y capacidad reproductiva. Desafortunadamente se sabe muy poco acerca de las fases de la biología reproductiva de la mayoría de las especies silvestres, no siendo el borrego cimarrón la excepción. Lo que se conoce de la biología reproductiva del cimarrón es asumido de lo investigado en rebaños de borrego doméstico (Monson y Sumner, 1980).

1.5.1 Madurez reproductiva de las borregas cimarrón.

Es poco conocida la madurez fisiológica sexual de las hembras de borrego cimarrón. Algunos estudios en vida libre sugieren que solo las hembras de 18 meses de edad y más comúnmente 21 meses, son capaces de gestar, aunque se ha observado que machos adultos copulan a hembras menores de 18 meses de edad (Monson y Sumner, 1980). Esto sugiere que las hembras menores de 18 meses de edad poseen suficiente cantidad de hormonas que pueden causar conducta de estro pero a la vez insuficiente para iniciar la ovulación o mantener una preñez (Monson y Sumner, 1980; Ruckstuhl, 1998). La conducta de estro de las hembras jóvenes no es disminuida por la presencia de hembras maduras dentro del rebaño (Réale et al., 2000).

1.5.2 Estación reproductiva.

Las hembras de borrego cimarrón tienen una época reproductiva donde se puede observar el estro seguido por un pronunciado periodo de anestro, o estación no reproductiva. Existe una considerable variación en la duración de la época reproductiva de acuerdo a la latitud y altitud geográfica donde se

encuentran los animales; estos factores parecen ser los más determinantes (Monson y Sumner, 1980; Bronson, 1989; Thiery y Malpoux, 2003).

El ciclo estral en las hembras de borrego cimarrón dura alrededor de 28 días. El periodo conductualmente receptivo dura alrededor de 24-36 horas. Durante el periodo de anestro, la hembra generalmente es ignorada por el macho. Incluso, las hembras en anestro pueden desplegar conductas agresivas hacia los machos que las buscan. El periodo de empadre ocurre en la época del año en la cual hay mayor disponibilidad de alimento y mayor oportunidad de sobrevivencia (Monson y Sumner, 1980).

1.5.3 Gestación.

El periodo de gestación en las borregas cimarrón dura aproximadamente 180 días (Schoenecker et al., 2004). Existen datos reportados por Monson y Sumner (1980) que indican que el intervalo de gestación es de 179 ± 6 días en hembras mantenidas en cautiverio donde se observó la monta y el parto.

1.5.4 Parto.

Alrededor de 14 días antes del parto, las hembras preñadas abandonan el rebaño y permanecen solitarias. Las áreas de parto son escogidas en base a su aislamiento, confort y ocultamiento. En las hembras maduras o viejas, las ubres y los pezones crecen y se oscurecen hasta 10 días antes del parto. En contraste, las hembras primíparas no muestran estos signos sino hasta 3 o 5 días antes del parto. De 1 a 2 días antes del mismo la vulva de las hembras se inflama considerablemente y se incrementa su irritabilidad (Monson y Sumner, 1980). El comportamiento de la hembra depende en gran medida de la facilidad del parto, pero generalmente, la inquietud inicial es interrumpida por periodos en los cuales las hembras se echan debido al dolor abdominal (Hafez y Hafez, 2000). El parto

comienza con la ruptura del amnios. Sin embargo, el nacimiento puede no ocurrir durante varias horas. Generalmente las hembras no se mueven o permanecen sedentarias hasta finalizar el parto. La retención placentaria puede durar un periodo de hasta 3 a 5 horas. La hembra generalmente se come los restos placentarios después del nacimiento; ya que estos pueden atraer predadores por el olor y comprometer la seguridad del cordero recién nacido (Monson y Sumner, 1980).

1.5.5 Potencial reproductivo

Los partos gemelares en el borrego cimarrón son objeto de muchas conjeturas. Existen avistamientos en vida libre que reportan 2 corderos siendo criados por una misma hembra, pero no existe literatura que ofrezca datos que confirmen dicha versión. Naturalmente los partos gemelares pueden ocurrir en vida libre pero este es un fenómeno muy raro en el borrego cimarrón (Monson y Sumner, 1980).

El concepto “senescencia reproductiva” ha sido aplicado para describir el término de la función ovárica o menopausia. Sin embargo, éste no se ha establecido en la especie. Se ha observado que los machos han podido montar hasta los 11 años de edad y pueden tener espermatozoides viables hasta los 16 años de edad. Se puede esperar que disminuya la fertilidad de las hembras con la edad, pero ellas son capaces de reproducirse hasta el final de su ciclo de vida (Monson y Sumner, 1980).

1.6 Endocrinología reproductiva

1.6.1 Biosíntesis de las hormonas esteroides

En cantidades muy pequeñas (μg), las hormonas esteroides cumplen funciones de un regulador biológico, estimulando o inhibiendo procesos bioquímicos en el individuo; son producidas en forma “natural” por células vivas (específicas) y secretadas hacia el exterior de la misma de manera endócrina para alcanzar la célula blanco y provocar una respuesta específica de ésta. Ya en el torrente sanguíneo estas hormonas pueden unirse con proteínas plasmáticas específicas de transporte (Babol et al., 1996) circulantes y, por lo tanto, pueden estar presentes en dos formas en la circulación: unidas (95 %) y libres (Yen et al., 2001).

Las hormonas esteroides son compuestos de naturaleza lipídica, tienen como precursor al colesterol (molécula de 27 átomos de carbonos); son sintetizadas y secretadas en las glándulas adrenales, la placenta, las gónadas y el cerebro, bajo la influencia de hormonas proteicas secretadas por la adenohipófisis (Stocco, 2000). Los esteroides están caracterizadas por una estructura esquelética básica común de cuatro anillos fusionados llamado ciclopentanoperhidrofenantreno; la diferencia entre cada una de las hormonas esteroides radica en la estructura de sus cadenas laterales, el número de carbonos y sus constituyentes (Hafez y Hafez, 2000; Yen et al., 2001).

Las gonadotropinas inducen la acción la P450 liasa (P450_{scc}) que rompe la cadena lateral de carbonos del colesterol localizada entre los carbonos 20 y 22 de la molécula, dando lugar a la pregnenolona, una molécula de 21 carbonos, que actúa como prohormona y es el principal precursor del resto de las hormonas esteroides (Stocco, 2000; Yen et al., 2001).

La biosíntesis de la progesterona a partir de pregnenolona requiere de la acción catalizadora de la enzima 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β -HSD) presente en el Retículo Endoplásmico Liso (SER) de las células esteroideogénicas (Christenson y Devoto, 2003). Además de tener funciones dentro de los sistemas reproductor y nervioso, la progesterona actúa como una prohormona que da lugar a otras hormonas esteroideas de 19 carbonos, como son los corticoesteroides en las glándulas adrenales y los andrógenos en las gónadas (Hafez y Hafez, 2000).

La testosterona, principal hormona sexual masculina, se sintetiza en las células de Leydig en los testículos a partir de la reducción de la progesterona a 17α -hidroxiprogesterona (Hafez y Hafez, 2000), intermediario que se metaboliza por acción de una desmolasa a androstenediona y se transforma en testosterona previa reducción del grupo ceto de la posición del carbono 17 (Rius, 1999). A su vez, la testosterona es el precursor de la síntesis de estradiol en los testículos, ovarios y glándulas adrenales (Cummings y Kavlock, 2004).

La principal hormona sexual femenina es el 17β -estradiol, que mantiene el equilibrio metabólico constante con la estrona. La hidroxilación del carbono situado en la posición carbono 19 de la testosterona induce la formación de la 19-hidroxitestosterona. La oxidación de este compuesto en la posición carbono 3 y la posterior pérdida del grupo aldehído conduce a la síntesis del 17β -estradiol y de la estrona (Rius, 1999).

1.6.2 Modo de acción de las hormonas esteroideas.

1.6.2.1 Modo de acción genómico.

Los esteroideos libres, por su naturaleza química y bajo peso molecular, pasan libremente a través de la membrana celular (difundiéndose hacia el interior) (Yen et al, 2001) y por medio de su interacción con receptores intracelulares

específicos, los cuales actúan como factores de transcripción (ligando-dependientes) regulan la expresión de varios genes, modulando la síntesis de varias proteínas incluyendo receptores, neuropéptidos y enzimas implicadas en el metabolismo de neurotransmisión (Fabre-Nys, 1998), e inician eventos complejos asociados en el desarrollo y en las respuestas fisiológicas del individuo (Falkenstein et al., 2000).

1.6.2.2 Modo de acción no-genómico.

Las acciones no-genómicas de las hormonas esteroides promueven cascadas de señalizaciones que están asociadas a receptores en la membrana celular como receptores acoplados con proteínas G (GPCRs), canales de iones y receptores unidos a enzimas, capaces de regular rápidamente múltiples funciones celulares; también pueden modular procesos más tardados como la síntesis de proteínas o DNA y la proliferación celular, incluso en tejidos que no son blanco de estas hormonas como el sistema cardiovascular y el SNC (Falkenstein et al., 2000; Simoncini y Genazzani, 2003).

1.6.3 Progesterona (P4).

La progesterona (4-pregнено-3,20-diona) es un esteroide producido en las gónadas, glándulas suprarrenales y la placenta (Hafez y Hafez, 2000). La etapa inicial de su biosíntesis es la conversión del colesterol en el compuesto C21, pregnenolona, con pérdida de un fragmento de 6 carbonos, este paso comprende dos hidroxilaciones antes del clivaje de la cadena lateral del colesterol, la cual la provoca la acción del citocromo denominado P450_{scc} y esta tiene lugar en las mitocondrias de las células esteroideogénicas (Yen et al., 2001).

La pregnenolona se transforma entonces en progesterona (por la acción de la 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa), o bien en 17 α -hidroxipregnenolona

(reacción catalizada por la 17α -hidroxilasa o P450c17). Tanto la progesterona como la 17-hidroxipregnenolona se pueden transformar en 17-hidroxiprogestero, que actúa como precursor en la síntesis de esteroides sexuales y glucocorticoides (Rius, 1999; Yen et al., 2001).

La corteza suprarrenal, el cuerpo lúteo y la placenta son lugares específicos en los que tiene lugar la síntesis de progesterona (Hafez y Hafez, 2000). La progesterona producida por el cuerpo lúteo y, durante el embarazo, por la placenta interviene en varias funciones fisiológicas para convertir el endometrio uterino en endometrio secretor. Estas funciones incluyen la preparación del endometrio para la implantación del ovocito fecundado y el mantenimiento del embarazo (Spencer et al., 1999; Gray et al., 2001).

La progesterona realiza muchas otras acciones en la fisiología reproductiva de las hembras, como la participación en la regulación mediante retroalimentación de las gonadotropinas hipofisarias y los estrógenos ováricos, la estimulación de la glándula mamaria durante la lactancia, la estimulación de la temperatura corporal basal (Hafez y Hafez, 2000), el mantenimiento del epitelio vaginal, la relajación de la musculatura lisa uterina durante la embriogénesis, promueve el desarrollo de las glándulas uterinas (Gray et al., 2001), actúa sinérgicamente con los estrógenos para inducir el comportamiento sexual (Theodosiadou et al., 2004) y en concentraciones altas, inhibe el estro y la oleada ovulatoria.

Las concentraciones séricas de progesterona son relativamente altas en el momento del nacimiento debido a la producción placentaria, descienden rápidamente durante la primera semana tras el nacimiento y aumentan durante la pubertad (Cummings y Kavlock, 2004).

1.6.4 Estradiol (E2).

El estradiol [1,3,5(10)-estratrieno-3,17 β -diol;17 β -estradiol;E2], un esteroide C18, es el estrógeno más potente de los secretados de forma natural y el principal estrógeno producido por el ovario (Yen et al., 2001). En el ovario el estradiol se produce a través de la desmetilación y aromatización de la testosterona (Rius, 1999). El estradiol ovárico también se puede producir a partir de la estrona (3-hidroxi-1,3,5(10)-estratrien-17-ona o E1, un estrógeno de menor potencia derivado de la androstendiona (Hafez y Hafez, 2000; Yen et al., 2001). En los animales placentarios, las concentraciones de estradiol en la circulación aumentan durante la vida fetal, son relativamente altas al término de la gestación en ambos sexos y disminuyen rápidamente tras el nacimiento, son pequeñas durante la etapa infantil y la pubertad, aumentando notablemente durante la madurez (Cummings y Kavlock, 2004).

En las hembras adultas, la producción ovárica de estradiol es estimulada por la hormona estimulante de los folículos (FSH). El aumento de los niveles de estradiol, posterior al descenso de la progesterona (Fabre-Nys et al., 1993), induce un aumento de GnRH en la circulación portal hipofisiaria, la cual a su vez, provoca el pico preovulatorio de la hormona luteinizante (LH); la ovulación en la borregas ocurre 22-26 horas después del pico de LH, así mismo la conducta de estro (24-36 horas) se corresponde con el oleaje de GnRH (Caraty et al., 1998; Caraty et al., 2005).

La mayor parte del estradiol en la circulación sanguínea está unido a las proteínas plasmáticas, específicamente a la TEBG y con menor grado de afinidad, a la albúmina. Las escasas cantidades de estradiol libre y dissociable presentan diversas acciones biológicas mediadas por su unión a receptores intracelulares específicos (Yen et al, 2000).

Las acciones biológicas del estradiol incluyen la estimulación del crecimiento lineal del hueso, la aceleración del cierre de las epífisis, la estimulación del desarrollo mamario y la maduración de la mucosa vaginal y el endometrio uterino (Hafez y Hafez, 2000). El estradiol actúa sobre el SNC para inducir el comportamiento de estro en la hembra, sin embargo en la oveja, se necesita la previa presencia de progesterona para inducir el estro (Hafez y Hafez, 2000; Theodosiadou et al., 2004), puede contribuir también al desarrollo físico de los caracteres sexuales femeninos secundarios (Hafez y Hafez, 2000) y sobre la conducta social del individuo (Bakker et al., 2002).

1.6.5 Transformación y conjugación de las hormonas esteroides.

Los esteroides circulantes son transformados (o conjugados) principalmente en el hígado y los metabolitos son conjugados y excretados en la orina y en las heces como glucuronatos (glucosiduronatos) y como ésteres sulfonatos. Los glucuronatos de esteroides se forman por la acción de la glucuronosiltransferasa, presente en los microsomas hepáticos y del ácido difosfoglucurónico uridina. Los sulfonatos de esteroides se forman por la acción de las sulfotransferasas de esteroides solubles y del donante universal de sulfonatos, 3'-fosfoadenosina 5'-fosfosulfato (Yen et al, 2001). Una parte importante de estos metabolitos transformados en el hígado, pasa al intestino delgado a través de la bilis, donde son desconjugados en su paso por los intestinos por la acción de la flora bacteriana; los esteroides pueden reabsorberse dentro de la circulación enterohepática o son excretados en forma libre en las heces (Schwarzenberger et al., 1996; Brown et al., 2001).

1.7 Comportamiento sexual

1.7.1 Comportamiento sexual de las borregas.

Las borregas cimarronas son poliéstricas estacionales, por lo que exhiben conducta sexual solo en una época determinada, principalmente durante el verano tardío, otoño e invierno temprano en las zonas templadas (Monson y Sumner, 1980). La longitud de la época reproductiva obedece a un origen geográfico, las razas originarias de latitudes superiores tienen una época más corta (Bronson, 1989; Nowak, 1999). El estro está asociado con el ciclo ovárico y limitado por el comienzo y final de la época de cría (Monson y Sumner, 1980), la cual a su vez, está influenciada por la duración del día y la temperatura del ambiente (Lincoln, 1992).

Las especies del género *Ovis* son reconocidas como promiscuas ya que no hay evidencia de que formen parejas entre hembra y macho (Coltman et al., 2002). El inicio de la conducta de apareamiento está controlada por el inicio de la época reproductiva, la cual, permite la expresión del estro en la hembra, que a su vez, desencadena la libido en el macho (Lynch et al., 1992).

Los patrones conductuales sexuales de las hembras de borrego cimarrón durante el cortejo son relativamente simples y consisten en curvar el cuello y el cuerpo hacia el del macho, algunas veces poniendo la nariz bajo sus flancos, moviendo la cola vigorosamente, quedándose junto al macho y permaneciendo quieta hasta recibir la monta (Lynch et al., 1992; Caraty et al., 2002).

Es difícil determinar con certeza como o cuando se inicia el primer contacto sexual entre la hembra en estro y el macho. En algunos casos parece ser que el macho realiza el primer contacto buscando y siguiendo a la hembra (Lynch et al., 1992). Sin embargo en algunas ocasiones la hembra en estro busca al macho.

Cuando dos o más hembras están en estro simultáneamente, frecuentemente topetean y empujan otras en sus intentos por atraer la atención del macho (Réale et al., 2000).

La conducta reproductiva puede ser comprendida como la secuencia de conductas establecidas para permitir el acercamiento del macho y la hembra que culmina con la monta (Lynch et al., 1992):

1.7.2 Conductas de atraktividad.

Son usadas para categorizar la habilidad pasiva de la hembra para estimular el interés del macho, que a su vez enmarca la atracción de la hembra, usualmente es cuantificada por la observación de la conducta reproductiva del macho. Por ejemplo, uno puede medir la frecuencia o intensidad de una conducta de aproximación, olfateo o lamida de genitales, o el número de flehmen exhibidos por el macho, como una medición indirecta de la atracción de la hembra (Fabre-Nys, 1998).

1.7.3 Conductas proceptivas.

Son aquellas acciones de la hembra que resultan en la iniciación o continuación de la actividad sexual del macho. Un carnero con conducta de solicitud a una borrega en estro ilustra este concepto (Fabre-Nys, 1998). Otras conductas proceptivas comúnmente observadas en las hembras incluyen: topar, mover vigorosamente la cola, monta entre hembras o al propio macho (Caraty et al., 2002).

1.7.4 Conductas receptivas.

La receptividad puede ser evaluada midiendo los movimientos o las posturas asumidas por la hembra que aseguran la inseminación intravaginal por el macho. El signo más obvio de receptividad es la inmovilidad en respuesta a la monta del macho. La receptividad puede también incluir el arqueado del lomo, desviación de la cola, incluso inclinarse hacia el macho, todas estas respuestas facilitan la intromisión del macho (Katz y McDonald, 1992; Fabre-Nys, 1998).

El estro, es el término usado para describir el periodo de receptividad sexual en la hembra, se refiere al periodo de alta actividad y excitabilidad (Lynch et al., 1992). La borrega cimarrón pasa por una serie de periodos en estro durante la época reproductiva y puede ocurrir al término de este, una ovulación silenciosa (ovulación sin conducta reproductiva) tal como ocurre en el comienzo de la época reproductiva (Hafez y Hafez, 2000). Las cimarronas normalmente no demuestran cuando están en estro (alrededor de 24-36 horas) y es difícil identificarlo por características conductuales excepto aquellas asociadas con la respuesta (libido) del macho. El libido en los machos es expresado durante el periodo en que esta en estro la hembra por una serie de conductas de cortejo dirigidas a lograr la monta (Lynch et al., 1992).

La secuencia del apareamiento en general comienza con el acercamiento del macho a la hembra y olfatea la vulva, ella puede acuclillarse y orinar, el macho olfatea la orina y ejecuta un flehmen. Si la hembra está en estro el cortejo continúa con el macho siguiendo a la hembra de forma cada vez más estrecha, el macho puede tocar con su nariz e incluso aproximarse a ella con pequeñas patadas con los miembros anteriores al flanco de la hembra. Entonces ambos comienzan a caminar en círculos una al lado del otro, en ocasiones tocan con su nariz el flanco del otro, el macho intenta la monta varias veces hasta que ella se queda quieta y permite la monta (Lynch et al., 1992).

1.8 Mecanismos endocrinos que controlan la conducta sexual en la hembra.

La conducta sexual esta dirigida por aspectos endócrinos y cambios en el hipotálamo, y en la glándula hipófisis determinando la ciclicidad del estro en la hembra (Lynch et al., 1992).

La conducta reproductiva está fuertemente influenciada por efectos hormonales. En la hembra, la progesterona y el estradiol que son producidos en grandes cantidades por los ovarios, son los componentes más efectivos para estimular la actividad sexual (Fabre-Nys et al., 1993, Theodosiadou et al., 2004). En las hembras adultas la conducta sexual es generalmente exhibida solo por un corto periodo durante el ciclo estral, alrededor de la ovulación. En todas las especies la expresión de la conducta sexual en la hembra es precedida por un incremento de la concentración de estradiol en el plasma, pero en la mayoría de los casos la progesterona es necesaria en combinación con el estradiol (Fabre-Nys, 1998).

En la borrega un factor muy importante implicado en el control de la conducta de estro es la progesterona presente durante la fase lútea, la cual incrementa el número de receptores a estradiol en la parte mediobasal del hipotálamo e incrementa su sensibilidad a este. Entonces la presencia anticipada de la progesterona es necesaria para el correcto despliegue de la conducta del estro (Caraty et al., 2002).

1.8.1 Sitios de acción de los esteroides para la conducta sexual.

En todos los vertebrados estudiados, y en ambos sexos, la unión de los esteroides se encuentra en el área mediobasal y área preóptica del hipotálamo,

parte del sistema límbico (septum y amígdala, por ejemplo) y parte del mesencéfalo (Pfaff y Schwartz-Giblin, 1988). Las áreas varían entre hembra y macho, pero son similares entre especies. La conducta sexual de la hembra es estimulada por el estradiol cuando este es administrado exógenamente en la vecindad del núcleo ventromedial (VMN) en el hipotálamo medio (Caraty et al., 1998), mientras que el área preóptica media (MPOA) es el sitio más eficiente para estimular la conducta sexual del macho (Pfaff y Schwartz-Giblin, 1988). La amígdala o el septum donde se unen estos esteroides, son importantes en la conducta sexual, además de otras áreas del cerebro implicadas en el funcionamiento general, como la actividad motora o procesos cognitivos, son alteradas indirectamente por la acción de estos en relación a la conducta sexual, al tener conexiones con las áreas sensibles a esteroides (Fabre-Nys, 1998).

1.8.2 Mecanismos efectores hormonales sobre el sistema nervioso central que facilitan la conducta sexual en los mamíferos.

Las hormonas pueden facilitar o reprimir las respuestas conductuales en una manera muy marcada o sutil. Una sola hormona puede tener varios efectos sobre la conducta. Así mismo, la combinación de varias hormonas puede ser importante para inducir un solo tipo de conducta. Finalmente, puede ocurrir que los metabolitos de las hormonas participen de manera importante en la expresión de la conducta. En todos los casos, tanto las hormonas liberadoras como las hormonas efectoras de la conducta dependen y están dentro del contexto del medio ambiente. (Pfaff, 2005).

Dentro del sistema nervioso las hormonas pueden actuar a diferentes niveles de la neuraxis para ejercer efectos conductuales. La naturaleza del efecto conductual depende del sitio de acción. (Pfaff y Schwartz-Giblin, 1988; Pfaff, 2005).

Las conductas necesarias para la reproducción dependen de la codificación del gen para el receptor- α para estrógenos (ER- α), la conducta de cortejo envuelve una gran cantidad de locomoción, la cual es altamente sensible a los estrógenos circulantes (Ogawa et al., 2003). Los efectos de los estrógenos sobre la conducta de correr son anulados por una mutación del ER-alfa, pero no son afectados por la mutación del ER- β . El ER- α es esencial para la expresión de la conducta de lordosis en roedores (Pfaff, 2005).

La funcionalidad genómica de los genes estrógenos-respuesta proveen un paradigma teórico para la conexión de genes en circuitos neurales efectores de la conducta. Pfaff (2005) propone que los genes estrógenos-inducidos son organizados en los siguientes módulos: crecimiento de las neuronas hipotalámicas; conductas proceptivas; acciones permisivas sobre los circuitos de la conducta sexual; y sincronización de la conducta de monta con la ovulación (GAPPS).

1.8.3 Preparación para el apareamiento: conductas proceptivas.

1.8.3.1 Analgesia.

El gen enkephalin es activado rápidamente por los estrógenos en las neuronas hipotalámicas de la hembra. Pfaff (2005) propone que a través de la reducción del dolor, el gen enkephalin ayuda a la hembra a expresar la conducta de apareamiento a pesar del rose áspero con el macho. Hipotéticamente, la habilidad de los estrógenos para activar los genes para los receptores de opioides tiene el potencial de multiplicar el efecto de las hormonas para la secuencia de las conductas de apareamiento.

1.8.3.2 Reducción de la ansiedad.

Los genes promotores de la oxitocina y su receptor son expresados por las neuronas hipotalámicas en grandes cantidades en la presencia de estrógenos. La ruta indirecta de este programa multiplicativo de inducción de genes para la presentación de la conducta de apareamiento es probablemente a través de dos conductas unidas: reducción de la ansiedad que conduce al cortejo y la monta. Esto coincide con formulaciones previas que dicen que la oxitocina ha sido concebida como un protector instintivo mediante conductas relacionadas con reproducción, maternidad y otras conductas sociales provenientes de efectos estresantes (Pfaff, 2005).

1.8.4 Sincronización entre la aceptación de la monta y la ovulación.

1.8.4.1 Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH).

La importancia fisiológica de la elevación de los niveles de estrógenos, de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y del mRNA de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH), bajo las condiciones de retroalimentación positiva dada por la elevación del mRNA de los receptores a GnRH es lo que sincroniza la presentación de la conducta reproductiva con la ovulación causada por la hormona luteinizante (LH). El mismo decapeptido del GnRH el cual estimula la liberación ovulatoria de gonadotropinas también facilita la conducta de apareamiento (Pfaff, 2005).

1.9 Estacionalidad y pubertad.

La estacionalidad de la época reproductiva en el borrego es debida al decline de la duración del día, lo cual incrementa la secreción de melatonina por la glándula pineal. El incremento de la melatonina promueve la producción de la

hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en el hipotálamo, la cual provoca la liberación de las gonadotropinas LH y FSH de la glándula hipófisis. La LH y FSH son necesarias para el funcionamiento normal de los ovarios para la producción de esteroides necesarios para iniciar la conducta de estro y provocar la ovulación (Lynch et al., 1992).

Los borregos tienen un sistema de medición de la duración del fotoperiodo que convierte la información de la duración del día en una señal hormonal, la cual actúa en el cerebro para coordinar los diversos cambios en la fisiología del animal y su conducta. La transmisión neural incluye los ojos, el núcleo supraquiasmático del hipotálamo y la glándula pineal. El SNC actúa como un reloj biológico interno, este contiene neuronas que expresan ritmos circadianos endógenos en actividad electrofisiológica. El SNC está conectado por una inervación simpática a la glándula pineal y por esta vía neural se regula el ritmo endógeno de la secreción de melatonina. La luz actúa para iniciar el sistema del ritmo circadiano y para inhibir la producción de melatonina. La melatonina es secretada en la circulación periférica durante la noche y la duración de su secreción provee un indicador endócrino de la duración del día y la noche (Lincoln, 1992)

1.9.1 Mecanismo de acción de la melatonina.

La hipótesis más aceptada menciona que el primer efecto de la melatonina es sobre las neuronas secretoras de catecolaminas y de opioides en la red neural del núcleo mediobasal del hipotálamo. Estas células modulan la actividad de las neuronas neurosecretoras en el hipotálamo, las cuales tienen terminales en la eminencia media. Ellas secretan sus productos dentro del sistema sanguíneo portal del hipotálamo- hipófisis para regular las diferentes tipos de células en la glándula hipófisis anterior. Por ejemplo: la melatonina pudiera influenciar la liberación de péptidos como catecolaminas y/o opioides en el hipotálamo para regular la secreción pulsátil de GnRH las cuales provocan la liberación de LH y

FSH, y por lo tanto afectan el cronómetro del ciclo reproductivo. En los borregos, hay evidencia que el sistema de dopamina es inhibitorio de la liberación de GnRH/LH, y puede jugar un papel en la supresión de la duración de la época reproductiva actuando en el MBH. También hay cambios aparentes en la actividad del sistema opiodinérgico regulando la secreción de GnRH/LH la cual es en parte a través de mecanismos fisiológicos mediando el efecto del fotoperiodo sobre el eje reproductivo (Lincoln, 1992)

1.10 Evaluación del estatus reproductivo.

La evaluación del estatus reproductivo de las borregas cimarronas se puede realizar usando técnicas no invasivas: monitoreando tanto su conducta reproductiva, con el uso de un etograma que facilita al investigador la toma de datos cuando los observa (Martin y Baterson, 1986; Lindsay, 1988; Lynch et al., 1992; McGeehan et al., 2002), aunado a evaluar la función gonadal mediante la determinación de los perfiles de las hormonas esteroides en heces u orina (Lasley y Kirkpatrick, 1991; Brown et al., 2001), lo anterior permite hacer un manejo efectivo de las poblaciones de borrego cimarrón tanto en cautiverio como en vida libre (Borjenson et al., 1996; Schwarzenberger et al., 1996). La detección y seguimiento del comienzo de la madurez sexual, el estro, la gestación y el anestro en las hembras son una herramienta fundamental en cualquier estudio de la dinámica reproductiva (Lasley y Kirkpatrick, 1991; Morrow y Monfort, 1998).

Un método práctico para evaluar la función gonadal es determinar el perfil hormonal a partir del inmunoensayo enzimático (EIA); técnica analítica que se emplea actualmente tanto en los zoológicos como en campo (Borjenson et al., 1996; McGeehan, 2002). Esta técnica se fundamenta en el uso de anticuerpos específicos para hormonas esteroides o sus metabolitos ya conjugados y/o no conjugados circulantes en la sangre o excretados en orina o heces (Stabenfeldt, 1993; Graham et al., 2001; Carpenter, 2002). Las heces son generalmente las

más fáciles de recolectar en comparación con la sangre (v. gr. plasma) y la orina, aunado a que se disminuye el estado de estrés del animal, por lo que el análisis de los esteroides fecales es el preferido para el monitoreo de la función ovárica en animales silvestres en cautiverio y en libertad (Monfort et al., 1993; Schwarzenberger et al., 1996; Gual et al., 1999).

II. HIPÓTESIS

Las etapas reproductivas de las borregas cimarrón se pueden determinar correlacionando su conducta reproductiva con los niveles de esteroides sexuales en heces.

III. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.

1. Determinar las etapas reproductivas (estro, gestación, anestro lactacional y anestro estacional) de borregas cimarrón albergadas en el Zoológico de Chapultepec “Alfonso L. Herrera” Ciudad de México mediante la correlación de la conducta reproductiva y los esteroides sexuales en heces.

OBJETIVOS PARTICULARES.

1. Realizar observaciones de la conducta reproductiva de los animales detectando pautas de comportamiento (cortejo, intentos de monta, montas, entre otros).

2. Cuantificar los esteroides sexuales (progesterona –P4- y estradiol –E2-) en heces, mediante un ensayo inmunoenzimático.

3. Correlacionar la conducta reproductiva de los animales con el patrón de los esteroides sexuales en heces para determinar las diferentes etapas reproductivas.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS.

4.1 Localización y sujetos de estudio.

La investigación se realizó en el Zoológico de Chapultepec, el cual se encuentra ubicado en la Delegación Miguel Hidalgo en el Distrito Federal, a 19° 25' latitud norte y 99°12' latitud oeste; a una altitud de 2250 metros sobre nivel del mar (msnm). El clima es templado, subhúmedo con lluvias en verano, de humedad media (CW1), la temperatura media anual es de 15°C y con una precipitación pluvial anual promedio de 801 mm (INEGI, 1998).

Se trabajó con 4 hembras cimarronas (2 adultas y 2 juveniles) (*Ovis canadensis* subespecie *mexicana*, en cautiverio). El cuadro 1 muestra la procedencia de los ejemplares, su fecha de nacimiento (aproximado en las nacidas en libertad) y su edad durante el estudio.

Cuadro 1. Borregas cimarrón, su procedencia y edad durante el estudio.

Identificación	Nacimiento (en libertad o cautiverio)	Fecha de nacimiento	Edad durante el estudio
Atné	Libertad	02 05 95	8 años
Nakwa	Libertad	02 05 96	7 años
Coki	Cautiverio ¹	04 03 99	3 años
Yumari	Cautiverio ¹	27 06 01	2 años

¹Nacidas en el Zoológico de Chapultepec, hijas de Nakwa.

Junto a las hembras permanecieron 4 machos (1 adulto y 3 juveniles) (Cuadro 2) que sirvieron para monitorear la conducta reproductiva de las mismas al interactuar sexualmente.

Cuadro 2. Borregos cimarrón, su procedencia y edad durante el estudio.

Identificación	Nacimiento (en libertad o cautiverio)	Fecha de nacimiento	Edad durante el estudio
Nesawe	Libertad	02 05 95	8 años
Taruk	Cautiverio	22 01 00	3 años
Justiniano	Cautiverio ²	21 05 01	2 años
Eka	Cautiverio	09 09 02	1 año

² Nacido en el Zoológico de Chapultepec, hijo de Atné y Nesawe

4.2 Medición de la conducta reproductiva.

Se realizó una vez al día, en forma discreta, de 10:00 a 13:00 hrs, cuatro veces por semana durante los meses de julio a diciembre de 2003. En los meses de diciembre a junio se hizo dos veces por semana para completar el registro anual de observación.

En cada sesión se registraron los patrones de conducta reproductiva que mostraron los animales (Anexo 1); de acuerdo con lo descrito previamente en un muestreo *ad libitum* por Rodríguez (en prensa) de la conducta del borrego cimarrón en cautiverio. El registro de la información se hizo mediante observaciones de barrido cada 10 min hasta completar las 3 horas y una observación focal de 5 minutos a cada una de las hembras entre cada barrido; según lo recomendado por Martin y Baterson (1986).

Los cimarrones –hembras y machos- se identificaron de acuerdo a su fenotipo y nombre.

4.2.1 Procesamiento de la información obtenida en cada sesión de observaciones.

Con el uso de una hoja de cálculo, se realizó un análisis exploratorio de los datos, de acuerdo con lo mencionado por Martin y Baterson (1986).

Las observaciones de barrido fueron expresadas como el Porcentaje de Tiempo en Estados de Comportamiento (pautas conductuales de relativa larga duración). Es decir, se contabilizó el total de estados observados en la sesión y se dividió entre el número total de barridos. Los Estados de Comportamiento incluyeron: locomoción, alimentación, descanso, alerta, acicalamiento, orinar, defecar, beber, huir, agresión.

Barridos : % Tiempo en Estados de comportamiento

Total de estados / # Total de barridos

Con las observaciones focales fueron expresados los Eventos de Conducta (pautas conductuales de corta duración) en: Frecuencia por unidad de tiempo. Para lo cual, se obtuvo el número total de eventos observados en la sesión y se dividió entre el número total de horas de observación. Los Eventos de Conducta fueron los relacionados a conductas de afiliación sexual: acudillarse y orinar, banderilleo, presentación de genitales, seguida, no permite monta, montada.

Focales : Frecuencia / Hora de los Eventos de Conducta

Total de eventos / # Total de horas de observación

4.2.2 Recolección de muestras fecales.

Se recolectaron las muestras fecales de cada una de las 4 hembras, en la misma fecha de las observaciones como se mencionó anteriormente. Las heces

se tomaron con bolsas de plástico lo más pronto posible después de la defecación identificándolas con fecha e individuo. Posteriormente las muestras se conservaron en etanol al 70 % dentro de tubos de polipropileno estériles, identificados con fecha e individuo; se almacenaron en un lugar fresco protegidos de la luz del sol hasta el siguiente paso que es la extracción de esteroides.

4.3 Cuantificación de las hormonas esteroides reproductivas.

4.3.1 Extracción total de esteroides.

La extracción total de los esteroides se realizó modificando la técnica descrita por Ayala, (2003) y Salame-Méndez et al., (2004). El porcentaje de eficiencia en la extracción de esteroides totales fue de 97.3 ± 0.6 %. Brevemente: machacando 1 g de heces en 3 ml de agua destilada en tubos de ensayo de 10 ml agitando fuertemente con una varilla de vidrio y posteriormente centrifugando a 1500 rpm por 10 min, se separó el sobrenadante en otros tubos de ensayo de 10 ml. Al sedimento se le agregaron 3 ml x 2 de éter dietílico, agitando con vortex por 10 a 20 segundos; después la fase orgánica que contenía el extracto total de esteroides (ETE) se depositó en un tubo de ensayo que se dejó en Baño de María a 50 °C hasta la evaporación total del disolvente orgánico. A la primera fase acuosa, se le agregaron 3 ml de éter dietílico, agitándolo en vortex y dejándolo en reposo para que se formaran dos fases; la superior se transfirió al tubo que contenía el ETE. Posteriormente el ETE contenido en los tubos en Baño de María se transfirió a un par de tubos Eppendorff de 1.5 ml a partir de agregarle 2 ml de éter dietílico y se dejó evaporar el disolvente orgánico a sequedad. Los tubos Eppendorff con el ETE se almacenaron en un lugar fresco y protegidos de la luz hasta la cuantificación de los contenidos de esteroides sexuales

4.3.2 Inmunoensayo enzimático (EIA).

Para conocer la concentración de P4 y E2 presentes en las heces se usó una técnica inmunoenzimática (EIA). Utilizando kits Active Progesterone EIA DSL-10-3900 y Active Estradiol EIA DSL-10-4300 (Diagnostic System Laboratories, Inc., Wester, Texas, USA.). Se prepararon los extractos esteroidales para su análisis agregándoles 50 µl de etanol al 100 % y 200 µl de agua bidestilada, agitándolos por vortex hasta reconstituir el extracto (Pérez, 2005). Para la cuantificación de los esteroides se usó un Lector de Microplaca Stat Fax-303 Plus, con un rango de onda de 400 a 750 nm.

4.3.3 Validación de los ensayos de EIA para progesterona y estradiol fecal.

Las sensibilidad reportada por DSL Active EIA para ambos ensayos fue de 7 pg/ml para E2 y 0.13 ng/ml para P4; el coeficiente de variación (CV) intraensayo para E2 fue 4.1% y para P4 4.5% y el CV interensayo para E2 fue 7.2% y para P4 4.4 %.

Los ensayos fueron validados de acuerdo a lo reportado por McGeehan et al. (2002) y Schoenecker et al. (2004) para las borregas cimarrón por la constatación del paralelismo de una dilución seriada tanto de un extracto de estradiol (fase folicular) ($r=.97$) y otro de progesterona (gestante) ($r=.98$) con la curva estándar de cada ensayo

4.4 Análisis de los datos.

Para determinar la duración promedio del ciclo estral, se calculó en días de forma progresiva la duración de cada uno de los ciclos observados en cada una de las hembras cimarrón tomando como referencia la monta y el pico del estradiol. De esta manera, se calculó el promedio de la concentración de cada hormona de cada día y de cada una de las cuatro hembras que formaron parte de esta

investigación. De forma similar, se determinó la duración tanto de la gestación como del anestro estacional con la única variación de que el promedio de los niveles hormonales se hizo semanalmente durante cada etapa.

La frecuencia de las conductas reproductivas (proceptivas y receptivas) se promediaron en cada uno de los 5 días en los que se observaron durante los ciclos estrales. Por otro lado, los estados de conducta (descanso, locomoción y vigilancia) se promediaron diariamente durante el ciclo estral, y semanalmente durante la gestación y el anestro estacional.

Para el análisis de los datos se realizó una correlación lineal simple de Pearson (Daniel, 2002), con el siguiente modelo estadístico: $Y_t = \beta t + \alpha + E_t$, con el paquete SAS System Version 8 (2000) para determinar la correlación entre la concentración de los esteroides reproductivos (progesterona P4 y estradiol E2, fecales) y la frecuencia de las conductas reproductivas, así como su relación también con las conductas de descanso, locomoción y vigilancia en las diferentes etapas reproductivas de las borregas cimarrón durante todo el año de observación.

V. RESULTADOS

5.1 Etapas reproductivas del borrego cimarrón.

Mediante la observación de la conducta reproductiva y la cuantificación de los esteroides reproductivos fecales se pudieron determinar la etapas reproductivas (estro, gestación y anestro estacional) de las borregas cimarronas (n=4) a lo largo de un año, en condiciones de cautiverio, en el Zoológico de Chapultepec (Cuadro 3).

Cuadro 3. Etapas reproductivas del borrego cimarrón en el Zoológico de Chapultepec.

JUL	AGO	SEPT	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN
PROCESO REPRODUCTIVO											
EPOCA REPRODUCTIVA								ANESTRO			
GESTACIÓN											
PARTOS / LACTACIÓN							PARTOS / LACTACIÓN				
VERANO			OTOÑO			INVIERNO			PRIMAVERA		
JUL	AGO	SEPT	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN

5.1.1 Época reproductiva.

En el presente estudio que inició en julio de 2003 y concluyó en julio de 2004 se observó que la temporada reproductiva de los borregos cimarrón tuvo una duración de 8 meses, esta comenzó en el mes de junio de 2003; lo anterior debido a que una de las hembras se encontraba preñada (diagnosticada por

ultrasonografía, en el mes de septiembre del mismo año, con 3 meses de progreso) al comienzo de la investigación. La época reproductiva se extendió hasta el mes de febrero de 2004 donde se suscitaron las últimas manifestaciones reproductivas de los ejemplares. Las conductas de estro en las hembras, se observaron de manera cíclica, durante los 8 meses que duró esta época. Durante este periodo se pudieron observar 6 montas durante el horario de observación (9:00 a 12:00 hrs). Sin embargo, al analizar el perfil hormonal de toda la temporada de las tres de hembras repetidoras se encontró evidencia de 7 estros más, los cuales pudieron culminar con la monta durante la tarde, fuera del horario de monitoreo.

5.1.2 Gestación.

La gestación de las borregas tuvo una duración de 6 meses, dos hembras llegaron a término con el nacimiento de una cría viva cada una de ellas. Una de las crías murió el mismo día que nació. Las dos hembras restantes presentaron un patrón hormonal y conductual sugerente de una gestación durante algunos meses pero no se observó la presencia de alguna nueva cría.

5.1.3 Época no reproductiva o anestro.

Llegado el mes de marzo de 2004 y hasta el mes de junio del mismo año ya no se observaron las conductas reproductivas por parte de las hembras sugerentes de estro lo cual definió el establecimiento de la época no reproductiva o de anestro. En el caso de la hembra que parió y se le murió la cría el mismo día de nacida no volvió a ciclar aunque esto ocurriera en el mes de diciembre, en plena época reproductiva, ya no entró en estro nuevamente. En esta etapa que duró cuatro meses los ejemplares ocuparon gran parte del tiempo para el descanso.

5.1.4 Partos y lactación.

La hembra que se encontraba gestante al comienzo de este trabajo parió una cría en el mes de diciembre de 2003. La cría murió de encefalitis el mismo día de nacida. Aunque el parto ocurrió en plena época reproductiva y no hubo un periodo de lactación, la hembra no volvió a presentar conductas de estro. Otra de las hembras parió una cría hembra en agosto de 2004, ya concluido este trabajo. El periodo de lactación de esta hembra fue de 5 y 6 meses, de los cuales 3 a 4 meses fue alimentada con leche de forma estricta y los meses restantes la cría alternó la leche materna con el consumo de alimento sólido.

5.2 Perfil hormonal reproductivo.

5.2.1 Época reproductiva.

Para explicar el patrón hormonal durante el ciclo estral se definió como día "0" el día en que se observó la monta, mismo en que se observó un pico en la concentración de estradiol fecal. La duración del ciclo fue de 29 ± 5 días.

a) Estradiol (E2).

El patrón de secreción del estradiol fecal es de tipo ondulatorio entre los dos picos máximos consecutivos que se encuentran en un ciclo estral. Se pudo observar un notable incremento en las concentraciones de E2 fecal que comenzó el día 14 del ciclo estral y llegó a su máximo en el día "0", un patrón que presumiblemente describe el proceso de maduración de los folículos ováricos que precede a la ovulación. Del día 14 al 28 la concentración se encontró en un promedio de 0.757 (rango: 0.617 - 0.896) ng/g de heces. El día "0" del ciclo se observó un pico máximo en la concentración que alcanzó en promedio 1.223 ng/g

de heces. Posteriormente, 24 horas después se observó un dramático decremento en la concentración que llegó hasta 0.691 ng/g de heces. A diferencia: del día 1 al 13 del ciclo se observaron las concentraciones más bajas de esta hormona teniendo un promedio de 0.581 (rango: 0.448 y 0.714) ng/g de heces (Fig. 1).

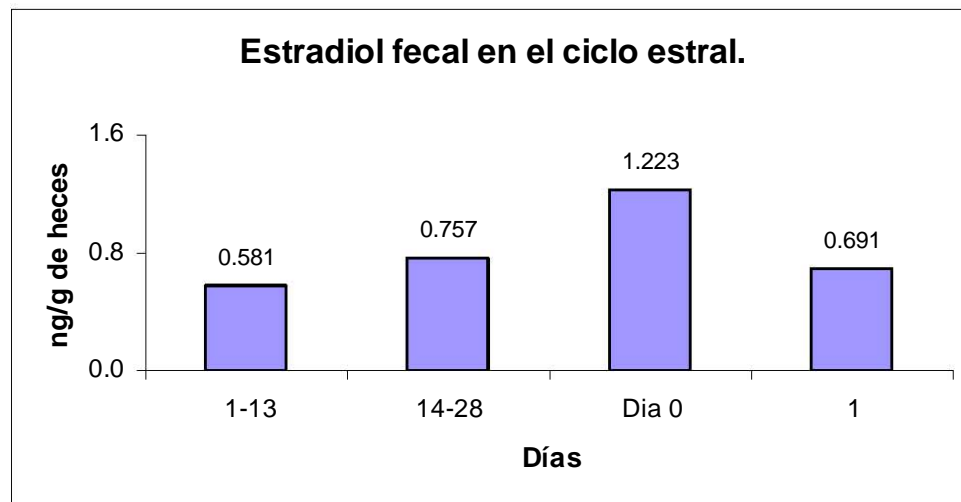


Fig. 1 Concentración promedio del estradiol fecal durante el ciclo estral.

b) Progesterona (P4)

Las concentraciones de progesterona fecal se mantuvieron con un ligero aumento desde el día 1 hasta el 27 del ciclo estral alcanzando un pico máximo en el día 28, previo al pico de estradiol fecal en el día "0". Del día 15 al 27 la concentración de P4 fecal se mantuvo en una media de 85 (rango: 43 - 127) ng/g de heces. El día 28 se observó un pico en la concentración de 211 ng/g de heces, en promedio. Posteriormente, 48 horas después, se notó un dramático decremento en la concentración hasta llegar a 81 ng/g de heces. Por último, del día 1 al 14 del ciclo se observaron concentraciones en promedio de 61 (rango: 37 - 85) ng/g de heces (Fig. 2).

Tanto el patrón de secreción de P4 y estradiol fecales tuvieron una correlación positiva ($P < 0.001$) durante el ciclo estral.

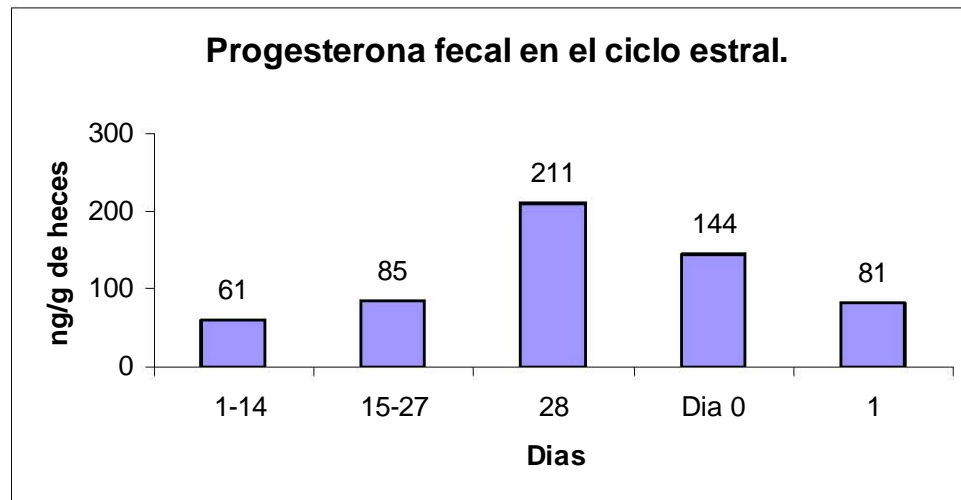


Fig. 2 Concentración promedio de la progesterona fecal durante el ciclo estral.

5.2.2 Gestación

Durante el primer tercio las concentraciones de progesterona fecal se mantuvieron en un promedio de 363 (rango: 278 – 448) ng/g de heces, en el segundo la concentración media aumentó a 442 (rango: 394 – 490) ng/g de heces y en el último tercio se mantuvo en aumento hasta la última semana de gestación en un rango de 484 a 710 ng/g de heces, con una media de 597 ng/g de heces (Fig. 3). Este patrón hormonal está correlacionado significativamente ($P < 0.001$) con la conducta de descanso durante la gestación. En el parto la concentración de progesterona disminuye dramáticamente a valores menores de 70 ng/g de heces.

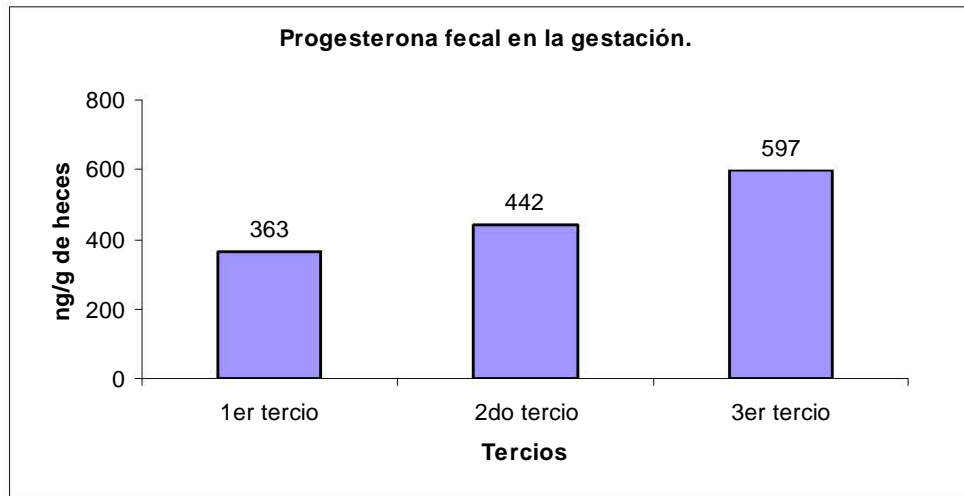


Fig. 3 Concentración promedio de la progesterona fecal durante la gestación.

Por otro lado, las concentraciones de estradiol en el primer tercio estuvieron en un promedio de 0.649 (rango: 0.434 – 864) ng/g de heces, disminuyendo progresivamente hacia el segundo tercio donde alcanzaron una media de 0.534 (rango: 0.364 – 0.704) ng/g de heces y por último en el tercer tercio se observó un aumento en la concentración con un promedio de 0.783 (rango: 0.517 – 1.049) ng/g de heces (Fig. 4), en la última semana de gestación se observó un incremento de esta hormona que llegó hasta los 1.300 ng/g de heces y luego descendió hasta 0.926 ng/g de heces. El patrón de secreción del estradiol fecal estuvo correlacionado significativamente ($P < 0.005$) con los niveles de la progesterona fecal durante la gestación.

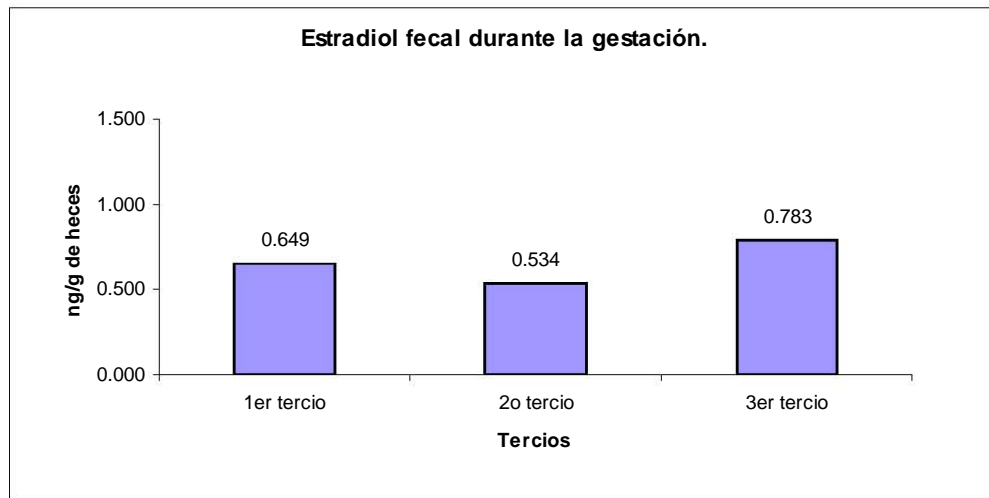


Fig. 4 Concentración promedio del estradiol fecal durante la gestación.

5.2.3 Época no reproductiva

Durante la época no reproductiva o anestro estacional la concentración de progesterona fecal alcanzó sus niveles más bajos (65 ± 15 ng/g de heces) observados durante todo el año. Las concentraciones del estradiol fecal también fueron basales (0.318 ± 0.66 ng/g de heces) (Fig. 5).

Durante este periodo no se encontró correlación alguna con respecto al patrón de secreción de las dos hormonas.

Solo en el patrón hormonal anual de una hembra se pudo observar el clásico aumento de estradiol (0.672 ng/g de heces) sin el aumento previo de progesterona que indica el comienzo con la época reproductiva con un estro silencioso u ovulación silenciosa en los ovinos.

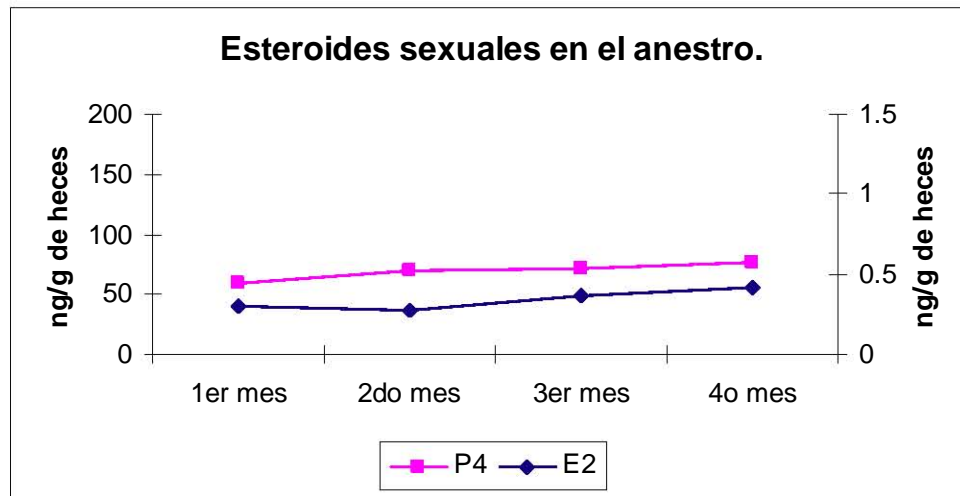


Fig. 5 Concentración promedio de los esteroides sexuales fecales en el anestro.

5.3 Medición de la Conducta

5.3.1 Época reproductiva: Ciclo estral.

a) Conductas proceptivas y receptoras.

Las conductas proceptivas de las hembras se observaron por 5 días alrededor del día "0", comenzando el día 27 y culminando el día 2 del ciclo estral. El día 27 estas conductas tuvieron una frecuencia de 0.67 por hora, incrementándose el día 28 con una frecuencia de 1.25 por hora y, alcanzando su clímax el día 0 con una frecuencia de 2.05 por hora. Posteriormente disminuyó su frecuencia a 0.65 por hora el día 1 y para el día siguiente se observó una frecuencia de 0.67 por hora (Fig. 6).

Las conductas receptoras que incluyeron exclusivamente la aceptación de la monta por parte de la hembra se observaron solamente el día 0 del ciclo con una frecuencia de 0.44 por hora (Fig. 6).

Las conductas proceptivas y receptivas de la hembra estuvieron correlacionadas significativamente ($P < 0.001$) con el patrón del estradiol fecal observado durante el ciclo estral.

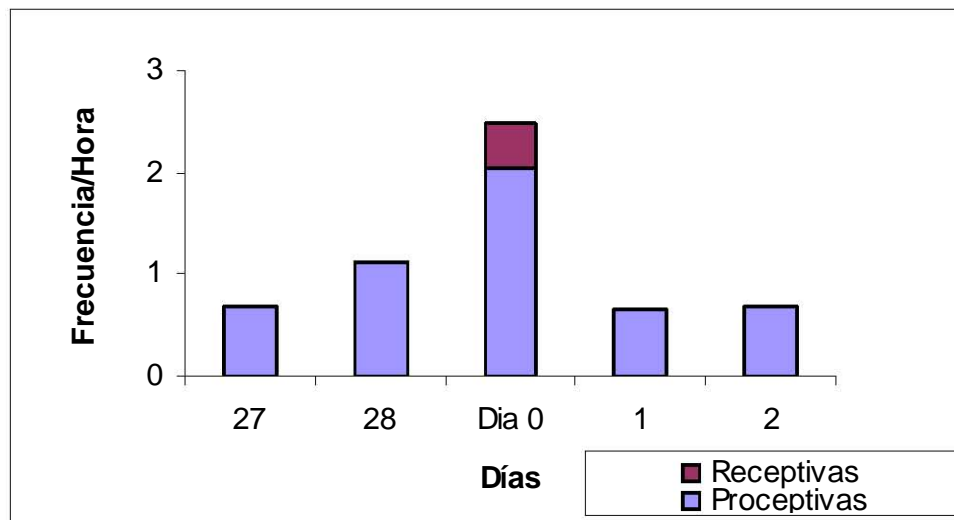


Fig. 6 Frecuencia promedio de las conductas reproductivas en el ciclo estral.

b) Estados de comportamiento durante el ciclo estral.

La locomoción tuvo una tendencia a correlacionarse significativamente ($P < 0.053$) con el perfil del estradiol fecal durante el ciclo. La locomoción aumentó conforme se acercaba el estro, los días 27 y 28 se observó un 12 y 11 % respectivamente y en el día "0" aumentó hasta un 14%, volviendo a disminuir los días 1 y 2 del ciclo a 13 y 11 %, respectivamente.

La conducta de descanso si estuvo correlacionada significativamente ($P < 0.001$) con el patrón de secreción de la P4 fecal. El descanso disminuyó conforme se acercaba el día "0" del ciclo, los días 27 y 28 los ejemplares descansaron 33 y 30% del tiempo de observación respectivamente, el día "0" las hembras descansaron solo el 26 % del tiempo.

La conducta de vigilancia no se encontró correlacionada estadísticamente con ninguna de las hormonas sexuales. Pero ésta fue en aumento desde el día 27 y 28, en los cuales se observó un 15 y 19 % respectivamente. En el día 0 se observó un 22% y el día 1 y 2 se observó un 20 y 21% respectivamente (Fig. 7).

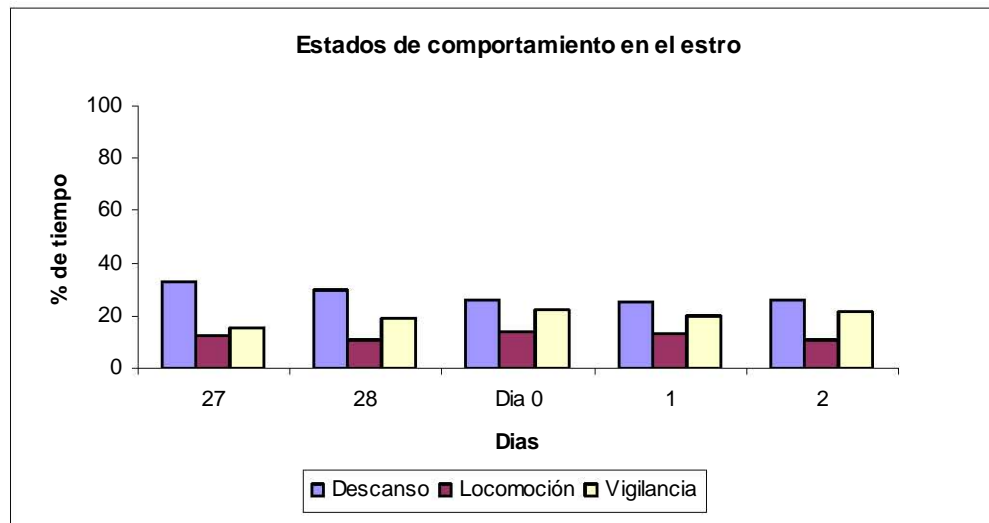


Fig. 7 Porcentaje de los estados de comportamiento durante el ciclo estral.

5.3.2 Gestación

El tiempo que ocuparon las hembras para el descanso va en aumento conforme transcurre la gestación y aumentan las concentraciones de progesterona fecal ($P < 0.001$). Durante el primer tercio ocuparon entre el 10 y 24% del tiempo, en el segundo tercio alcanzaron entre el 13 y 26% y para el último tercio llegó hasta a un rango de 19 a 49% del tiempo.

La locomoción por el contrario fue en decremento a lo largo de la gestación, en el primer tercio ocuparon entre el 9 y 28% del tiempo, durante el segundo tercio

disminuyó hasta un rango entre 9 y 22% y para el último tercio cayó hasta un rango de 12 a 17 % del tiempo.

La actividad de vigilancia se mantuvo constante durante todo el periodo de gestación, en el primer tercio ocuparon entre el 9 y 19%, en el segundo tercio entre el 12 y 17% y en el tercer tercio entre el 10 y 18% del tiempo (Fig. 8).

La locomoción ni la conducta de vigilancia tuvieron una correlación estadística con el patrón hormonal sexual durante la gestación.

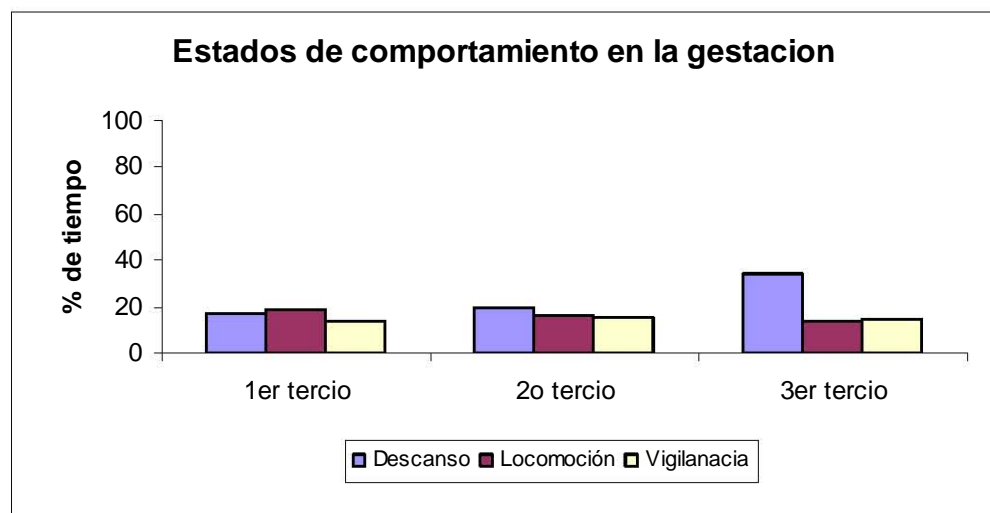


Fig. 8 Porcentaje de los estados de comportamiento en la gestación.

5.3.3 Anestro estacional.

Durante esta etapa las hembras pasaron la mayor parte del tiempo descansando ocupando entre el 24 y 38%, la segunda actividad en importancia fue la de vigilancia ocupando entre el 10 y 27% del tiempo y entre el 7 y 17% del tiempo para desplazarse (Fig. 9). Ninguna de estas pautas de conducta estuvo

correlacionada estadísticamente con el patrón hormonal tanto de la P4 y el E2 fecales.

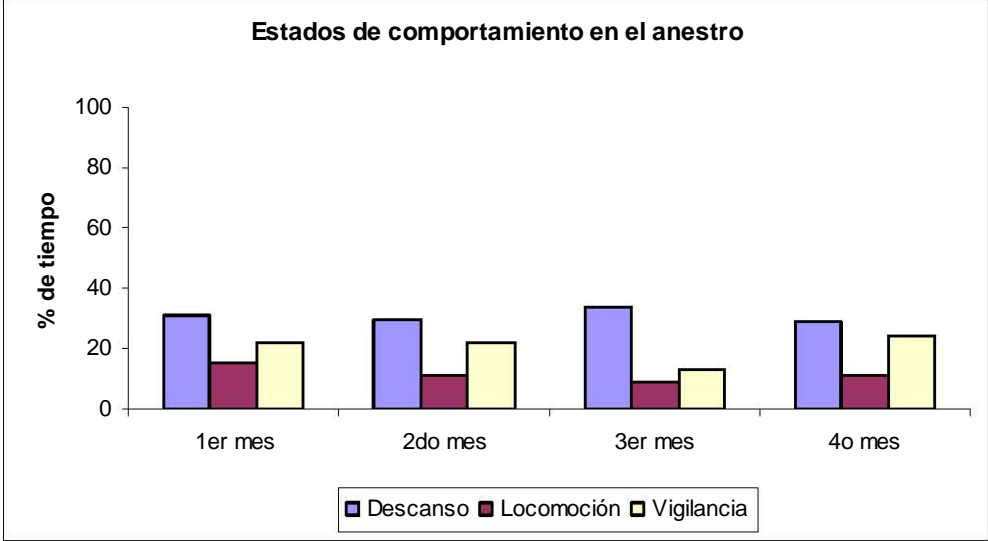


Fig. 9 Porcentaje de los estados de comportamiento en el anestro.

VI. DISCUSIÓN.

6.1 Etapas reproductivas del Borrego cimarrón.

Durante el periodo reproductivo las borregas cimarrón son poliésticas estacionales, en este estudio, fue más extendido (con un total de 8 meses), comenzando en Junio y se extiende hasta Febrero difiriendo con lo reportado por Monson y Sumner en sus estudios en EUA en 1980 con *Ovis canadensis canadensis*, quienes describen una duración de la estación reproductiva de 6 meses, comenzando en Julio y terminando en Diciembre; pero coincidiendo con dicho autores en cuanto que se observa un clímax durante el otoño. Por su parte Schoenecker et al. (2004) mencionan que en el estado de Montana USA, el clímax de la época reproductiva es en noviembre para los *Ovis canadensis canadensis*; La alargamiento de la época reproductiva por lo mencionado por Bronson (1980), puede deberse principalmente al efecto del fotoperiodo en las hembras, el cual a una latitud al sur como es la de la Ciudad de México su fluctuación no es tan marcada a lo largo del año, como lo es en su lugar de origen que se encuentra más al norte. Otros factores que influyen para que la época reproductiva sea más larga son la alimentación balanceada proporcionada en el zoológico, que los mantiene en balance energético positivo durante más tiempo y la modificación de la estructura del hato (Mercado et al. 2001).

Monson y Sumner (1980) mencionan que la duración del ciclo estral de las borregas cimarronas es de 28 días, calculado mediante observaciones conductuales (intervalo entre una monta y otra). En el presente estudio se encontró algo similar: una duración de 29 días en promedio.

Debido a lo prolongado de la época reproductiva, el anestro estacional es más corto con una duración de solo 4 meses, entre los cuales se encuentran Marzo, Abril y Mayo que son los meses con mayor cantidad de horas luz, las

cuales deprimen de forma drástica la expresión reproductiva en las hembras (Lincoln, 1992).

La gestación tuvo una duración de 180 días coincidiendo con los estudios previos de Monson y Sumner (1980), Borjesson et al. (1996) y Schoenecker et al. (2004); sin embargo estos estudios no concuerdan con lo encontrado en este estudio, ya que las gestaciones transcurrieron durante todo el año y no se observan principalmente en invierno o hasta comienzos de primavera como lo mencionan dichos autores, así mismo el periodo de lactación es de 5 a 6 meses terminando hasta el verano, a diferencia de lo reportado por Schoenecker et al., (2004) que mencionan que los partos son en primavera.

6.2 Perfil hormonal reproductivo.

6.2.1 Época reproductiva: Ciclo estral.

En estudios anteriores se han limitado a la evaluación de una sola hormona reproductiva como el pregnandiol fecal (Borjesson et al., 1996; Schoenecker et al., 2004) para la detección de preñez en borregas cimarrón en campo y semicautiverio; o progesterona fecal, Rodríguez (en prensa), para determinar el ciclo estral, pero no existe un trabajo previo donde hayan sido evaluados conjuntamente los patrones hormonales de estrógenos y progestinas fecales durante el ciclo estral.

En este trabajo se pudo encontrar que el patrón de esteroides fecales reproductivos en las borregas cimarronas es similar a lo reportado por Caraty et al., (2005) en sus estudios con borregas domésticas donde se observa un incremento en la concentración de progesterona previo al pico de estradiol. En el presente estudio este incremento se observa 24 horas antes del pico máximo de estradiol. Este patrón hormonal es importante en los ovinos para la expresión

completa de la conducta de estro y la preparación del útero para una posible gestación (Caraty, et al., 1999; 1998; 2002; Fabre-Nys et al., 1993;1998)

6.2.2 Gestación

La duración de la gestación en este trabajo fue de 24 semanas coincidiendo con los trabajos de Borjenson (1996) y de Schoenecker (2004). El patrón hormonal encontrado por estos autores con pregnandiol-3 α -glucurónido (PdG) fecal en el cual aumentan las concentraciones conforme avanza la gestación, coincide con lo encontrado en este estudio con progesterona (P4) fecal, sin embargo las concentraciones son diferentes, las de PdG fecal van en un rango de 3000 a 18000 ng/g, mientras que las de P4 encontradas en este trabajo van de 100 a 710 ng/g, esto puede deberse a las diferencias en la técnica de extracción y obviamente a la polaridad del esteroide.

6.2.3 Época no reproductiva.

Durante la época no reproductiva o anestro estacional, la concentración tanto de progesterona como de estradiol fecales se encuentran en su nivel mínimo o basal, como fiel reflejo de la inactividad gonadal. No existen trabajos previos en donde se haya evaluado la concentración de estas dos hormonas en los cimarrones, existen datos que indican este mismo patrón de secreción de progesterona en venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) (Mercado et al., 2001) y venado sika (*Cervus nippon*) (Hamasaki et al., 2001 y Takahashi, et al., 2002).

6.3 Conducta reproductiva

6.3.1 Ciclo estral.

La secuencia de conductas reproductivas que exhibieron los borregos cimarrones en general fue similar a lo reportado en borregos domésticos por Lynch et al., en 1992, brevemente, comenzando con el acercamiento del macho, el olfateo de la vulva o la orina y el flehmen; el comienzo del cortejo hasta su culminación con la monta. En el caso particular de las hembras, se observó claramente su interacción en el proceso de cortejo; sin embargo no se observó de manera significativa el banderilleo con la cola, característico de los ovinos.

Por otro lado, la locomoción se vio aumentada durante los días en que las hembras se encontraban en estro, lo anterior coincide con lo descrito en diversas especies en estudios de etología y endocrinología por Pfaff, (2005); Fabre-Nys, (1998) y Ogawa et al., (2003).

6.3.2 Gestación.

Conforme avanzó la gestación la actividad de las hembras fue disminuyendo gradualmente hasta llegar el parto. Lo anterior se debe al efecto endócrino de la progesterona sobre el hipotálamo para disminuir la actividad, como lo mencionan en varios estudios Pfaff, (2005) y Yen et al., (2001) quienes mencionan que la progesterona ejerce un estado de analgesia en la hembra con el objeto natural de proteger al producto.

6.3.3 Época no reproductiva.

En esta época del año las hembras tendieron a ser menos activas, la conducta de descanso ocupó la mayor parte del tiempo con respecto a la vigilancia y el desplazamiento. Ninguna de estas conductas tuvo correlación estadística con el patrón hormonal del E2 y la P4, esto puede indicar que en el anestro la conducta no está influenciada por dichas hormonas. Este periodo no se ha descrito en estudios anteriores.

CONCLUSIONES.

El cambio de los factores ambientales, principalmente la duración de las horas luz durante el día, influencia en gran medida la duración de la época reproductiva en los borregos cimarrones. En latitudes más al sur como es el caso de la ciudad de México ésta es mayor con respecto a las zonas del norte (Sonora y Baja California, México y Arizona y Texas en EUA) de las cuales son originarias los borregos cimarrones, el fotoperiodo juega el papel más importante, ya que en lugares más ecuatoriales no es muy pronunciado provocando en los animales la secreción de melatonina de forma más temprana y con ello activar el eje-hipotálamo-gonadal para dar comienzo a la época reproductiva. Debido a lo anterior se modifica también la distribución del resto de las etapas fisiológicas de los animales a lo largo del año siendo ciertamente diferente a lo que se observa en su lugar de origen y en vida libre.

Se pudo determinar el patrón hormonal del estradiol y progesterona fecales cuantificados por EIA, los cuales indicaron la actividad gonadal durante la época reproductiva y la ausencia de ésta durante el anestro estacional. Se pudo observar la relación que guardan estas dos hormonas durante las etapas reproductivas de las hembras, en el estro se observa además de los picos de estradiol un aumento de la progesterona el cual en los ovinos es importante para la completa expresión de la conducta reproductiva. En el caso de la gestación se observa claramente un mayor incremento de la P4 fecal durante a partir del tercer mes de gestación hasta el parto debido presumiblemente a la participación de la placenta en la producción de esta hormona para mantener la gestación.

Las conductas reproductivas observadas durante la época reproductiva estuvieron significativamente influenciadas por las hormonas reproductivas. Los picos del estradiol fecal se encontraron el mismo día en el que se observaron las montas y la locomoción tuvo una tendencia a aumentar cuando se acercaba el

estro. Sin embargo, en este trabajo, no se encontró ninguna relación estadística entre las pautas de conducta (descanso, locomoción y vigilancia) con el patrón de secreción del E2 y P4 fecales durante el anestro estacional.

El monitoreo no invasivo mediante la observación conductual y la cuantificación de las hormonas reproductivas en heces mediante la utilización de una técnica de EIA comercial es de gran valor y aplicación para los borregos cimarrones debido a que se obtiene información valiosa, de forma segura para el animal y para el investigador, reduciendo el estrés que es uno de los principales factores que deprimen la reproducción en cualquier individuo y para el investigador le aporta mayor confiabilidad en la toma de sus datos. Con los resultados de este trabajo se puede planear el manejo reproductivo de los animales a lo largo del año preparando insumos e instalaciones para cada época y lograr optimizar los recursos disponibles y mantener la salud reproductiva del hato.

VII. REFERENCIAS.

1. Ayala C. S. y Martínez G. R. 2001. Desarrollo de una metodología para determinar los niveles de hormonas esteroides (P4, T, E2) en excretas de la población de borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) en la Sierra de San Pedro Mártir, Baja California, México. Memorias del congreso del Consejo de Borrego cimarrón (2001). 190-207.
2. Ayala C. S. 2003. Estrés fisiológico relacionado con la Dinámica Reproductiva del Borrego Cimarrón *Ovis canadensis cremnobates*, en la Sierra San Pedro Mártir, Baja California, México. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UABC.
3. Babol J. Squires E. J. and Bonneau M. 1996. Factors Regulating the Concentrations of 16-Androstene Stereoids in Submaxillary Salivary Glands of Pigs. *J. Anim. Sci.* 74:413-419
4. Bakker J., Honda S., Harada N. and Balthazart J. 2002. The aromatase Knock-Out Mouse Provides New Evidence That Estradiol is Required during Development in the Female for the Expression of Sociosexual Behaviors Adulthood. *The Journal of Neurosciences.* 22(20):9104-9112
5. Borjesson D. L., Boyce W. M., Gardner I. A., DeForge J., Lasley B. 1996. Pregnancy detection in bighorn sheep (*Ovis canadensis*) using fecal-based enzyme immunoassay. *J. Wildl. Dis.* Jan;32(1):67-74
6. Bronson F. H. 1989. Mammalian reproductive biology. The University of Chicago Press. Chicago and London. 35-38
7. Brown J., Graham L., Wielebnowski N., Swason W., Wildt D., and Howard J. 2001. Understanding the basic reproductive biology of wild felids by monitoring of faecal steroids. *J. Repro Fertil suppl* 57;71-82
8. Caraty A., Fabre-Nys C., Delaleu B., Locatelli A., Bruneau G. and Karsch F. 1998. Evidence That the Mediobasal Hypothalamus Is the Primary Site of Action of Estradiol in Inducing the Preovulatory Gonadotropin Releasing Hormone Surge in the Ewe. *Endocrinology.* 139 (4): 1752-1760

9. Caraty A., Delaleu B., Chesneau D. and Fabre-Nys C. 2005. Sequential Role of E2 and GnRH for the Expression of Estrous Behavior in Ewes. *Endocrinology* 143(1):139-145
10. Caraty A. and Skinner D. 1999. Progesterone Priming Is Essential for the Full Expression of the Positive Feedback Effect of Estradiol in Inducing the Preovulatory Gonadotropin-Releasing Hormone Surge in the Ewe. *Endocrinology*. Vol. 140. No. 1. 165-170
11. Carpenter A. 2002. Antibody-Based Methods. In *Manual of clinical laboratory immunology*. 6TH Edition. Rose N., Hamilton R., Detrick B. Editors. ASM Press. Washington DC. Pp: 19
12. Christenson L. and Devoto L. 2003. Cholesterol transport and steroidogenesis by the corpus luteum. *Reprod Biol Endocrinol*. 1: 90
13. Coltman D., Festa-Bianchet M., Jorgenson J. and Strobeck C. 2002. Age-dependent sexual selection in bighorn rams. *Proc. R. Soc. Lond. B*. 269: 165-172
14. Cummings A. M. and Kavlock R. J. 2004. Function of Sexual Glands and Mechanism of Sex Differentiation. *The Journal of Toxicological Sciences*. Vol. 29, No. 3, 167-178
15. Daniel W. 2002. *Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud*. 4ed. México: Limusa.
16. Eaton-González R. y Martínez R. 2001. Análisis de la situación actual del conocimiento sobre Borrego Cimarrón Peninsular (*Ovis canadensis cremnobates*) y sus implicaciones para la conservación y el manejo en el estado de Baja California. *Memorias del Congreso del Consejo de Borrego Cimarrón*. 37-48
17. Fabre-Nys C., Martin G. and Vernier G. 1993. Analysis of the Hormonal Control of Female Sexual Behavior and the Preovulatory LH Surge in the Ewe: Roles of Quantity of Estradiol and Duration of its Presence. *Hormones and Behavior* 27: 108-121

18. Fabre-Nys C. 1998. Steroids control of monoamines in relation to sexual behaviour. *Reviews of Reproduction* 3, 31-41
19. Falkenstein E., Tillmann H., Christ M., Feuring M. and Wehling M. 2000. Multiple Actions of Steroids Hormones- A Focus on Rapid, Nongenomic Effects. *Pharmacol Rev* 52:513–555
20. Graham L., Schwarzenberger F., Möstl E., Galama W., Savage A. 2001. A versatile enzyme immunoassay for the determination of progestogens in feces and serum. *Zoo biology* 20:227-236
21. Gray A., Bartol F., Tarleton B., Wiley A., Johnson G., Bazer F. and Spencer T. 2001. Developmental Biology of Uterine Glands. *Biology of Reproduction*: 65, 1311-1323
22. Gual S. F., Pichard A. R., Holt W. V., and Green D. 1999. Preliminary Results of Non-invasive Monitoring of the Estrous Cycle in Female Asian Elephants (*Elephas maximus*) Through Fecal Steroid Analysis. In American association of Zoo Veterinarians. Proceedings. Annual Conference. Columbus, Ohio. Oct 9-14:87-92
23. Hafez E. y Hafez B. 2000. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 7ª Ed. Mc. Graw Hill. México.
24. Hamasaki S., Yamauchi K., Ohki T., Murakami M., Takahara Y., Takeuchi Y. and Mori Y. 2001. Comparison of Various Reproductive Status in Sika Deer (*Cervus nippon*) Using Fecal Steroids Analysis. *J. Vet. Med. Sci.* 63(2):195-198.
25. INEGI 1998. Cuaderno Estadístico Delegacional. Miguel Hidalgo. México D.F.: INEGI
26. Jiménez L. S., Hernández C. C., DeForge J. R. and Valdez R. 1996. Desert Bighorn Sheep Recovery Project in Baja California Sur, México. *Desert Bighorn Council Transactions* 40:8-12
27. Katz L. S. and McDonald T. J. 1992. Sexual Behavior of Farm Animals. *Theriogenology* 38:239-253

28. Lasley B. and Kirkpatrick F. 1991. Monitoring ovarian function in captive and free-ranging wildlife by means of urinary and fecal steroids. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 22(1):23-31
29. Lee R. M., and Mellink E. 1996. Status of Bighorn Sheep in Mexico. *Desert Bighorn Council Transactions* 40:35-39
30. Lincoln G. A. 1992 Photoperiod-pineal-hypothalamic relay in sheep. *Animal Reproduction Science*. 28: 203-217
31. Lindsay D R. 1988. Reproductive behavior in survival: a comparison between wild and domestic sheep. *Aust J Biol Sci* 41(1):97-102
32. López E., Paredes R., De Vos J., Lee R., Schweinsburg R., Rojero E., Valencia G., Villarreal A., Castillo C., Franco M., Solís T. 2001. Investigaciones del Borrego Cimarrón en la Reserva de la Biosfera del Pinacate y Gran Desierto de Altar. *Memorias del Congreso del Consejo de Borrego Cimarrón*. 246-255
33. Lynch J. J., Hinch G. N., Adams D. B. 1992. *The Behaviour of the Sheep. Biological Principles and Implications for Production*. CAB International and CSIRO Australia.
34. McGeehan L., Li X., Jackintell L., Huang S., Wang A., and Czekala N. 2002. Hormonal and Behavioral Correlates of Estrus in Captive Giant Pandas. *Zoo Biology* 21:449-466
35. Martin P. y Baterson P. 1986. *La medición del comportamiento*. Alianza Editorial. Madrid. España.
36. Mercado R. M., Ramos S. S., Blancas M. M., Mondragón P. C. y Tavizón G. J. Concentración de Progesterona en Heces de Hembra de Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus*) Durante el Ciclo Reproductivo en Cautiverio. 5^{as} Jornadas de Investigación. Universidad Autónoma de Zacatecas. 25 al 29 de Junio del 2001. BIO/UBE-12/027.
37. Monson G. and Sumner L. Ed. 1980. *The Desert Bighorn. Its Life History, Ecology and Management*. The University of Arizona Press. USA.

38. Montfort S., Schwartz C., Wasser S. 1993. Monitoring reproduction in captive moose using urinary and fecal steroid metabolites. *Journal Wildlife Management* 57 (2) 400-407.
39. Morrow C. and Montfort S. 1998. Ovarian activity in the scimitar-horned oryx (*Oryx dammah*) determined by faecal steroid analysis. *Animal reproduction Science* 53:191-207.
40. Nowak R. M. 1999. *Walker's Mammals of the World*. 6th ed. The Johns University Press. USA.
41. Ogawa S., Chan J., Gustafsson J., Korach K. and Pfaff D. 2003. Estrogen Increases Locomotor Activity in Mice through Estrogen receptor α : Specificity for the type of Activity. *Endocrinology*. 144(1): 230-239
42. Pérez G. L. 2005. Determinación del Estrés Fisiológico en Borrego Cimarrón (*Ovis canadensis*) Relacionado con el Manejo Extensivo en Sonora y Baja California Sur, México. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UABC.
43. Pfaff D. and Schwartz-Giblin S. 1988. In: *The Physiology of Reproduction*. Vol 2. Ed. Knobil E. and Neill J. Raven Press. New York. USA.
44. Pfaff D. 2005. Hormonal-driven mechanisms in the central nervous system facilitate the analysis of mammalian behaviours. *Journal of Endocrinology* 184, 447-453.
45. Réale D., Gallant B., Leblanc M. and Festa-Bianchet M. 2000. Consistency of temperament in bighorn ewes and correlates with behavior and life history. *Animal Behaviour*. 60: 589-597
46. Rius S. 1999. Estudio de otros compuestos relacionados con la presencia de olor sexual no atribuible al escatol y a la androstenona en grasa dorsal de cerdo. Tesis de Doctorado. Universitat de Girona. Institut de Receroa y Tecnologia Agroalimentàries.
47. Rodriguez H C. 2004. Determinación del Ciclo Estral en Borregas Cimarrón (*Ovis canadensis mexicana*) Mediante Observaciones Conductuales y Determinación de Progesterona en Heces. Tesis Licenciatura FMVZ. UNAM. En prensa.

48. Ruckstuhl K E. 1998. Foraging behaviour and sexual segregation in bighorn sheep. *Animal behaviour* 56:99-106
49. Salame-Méndez A., Castro-Campillo A., Salgado-Ugarte I., Mendieta-Márquez E., Herrera-Muñoz J. y Ramírez-Pulido J. 2004. Evaluación Estacional de la Producción de Esteroides Sexuales en Testículos del Ratón de Orejas Oscuras (*Peromyscus melanosis*, Allen & Champan, 1897) de diferentes clases de edad. *Acta Zoológica Mexicana (n.s.)* 20(2): 103-114
50. Schoenecker K. A., Lynda R. O. and Kirkpatrick J. 2004. Comparison of three fecal metabolites for pregnancy detection used with single sampling in bighorn sheep (*Ovis canadensis*). *Journal of Wildlife Disease*. 40(2): 473-281
51. Schwarzenberger F., Möstl E., Palme R., Bamberg E. 1996. Faecal steroid analysis for non-invasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals. *Animal Reproduction Science* 42:515-526.
52. Simoncini T. And Genazzani A. 2003. Non-genomic actions of sex steroids hormones. *European Journal of Endocrinology* 148: 281–292
53. Spencer T., Gray A., Johnson G., Taylor K., Gertler A., Gootwine E., Ott T. and Bazer F. 1999. Effects of Recombinant Ovine Interferon Tau, Placental Lactogen, and Growth Hormone on the Ovine Uterus. *Biology of Reproduction*. 61: 1409-1418
54. Stabenfeldt G. 1993. The hormones of reproduction. In *Reproduction in domesticated animals*. King G. Editor. Elsevier Science Publishers. USA. Pp: 70.
55. Stocco D. 2000. The Role of the StAR protein in steroidogenesis: challenges for the future. *Journal of endocrinology*. 164: 247-253
56. Takahashi T., Hamanaka S. and Hashizume K. 2002. Fecal Progesterone Analysis by Time-Resolved Fluoroimmunoassay (TR-FIA) for Monitoring of Luteal Function in the Sika Doe (*Cervus nippon centralis*). *J. Vet. Med Sci*. 64(7): 565-569
57. Theodosiadou E., Goulas P., Kouskoura Th., Smokovitis A. 2004. Oestrogen and progesterone concentrations in plasma and oviductal tissue of ewes

exhibiting a natural or induced oestrus. *Animal Reproduction Science* 80: 59-67

58. Thiery J. C. and Malpoux B. 2003. Seasonal Regulation of Reproductive Activity in Sheep. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1007: 169-175
59. Yen S., Haffe R. y Barbier R. 2001. *Endocrinología de la Reproducción*. 4ª Ed. Médica Panamericana. Madrid. España.

APÉNDICE I

Catálogo de Conductas Evaluadas para Borregos Cimarrón

La presente descripción de las pautas de comportamiento se obtuvieron con una observación preliminar *-ad líbitum-* de la conducta de los borregos cimarrones por Rodríguez (2004) y se revisó con lo reportado por Lindsay, (1988) y Lynch et al., (1992).

I. Conductas de Vocalización.

1. Balido (Bal). Vocalización fuerte o ronca emitida por los machos, principalmente por el macho dominante. Las hembras y las crías pueden emitir balidos más sutiles.

II. Conductas de afiliación sexual:

Para fines de este trabajo, se describen las pautas de comportamiento de afiliación sexual haciendo hincapié en el papel de la hembra, con respecto a la del macho.

Hembras:

1. Presentación de genitales (Pre/Gen): la hembra presenta la región genital al macho para que la olfatee, después de ello el macho ejecuta Flehmen.
2. Pateada (Pat). el macho se acerca a la hembra y realiza una combinación de pequeñas patadas en el costado de ella; esto sucede cuando el macho olfateó orina o los genitales de la hembra, previamente.
3. Acuclillarse y orinar (Ac/Orin): la hembra toma una postura en cuclillas y orina; esto generalmente ocurre después de que el macho la patea en el costado o le olfatea la región genital.
4. Banderilleo (Ban): la borrega eleva la cola y la mueve rápidamente en presencia del macho.
5. Seguida (Seg): la hembra es seguida por uno o más machos con gran interés, después de ser olfateada en los genitales o de ser pateada.
6. No permite monta (NP/Mont): la hembra no se queda quieta cuando el macho quiere montarla, todo queda en intentos de monta por parte del macho.
7. Acoplamiento (Acop): la hembra realiza algunos giros alrededor del macho, vuelve la cabeza hacia él y se acopla para facilitar la monta.
8. Montada (Mont): la borrega permanece quieta muy cerca del macho, entonces el macho puede montarla y copularla.

Machos:

9. Flehmen (Fle). el macho cuando huele orina u olfatea los genitales de una hembra lleva parte de estas secreciones con el labio superior cerca de los orificios nasales, mostrando los dientes, arqueando la cabeza hacia arriba.

III. Conductas de marcaje e imposición.

1. Marcar (Marc). Los machos orinan o frotan sus glándulas suboculares sobre madera o alimento, principalmente el macho dominante.
2. Combate (Comb). Cuando dos animales se retan frente a frente y se golpean con sus cuernos, el ganador es el dominante.

V. Conducta Individual.

1. Locomoción (Loc). Cuando un animal se desplaza de un lugar a otro por cualquier motivo; corre, camina o trepa las rocas.
2. Descanso (Desc). Cuando el animal permanece echado sobre su pecho con la cabeza en alto o sobre el piso.
3. Alimentación (Com). Ingestión de alimentos de manera voluntaria por el animal.
4. Alerta (Aler). Cuando el animal se encuentra sobre sus cuatro patas sin moverse, con la cabeza en alto y mueve constantemente las orejas levantadas.
5. Acicalamiento (Acic). Cuando un animal se frota su piel con sus labios, con otro borrego o con un objeto.
6. Agresión (Agre). Cuando un animal golpea a otro con los cuernos.
7. Huir (Huy). Cuando un animal rehuye una agresión o un combate.
8. Beber (Beb). Cuando el animal bebe agua voluntariamente.
9. Defecar (Def). Cuando el animal tiene acción de defecar.
10. Orinar (Orin). Micción prolongada por parte de los animales.
11. No avistado (NA). Cuando uno o más animales se encuentran fuera de alcance de nuestra vista

APÉNDICE II

PLANILLA DE OBSERVACIONES UTILIZADA EN BORREGAS CIMARRÓN “BARRIDOS Y FOCALES”

Observador: _____ Fecha: _____ Hoja: _____

HORA	EMISOR	CONDUCTA	RECEPTOR	CONDUCTA	CONSECUENCIA	DURACIÓN	NOTAS

I. Conductas de Vocalización.

Balido (Bal).

II. Conductas de afiliación sexual:

Hembras: Presentación de genitales (Pre/Gen). Pateada (Pat). Acuclillarse y orinar (Ac/Orin). Banderilleo (Ban).
Seguida (Seg). No permite monta (NP/Mont). Acoplamiento (Acop). Montada (Mont).

Machos: Flehmen (Fle).

III. Conductas de marcaje e imposición.

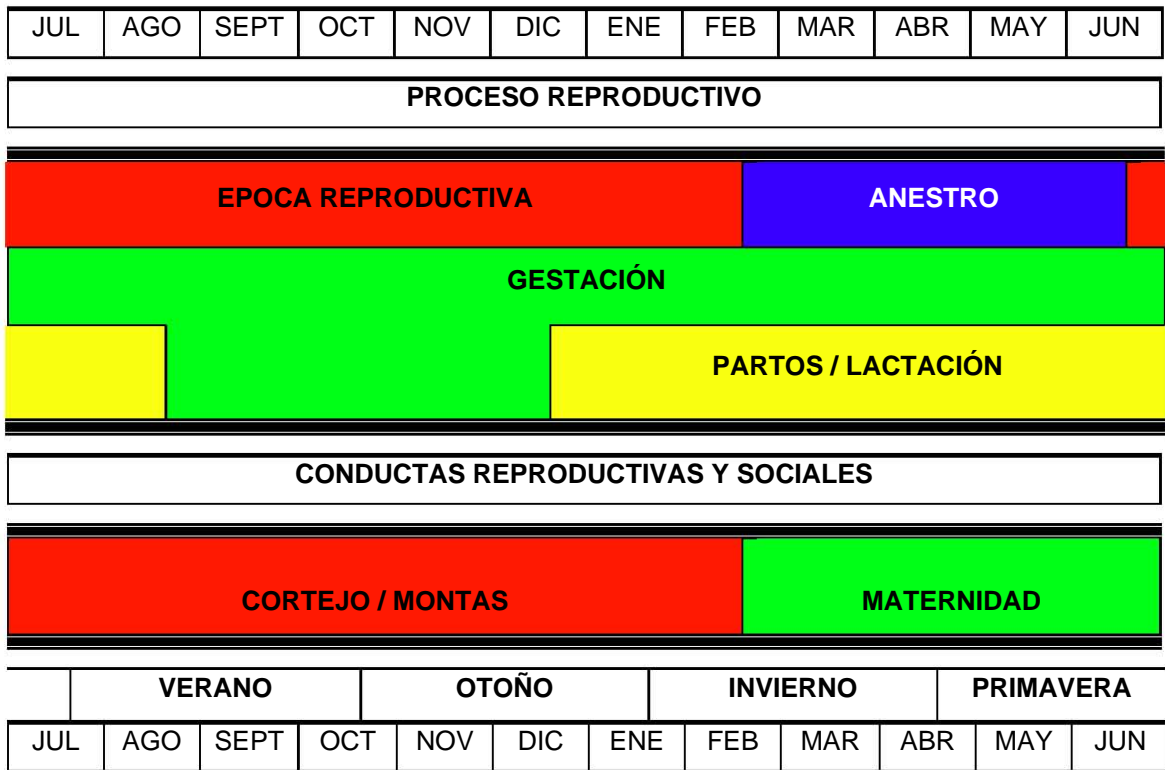
Marcas (Marc). Combate (Comb).

V. Conducta Individual.

Locomoción (Loc). Descanso (Desc). Alimentación (Com). Alerta (Aler). Acicalamiento (Acic).
Agresión (Agre). Huir (Huy). Beber (Beb). Defecar (Def). Orinar (Orin). No avistado (NA).

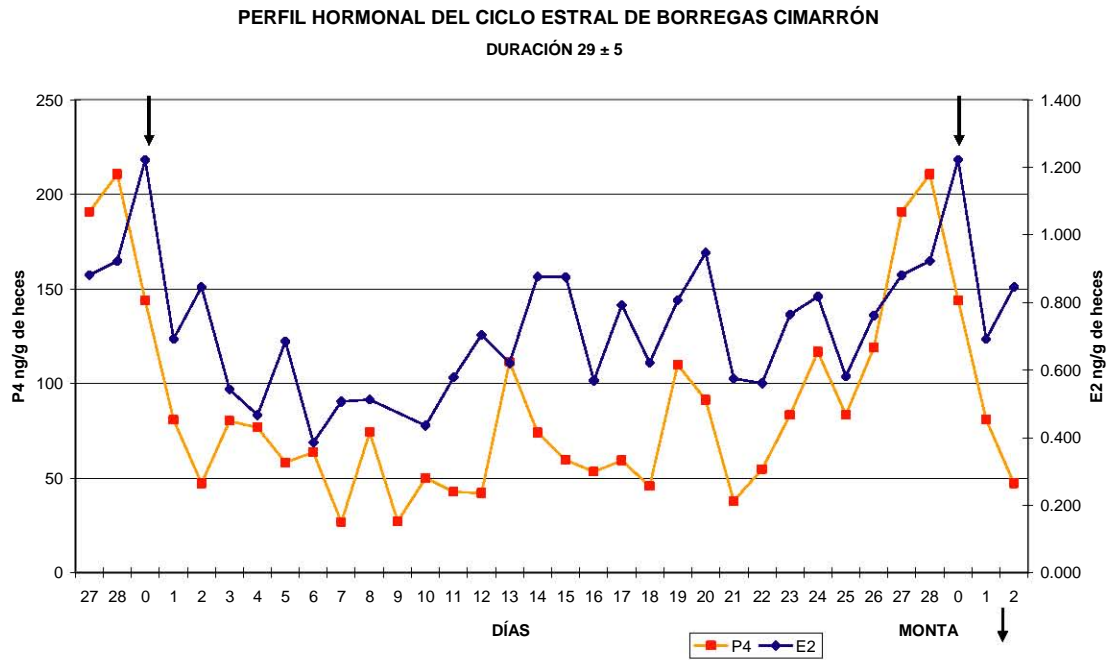
APÉNDICE III

Etapas y conducta reproductiva de 0.4 borregas cimarrón en cautiverio en el Zoológico de Chapultepec.



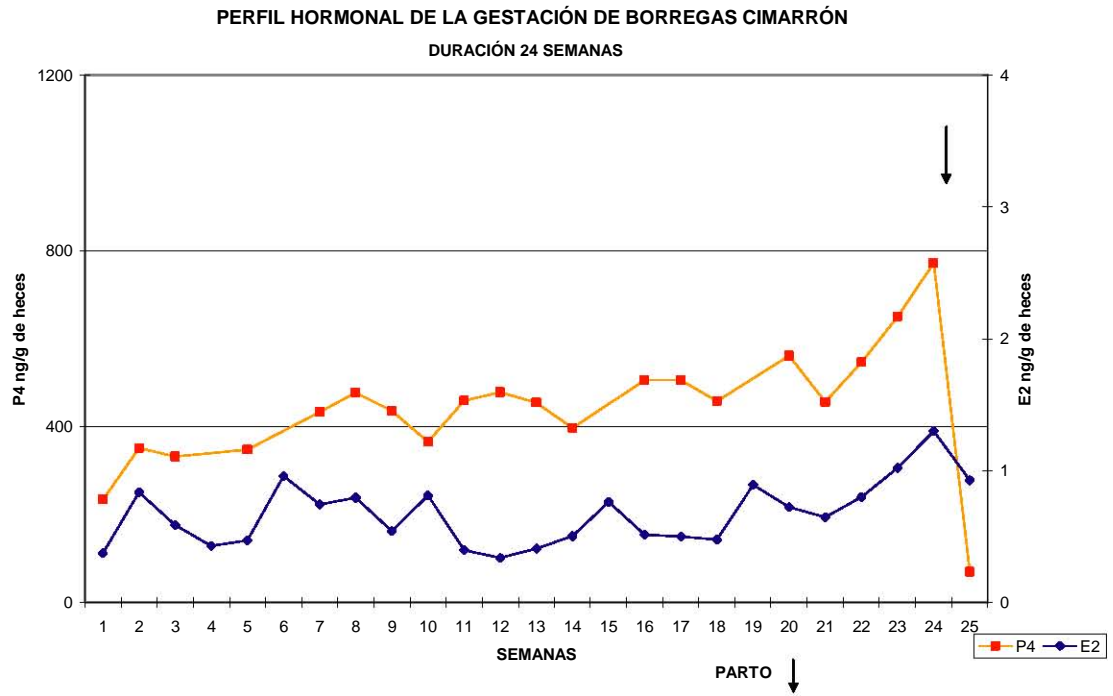
APÉNDICE IV.

Perfil hormonal reproductivo del ciclo estral de las borregas cimarrón.



APÉNDICE V.

Perfil hormonal de la gestación de las borregas cimarrón.



APÉNDICE VI.

Perfil hormonal del anestro estacional de las borregas cimarrón.

