



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y
DE LA SALUD ANIMAL**

**ACTIVIDAD OVULATORIA ANUAL EN OVEJAS PELIBUEY Y
SUFFOLK EN EL ALTIPLANO MEXICANO**

T E S I S

**PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS**

**PRESENTA
JAIME ARROYO LEDEZMA**

**TUTOR
JAVIER VALENCIA MÉNDEZ**

**COMITÉ TUTORAL
JAIME GALLEGOS SÁNCHEZ
ALEJANDRO VILLA GODOY**

MÉXICO, D.F.

2006.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A Lourdes, mi Esposa, por todo su amor, comprensión, apoyo, paciencia y tolerancia. Este logro es tuyo también y sin ti, no hubiera sido posible. Te amo.

A Guadalupe, mi Mamá, por su constante apoyo y su amor. Tu presencia siempre me ha fortalecido, gracias por estar junto a mí. Siempre lo estarás.

A Simón, mi Papá, por ser un ejemplo a seguir. Gracias a ti visualicé la grandeza e importancia de la crianza animal. Gracias por tu apoyo, tu cariño y por enseñarme a interpretar tu silencio. Siempre has estado y estarás conmigo.

A mis Hermanos, Esthela, Esperanza, Martha, Simón, Alberto y José, por su cariño y su constante apoyo.

A mis sobrinos, Christian y Harold, por su apoyo, su buen humor y por todos los momentos que hemos compartido.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más profundo agradecimiento:

Al Dr. Javier Valencia Méndez, por compartir conmigo su experiencia y sus conocimientos, por brindarme su amistad, su apoyo, contribuir de manera decisiva en mi formación académica y hacerme una mejor persona.

Al Dr. Jaime Gallegos Sánchez, por transmitirme su filosofía, sus conocimientos, su experiencia, brindarme su amistad incondicional y apoyarme en todo momento.

Al Dr. Alejandro Villa Godoy, por sus sugerencias siempre oportunas, por transmitirme conocimientos valiosos y darme la oportunidad de ser su amigo.

Al Dr. Antonio Ismael Porras Almeraya, por transmitirme importantes conocimientos, brindarme su apoyo, contribuir en mi formación académica y permitirme ser su amigo.

A la Dra. María Teresa Sánchez Torres, por contribuir de manera importante en mi formación académica y enseñarme que la amabilidad, la sencillez y el respeto pueden hacernos personas diferentes.

Al Dr. Luis Alberto Zarco Quintero, por transmitirme conocimientos fundamentales y por sus comentarios siempre valiosos.

Al Dr. Alfredo Medrano Hernández, por sus valiosos comentarios y su apoyo en la elaboración de este escrito.

Al Dr. Joel Hernández Cerón, por sus importantes comentarios.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más profundo agradecimiento:

A la M. en C. María de Lourdes Pérez Ledesma, por que su apoyo y colaboración siempre han sido invaluable.

A la M.V.Z. Miriam, por su importante colaboración y amistad desinteresadas.

A la M. en C. Susana Rojas y a la M.V.Z. Clara Murcia, por su importante y fundamental apoyo en la realización de los análisis hormonales.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por todo lo que me ha brindado como institución.

Al PAPIIT, por el financiamiento otorgado al proyecto IN-205803, con el cual, fue posible el desarrollo de mi tesis doctoral.

Al CONACYT, por el apoyo otorgado durante mis estudios doctorales a través de la beca 127708.

Al personal del Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, por su colaboración en el cuidado, alimentación y manejo de las ovejas.

“...Surgí finalmente del pensamiento irracional, sin más medicina que los cambios hormonales naturales de la edad...”

John Nash

INDICE GENERAL

CAPÍTULO	PÁGINA
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISION DE LITERATURA	3
2.1. ORIGEN Y CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS OVINOS DE PELO	3
2.2. ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA EN LA OVEJA	4
2.3. ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA EN OVEJAS DE PELO	6
2.3.1. Presentación de signos de estro a lo largo del año	6
2.3.2. Actividad ovulatoria anual en la oveja Pelibuey	9
2.4. NEUROENDOCRINOLOGÍA DEL CICLO REPRODUCTIVO ANUAL DE LA OVEJA	11
2.4.1. Retroalimentación positiva del estradiol durante el ciclo estral	11
2.4.2. Sistema de retroalimentación negativo de la progesterona	14
2.4.3. Influencia de la melatonina en la regulación de los eventos reproductivos anuales de la oveja	15

INDICE GENERAL

CAPÍTULO	PÁGINA
2.4.4. Sitios de acción de la melatonina	16
2.4.5. Mecanismo de acción de la melatonina en la actividad reproductiva anual de la oveja	18
2.4.6. Neurotransmisores y estructuras hipotalámicas involucradas durante el anestro estacional de la oveja	19
2.4.7. Mecanismo de retroalimentación negativa del estradiol y la actividad dopaminérgica durante el anestro estacional	21
2.4.8. Sitios de acción del estradiol durante el anestro estacional	22
2.4.9. Sitios de acción de la dopamina en las neuronas productoras de GnRH durante el anestro estacional.	24
3. MATERIALES Y MÉTODOS	26
3.1. Localización geográfica	26
3.2. Animales experimentales	26
3.3. Alimentación	27
3.4. Muestras sanguíneas y análisis de laboratorio	27

INDICE GENERAL

CAPÍTULO	PÁGINA
3.5. Análisis estadístico	28
4. RESULTADOS	28
4.1. Actividad ovulatoria y anestro estacional	29
4.2. Temperatura ambiental	34
4.3. Peso corporal	34
5. DISCUSIÓN	35
6. CONCLUSIONES	43
7. REFERENCIAS	44

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
Cuadro 1. Porcentaje mensual de ovejas Pelibuey y Suffolk con actividad ovulatoria durante el año 2003, en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada.	29
Cuadro 2. Porcentaje mensual de ovejas Pelibuey y Suffolk con actividad ovulatoria durante el año 2004, en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada.	29
Cuadro 3. Porcentaje de ovejas Pelibuey y Suffolk con actividad ovulatoria por estación del año en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada.	31
Cuadro 4. Duración del anestro estacional en ovejas Pelibuey y Suffolk en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada.	34

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
Figura 1. Actividad ovulatoria anual (barras rectas horizontales) en ovejas Pelibuey (barras grises) y Suffolk (barras negras) en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada.	30
Figura 2. Diferencias anuales en la actividad ovulatoria de ovejas Pelibuey en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada. * Indica diferencia ($P < 0.05$) (Año 2003, barras negras; Año 2004, barras grises).	32
Figura 3. Comparación anual de la actividad ovulatoria en ovejas Suffolk en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada. * Indica diferencia ($P < 0.05$) (Año 2003, barras negras; Año 2004, barras grises).	32
Figura 4. Actividad ovulatoria anual en ovejas Pelibuey por estación del año en 2003 (barras negras) y 2004 (barras grises) en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada. No hubo diferencias ($P > 0.05$).	33

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
Figura 5. Actividad ovulatoria anual en ovejas Suffolk por estación del año en 2003 (barras negras) y 2004 (barras grises) en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada. No hubo diferencias ($P>0.05$).	33
Figura 6. Peso corporal promedio mensual en ovejas Pelibuey (línea gris) y Suffolk (línea negra) en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada. No hubo asociación entre el peso corporal y la actividad ovulatoria anual en ninguna raza.	35

RESUMEN

En trabajos previos se observó que algunas ovejas Pelibuey en condiciones de fotoperiodo natural y artificial, ciclan todo el año. Por otra parte, la actividad ovulatoria anual de las ovejas Suffolk no se ha determinado claramente a 19° latitud norte (Lat. N). Con el propósito de caracterizar el ciclo reproductivo anual de las ovejas Pelibuey y Suffolk, identificar hembras con actividad ovulatoria continua y establecer la repetibilidad anual de esta característica a 19° Lat. N, se utilizaron 10 ovejas Pelibuey y 10 ovejas Suffolk adultas; en ambiente natural, alojadas en corrales independientes, aisladas de los machos, con alimentación constante y condiciones similares de manejo. Se determinó la actividad ovulatoria en ambas razas durante dos años con base en la concentración plasmática de progesterona obtenida de muestras sanguíneas colectadas dos veces por semana. Se utilizó la prueba de Ji-cuadrada para comparar la proporción de hembras de cada raza con actividad ovulatoria en los distintos meses, épocas del año y años. La duración promedio del anestro se comparó entre razas y años con un análisis de varianza. La correlación entre la temperatura ambiental, peso corporal y actividad ovulatoria en ambas razas se determinó con un análisis de regresión. La actividad ovulatoria fue diferente ($P < 0.05$) entre razas de febrero a julio. Seis de 10 ovejas Pelibuey (60%) ovularon continuamente durante los dos años, una se eliminó en el segundo año al desarrollar quistes foliculares y tres tuvieron periodos de anestro de 65 ± 46 a 70 ± 36 días, resultando más cortos ($P < 0.05$) que los observados en la raza Suffolk (166 ± 43 a 198 ± 26 días). Las ovejas Suffolk mostraron estacionalidad reproductiva similar a la observada en ovejas de la misma raza en latitudes altas ($> 35^\circ$). Dentro de raza el comportamiento reproductivo de las ovejas fue similar entre años, sólo hubo diferencia ($P < 0.5$) en febrero para las Pelibuey y en julio para las Suffolk. La temperatura ambiental y el peso corporal no se correlacionaron con la actividad ovulatoria en ninguna raza, aunque se observó incremento en el peso corporal de las ovejas Suffolk y en las Pelibuey fue constante. Se concluye que a 19° Lat. N una alta proporción de ovejas Pelibuey ovulan todo el año, a diferencia de las

ovejas Suffolk, que expresan anestro estacional similar al observado en individuos de la misma raza en latitudes mayores de 35°. La identificación de ovejas Pelibuey con actividad ovulatoria continua puede ser el primer paso para desarrollar programas de selección con el propósito de suprimir la estacionalidad reproductiva e incrementar la frecuencia de pariciones.

ABSTRACT

In earlier works we detected that under photoperiod regulated conditions, some Pelibuey ewes appear to cycle continuously. On the other hand ovulatory activity of Suffolk ewes has not being determined at 19° north latitude (N). The aim of this study was to describe the annual reproductive cycle of Pelibuey and Suffolk ewes under natural conditions at 19° N. Ten Pelibuey ewes and 10 Suffolk ewes were isolated from males and maintained on a constant plane of nutrition and similar management conditions. The ovulatory activity was monitored during two years (2003 and 2004), by quantifying progesterone concentrations in blood samples taken twice a week. For both breeds, the proportion of ovulating ewes per month and year was analyzed by using Chi-square test. Duration of anoestrus was compared between breeds and years by an analysis of variance. Correlation between monthly air temperature, body weight and ovulatory activity was evaluated by regression procedure. Ovulatory activity was different ($P < 0.05$) between breeds from February to July. Six out of 10 Pelibuey ewes (60%) ovulated continuously during the entire study; one was eliminated in the second year, due to follicular cysts and three had anoestrus periods from 65 ± 46 to 70 ± 36 days long, shorter ($P < 0.05$) than what was observed for the Suffolk breed (166 ± 43 to 198 ± 26 days). Suffolk sheep displayed reproductive seasonality similar to that observed in sheep of the same breed in high latitudes ($> 35^\circ$). Within the breed, reproductive behavior of the sheep was similar ($P > 0.05$) between years, with the only difference ($P < 0.5$)

in February for Pelibuey and in July for Suffolk. Air temperature was not correlated ($P>0.05$) with ovulatory activity. The body weight of Pelibuey ewes was constant during the entire study and was not correlated with ovulatory activity. There was, however, an increase on the body weight of Suffolk ewes, but this variation was not related to ovulatory activity. These findings lead to the conclusion that at 19° N, a high proportion of Pelibuey ewes is capable of ovulating all year long, whereas Suffolk ewes undergo seasonal anoestrus periods similar to that observed in individuals of the same breed at latitudes greater than 35°. Identification of continuous ovulatory Pelibuey ewes may be the first step for developing a selection program against seasonality to increase lambing frequency.

1. INTRODUCCIÓN

La oveja es una especie con actividad reproductiva estacional (Malpaux et al., 1997) que durante la época de días largos presenta un periodo de inactividad ovulatoria o anestro y durante los días cortos muestra ciclos estrales regulares y ovulación (época reproductiva; Legan y Karsch, 1979). El fotoperiodo sincroniza el ciclo reproductivo anual de los ovinos, los que traducen la señal luminosa en una señal hormonal, ya que la glándula pineal sintetiza melatonina durante los periodos de oscuridad (Malpaux et al., 1999; Malpaux et al., 2002).

La estacionalidad reproductiva se expresa claramente en ovejas de origen europeo (en latitudes $>35^{\circ}$), como la Suffolk (Hafez, 1952; Legan y Karsch, 1979; Karsch et al., 1984; Robinson y Karsch, 1984; Robinson et al., 1985; Malpaux et al., 1987). En contraste, el comportamiento reproductivo anual en los ovinos de origen ecuatorial, como el Pelibuey, ha generado controversia. Las primeras investigaciones desarrolladas en México indicaron que las ovejas Pelibuey en condiciones naturales no presentaban

estacionalidad reproductiva asociada al fotoperiodo (Castillo et al., 1972; Castillo et al., 1974; Valencia et al., 1981; Álvarez et al., 1984; Gonzalez-Reyna et al., 1991; Cruz et al., 1994) y que eran capaces de mostrar ciclos estrales regulares todo el año (Castillo et al., 1972; Valencia et al., 1975; González et al., 1992; Cruz et al., 1994). Sin embargo, en estudios posteriores se observó una disminución en la actividad estral de febrero a mayo, que fue atribuida principalmente a la nutrición u otros factores ambientales como temperatura y humedad (Valencia et al., 1981; Heredia et al., 1991; González et al., 1992). Posteriormente, Martínez (1998) reportó reducción en la actividad ovulatoria en ovejas Pelibuey durante los meses de abril y mayo (75 y 50%, respectivamente), independientemente del estado nutricional.

Recientemente, mediante el uso del fotoperiodo artificial (Porras, 1999) se demostró que los ovinos Pelibuey son capaces de responder a la variación en las horas luz. El fotoperiodo artificial de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad inhibió su actividad ovulatoria, mientras que el fotoperiodo de 8 horas luz y 16 horas de oscuridad la estimuló, lo que sugirió que el fotoperiodo sincroniza el ciclo reproductivo anual de esta raza. Por otra parte, en las ovejas mantenidas en fotoperiodo natural (19° Lat. N) se observaron periodos cortos de inactividad ovulatoria entre enero y julio (Porras, 1999). Por su parte, Cerna et al. (2000) observaron periodos de anestro entre febrero y julio en ovejas Pelibuey mantenidas en fotoperiodo natural (19° Lat. N), y demostraron que el periodo de anestro se trasladó a la época opuesta del año cuando las ovejas fueron expuestas a fotoperiodo invertido, demostrando que los cambios graduales en el fotoperiodo son capaces de modificar la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey. A pesar de ello, Valencia et al. (2002, 2003) identificaron ovejas Pelibuey con la capacidad de mostrar actividad reproductiva durante la época de anestro estacional (febrero a mayo); sin embargo, solo efectuaron observaciones durante estaciones selectas de un solo año y por lo tanto, no se determinó el estado reproductivo de las ovejas en el resto del año y tampoco se estableció si son capaces de expresar una actividad ovulatoria similar en diferentes años. El impacto que pueden tener las ovejas con actividad

ovulatoria continua en la producción, justifica un estudio diseñado para demostrar que esta característica es repetible.

Conocer las variaciones individuales de la actividad reproductiva de las ovejas en una determinada zona geográfica, permite llevar a cabo el empadre en la época más favorable, en relación con el momento de mayor actividad reproductiva y condiciones ambientales más favorables para la supervivencia y desarrollo de las crías (Valencia et al., 1978). Lo anterior permite mejorar la eficiencia reproductiva y productiva en los hatos ovinos. Por ésta razón, uno de los objetivos de este estudio fue caracterizar el ciclo reproductivo anual de la oveja Pelibuey, siguiendo durante 2 años su actividad ovárica a través de determinaciones seriadas de sus concentraciones circulantes de progesterona. Por otro lado, aunque a 42° Lat. N la estacionalidad reproductiva en la oveja Suffolk se expresa claramente (Robinson y Karsch, 1984; Karsch et al., 1984; Robinson et al., 1985), se ha documentado que ovejas de origen europeo (>35° Lat. N) que habitan o son trasladadas a regiones ecuatoriales, ciclan a intervalos irregulares y no expresan una época definida de anestro (Yeates, 1949; Hafez, 1952; Jansen y Jackson, 1993). De acuerdo con estas observaciones sería posible afirmar que el anestro estacional en las ovejas Suffolk a 19° Lat. N es más corto que el de ovejas de la misma raza en latitudes altas (>35°) e incluso similar al de las ovejas Pelibuey. Por lo tanto, el segundo objetivo del presente estudio fue caracterizar el ciclo reproductivo anual de la oveja Suffolk a 19° Lat. N.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ORIGEN Y CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS OVINOS DE PELO

Los ovinos de pelo son originarios del Oeste de África y fueron transportados a América por los españoles y portugueses en los siglos XVI y XVII. Existen dos tipos principales de ovinos de pelo en el Oeste de África, la raza Sahel u oveja de patas largas, originaria del trópico seco, y la de patas cortas o tipo miniatura que tiene su origen en el trópico húmedo y los bosques. La oveja de patas cortas es también llamada “oveja de la sabana”. Se sabe que de manera general las ovejas de pelo de América descienden de la oveja de la sabana. Sin embargo, las variaciones fenotípicas sugieren que las ovejas de pelo de América tienen su origen en los dos tipos de ovejas africanas, pues poseen características de ambas (González-Reyna *et al.*, 1991).

Las razas de pelo predominantes en México son la Pelibuey y la Black Belly. La raza Pelibuey se encuentra en mayor número, ya que del 90 a 95 % de la población de ovejas de pelo en México son de esta raza. Las ovejas de pelo se encuentran en la mayoría de las áreas tropicales de México; de las regiones áridas y semiáridas (Tamaulipas) al trópico húmedo (Tabasco y Chiapas), y en algunas áreas subtropicales (Puebla). Las dos razas están distribuidas de la costa este de Tamaulipas a la península de Yucatán, en algunas de las áreas tropicales del centro de México y la costa oeste (González-Reyna *et al.*, 1991). Actualmente, se encuentran distribuidas casi en toda la República Mexicana.

Las principales características de las ovejas de pelo incluyen la ausencia de lana, ausencia de cuernos, gran variedad de colores, del blanco al rojo y café oscuro. En México existe variabilidad de la oveja Pelibuey entre las diferentes localidades. El color del pelo varía del blanco al rojo claro y café oscuro, con todas las combinaciones posibles de colores entre el blanco y rojo. En ocasiones,

aparecen las características de la raza Black Belly debido a las cruces entre las dos razas. La frente de la Pelibuey es recta, redonda y ancha, con un perfil convexo o semi convexo y la cavidad de los ojos prominente, con depresiones en la parte trasera de los arcos de los ojos. Las orejas son cortas, puntiagudas y erectas. El cuello en el macho es fuerte, redondeado y corto, con una crin más oscura. En la hembra, el cuerpo es esbelto, no existe crin ni papada; el cuello es más delgado y más largo que en el macho y la cabeza es más pequeña (González-Reyna *et al.*, 1991).

2.2. ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA EN LA OVEJA

Las ovejas de origen europeo muestran variaciones estacionales en su actividad reproductiva, interrumpiendo completamente su actividad estral y ovulatoria durante la primavera y verano. Los cambios en la duración del día a lo largo del año regulan este evento, a través de la variación en la secreción de gonadotropinas, particularmente LH (Gallegos-Sánchez *et al.*, 1997). De esta manera, el ciclo reproductivo anual de la oveja está integrado por una época reproductiva u ovulatoria y una anovulatoria o de anestro. En la mayoría de las razas ovinas la época reproductiva inicia a finales del verano y se caracteriza por ciclos estrales sucesivos de 17 días aproximadamente. La época de anestro inicia a finales del invierno y se caracteriza por la ausencia de ciclos ováricos regulares (Legan y Karsch, 1979).

Los componentes esenciales del eje hipotálamo-hipófisis-ovarios permanecen funcionales en las ovejas durante el anestro estacional. Los folículos ováricos se desarrollan y producen esteroides, pero no hay ovulación ni ciclos estrales regulares (Legan y Karsch, 1979). Se sabe que durante el anestro el ovario y la hipófisis son capaces de responder a estímulos hormonales exógenos (Scaramuzzi y Baird, 1977). La época de anestro se caracteriza por una

disminución extrema en la frecuencia de los pulsos de GnRH y LH, ya que solo se detectan de 1 a 2 pulsos de ambas hormonas en un periodo de 12 h (Barrell *et al.*, 1992).

Numerosos estudios en ovejas, muestran que en la etapa de transición de la época reproductiva al anestro, al ocurrir la regresión del cuerpo lúteo del último ciclo estral, no ocurre el incremento sostenido en la secreción pulsátil de LH, con lo cual no se produce un aumento de magnitud suficiente en la concentración de estradiol para provocar la oleada preovulatoria de LH, iniciándose así el anestro (Legan y Karsch, 1979). De manera contraria, en el periodo de transición del anestro a la época reproductiva existe un periodo de 1 a 4 semanas antes del primer ciclo estral, durante el cual ocurren una o dos fases de incremento en la frecuencia de los pulsos de LH y en la concentración de progesterona. El inicio de la época reproductiva en el hemisferio norte ocurre por lo general en el mes de septiembre (l'Anson y Legan, 1988).

La disminución en la secreción de LH durante el anestro es una consecuencia de la acción de retroalimentación negativa que ejerce el estradiol a nivel hipotalámico. Esto se demostró en el estudio realizado por Legan *et al.* (1977) con ovejas ovariectomizadas tratadas con un implante subcutáneo de estradiol, en las cuales se evaluó el cambio en la secreción de LH por un periodo de dos años. Se observó que la frecuencia de los pulsos de LH se mantuvo elevada en los meses de agosto a febrero, y se redujo considerablemente de marzo a julio. Estos cambios en la concentración hormonal se asocian con las épocas reproductiva y de anestro, respectivamente. De esta manera, se demostró la acción inhibitoria que ejerce el estradiol en la frecuencia de los pulsos de LH durante la época de anestro, y la influencia que ejerce el fotoperiodo en esta respuesta fisiológica en la oveja (Goodman *et al.*, 1982).

En estudios posteriores (Barrell *et al.*, 1992; Karsch *et al.*, 1993) se demostró que la disminución en la frecuencia de pulsos de LH durante el anestro estacional, por el efecto de retroalimentación negativa que ejerce el estradiol y que ocurre al aumentar la duración del fotoperiodo, se origina como una consecuencia de la disminución en la síntesis y secreción GnRH a nivel hipotalámico.

2.3. ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA EN OVEJAS DE PELO

2.3.1. Presentación de signos de estro a lo largo del año.

Desde los años 50's Hafez (1952) mencionó que las ovejas de origen ecuatorial presentaban una reducida estacionalidad reproductiva e incluso ausencia de la misma, siendo capaces de reproducirse todo el año. Esta afirmación se aplicó posteriormente a los primeros rebaños de ovejas Pelibuey en México, al observarse una reducción en la actividad estral durante los meses de febrero a mayo, la cual se atribuyó a deficiencias nutricionales y factores ambientales como la temperatura y la humedad (Heredia *et al.*, 1991; González-Reyna *et al.*, 1991; González *et al.*, 1992), ya que los investigadores asumieron erróneamente que las variaciones en el fotoperiodo en México eran demasiado pequeñas para ser responsables de los cambios reproductivos estacionales.

En Yucatán (21° latitud norte), México, Valencia *et al.* (1981) evaluaron la actividad estral en ovejas Pelibuey con alimentación controlada durante tres años y observaron que de enero a abril solo el 17 % de las ovejas mostraban estro. En contraste, el 95 % de las ovejas tuvieron actividad estral de mayo a agosto y 100 % de septiembre a diciembre. En dicho estudio se concluyó que las ovejas Pelibuey a esa latitud, presentaban anestro estacional independientemente del estado nutricional, esto sugirió que el fotoperiodo si podría estar influyendo en la actividad reproductiva.

De manera similar, Heredia *et al.* (1991) a 21° latitud norte, observaron la actividad estral de ovejas Pelibuey con alimentación controlada durante 3 años y encontraron que de enero a mayo solo el 15 % de las ovejas mostraron estro. En comparación, el 90 % de las ovejas presentaron estro de agosto a diciembre, esta reducción en la actividad estral durante la primavera también ocurrió independientemente del estado nutricional, la condición o el peso corporal de las ovejas.

Por su parte, González *et al.* (1992), utilizando dos machos adultos vasectomizados estudiaron durante un año en Tamaulipas, México (22° latitud norte), bajo un clima tropical semiárido, la actividad estral de ovejas Pelibuey con alimentación controlada y constante. Los meses con el menor porcentaje de actividad estral fueron marzo (34 %) y abril (24 %); los meses con el mayor porcentaje de actividad estral fueron agosto (97 %) y septiembre (88 %). Se observaron diferencias ($P < 0.05$) en los meses de agosto y septiembre al compararlos con marzo y abril, pero no hubo diferencias ($P > 0.05$) con respecto a los meses restantes. En dicho estudio los autores una vez más asumieron erróneamente que la variación observada no implicaba la existencia de un anestro estacional verdadero, sino que se debía a variaciones en factores ambientales de la región, tales como la temperatura y humedad.

Cruz *et al.* (1994), determinaron la actividad estral en ovejas Pelibuey en Veracruz (20° latitud norte), México, bajo un clima tropical subhúmedo. Las ovejas estuvieron en pastoreo y suplementadas con sales minerales a libre acceso. La detección de estros se realizó con machos vasectomizados. La menor proporción de hembras en estro se observó en abril (81.25 %) y la mayor en agosto (100 %). Sin embargo, los porcentajes de ovejas ciclando en diferentes meses fueron similares, por lo que los autores concluyeron que bajo las condiciones en las que se realizó el estudio, no hay diferencia en la presentación de estros a través del

año en la oveja Pelibuey y que esta raza es capaz de mostrar actividad estral todo el año.

En los estudios anteriores se observa variabilidad en los datos registrados. Es claro que existe una disminución de la actividad estral entre enero y junio (época de anestro estacional); sin embargo, la proporción de ovejas que continúan ciclando durante esos meses es de 81 % a 17 %, sin que haya una explicación para este comportamiento. Un hecho relevante, es que con la metodología descrita en estos estudios, se observa que en todos los casos existe una proporción, aunque sea pequeña, de ovejas Pelibuey que muestran actividad estral regular durante los días largos (enero a junio). Esto sugiere que algunas ovejas pueden tener actividad estral durante la época de anestro estacional.

2.3.2. Actividad ovulatoria anual en la oveja Pelibuey

En estudios posteriores conducidos con el propósito de establecer la existencia de anestro estacional en la oveja Pelibuey y los posibles factores que pueden influir en su expresión, se determinó la actividad ovulatoria anual de esta raza utilizando determinaciones seriadas de las concentraciones de progesterona. Martínez *et al.* (1995) determinaron la actividad ovulatoria, los cambios de peso y condición corporal durante un año en ovejas Pelibuey en pastoreo, en clima tropical subhúmedo (20° latitud norte). Se observó una disminución significativa en la actividad ovulatoria de las ovejas en abril (75 %) y mayo (50 %) en comparación con el 100 % encontrado durante el resto del año, a pesar de que en abril y mayo los pesos y condición corporal fueron más altos que en otras épocas. También se determinó que las ovejas que durante el mes de mayo dejaron de ovular no tenían menor peso ni condición corporal en relación con las que si continuaron ciclando. Se concluyó que la oveja Pelibuey disminuye su actividad ovulatoria durante la primavera, independientemente de las variaciones estacionales que ocurren en el

peso y la condición corporal, por lo que se sugirió que el factor determinante podría ser la variación en la duración del fotoperiodo a lo largo del año. Es importante señalar que en este estudio, aunque no se realizaron detecciones de estros, las ovejas permanecieron de manera continua con carneros vasectomizados adultos con el objeto de proveer un estímulo sexual similar al que se encuentra en forma natural en los rebaños.

Es clara la disminución en la actividad ovulatoria de las hembras en abril y mayo, pero de manera similar a los estudios de Valencia *et al.* (1981), Heredia *et al.* (1991), González *et al.* (1992) y Cruz *et al.* (1994), una proporción de ovejas Pelibuey muestra actividad reproductiva todo el año.

Los estudios anteriores demuestran que existe una disminución en la actividad ovulatoria y estral de las ovejas Pelibuey durante los días largos, y que es independiente del estado nutricional. Sin embargo, con los trabajos anteriores, no se demostró directamente si esta raza es sensible a cambios en la duración del fotoperiodo y si este estímulo ambiental puede regular su actividad ovulatoria. Porras (1999), expuso un grupo de ovejas a tratamientos de fotoperiodo artificial alternos de 16 horas luz - 8 horas oscuridad (16L:8O) y 8 horas luz - 16 horas oscuridad (8L:16O) con duración de 90 días cada uno durante dos años; otro grupo de ovejas se mantuvo en fotoperiodo natural (19° Lat. N). Las ovejas mantenidas en fotoperiodo natural presentaron periodos de anestro de enero a mayo, con una duración de 63.7 ± 18.8 días en el primer año y de febrero a julio, con duración de 109 ± 20.5 días en el segundo año. En cambio, se observó que las ovejas Pelibuey respondieron a los tratamientos de fotoperiodo artificial inhibiendo (16L:8O) o estimulando (8L:16O) su actividad ovulatoria, por lo que la mayoría de ellas presentaron más de un período anovulatorio cada año en respuesta a la exposición al fotoperiodo de 16L:8O. Lo anterior conduce a la conclusión de que la oveja Pelibuey expresa anestro estacional real influenciado por el fotoperiodo.

Sin embargo, el fotoperiodo artificial aplicado en el experimento anterior fue extremo, característico de latitudes altas ($>35^{\circ}$); por lo tanto, se consideró necesario evaluar la respuesta de las ovejas Pelibuey a variaciones artificiales de fotoperiodo graduales y menos drásticas, simulando las que ocurren de manera natural a 19° Lat. N, en donde la diferencia anual entre el día más corto y el más largo es de dos horas, 17 minutos. Con estos antecedentes, Cerna *et al.* (2000) realizaron un estudio con ovejas Pelibuey, por dos años, en condiciones ambientales y de manejo similares al estudio de Porras (1999), pero con un manejo distinto del fotoperiodo artificial. Así, un grupo de ovejas se mantuvo en condiciones naturales (grupo control), mientras que el otro grupo fue expuesto a un fotoperiodo artificial inverso (grupo experimental), el cual se ajustaba gradualmente de forma tal que la relación luz - oscuridad fuera contraria a la que ocurría de manera natural. Los resultados mostraron que las ovejas mantenidas en condiciones naturales presentaron periodos de anestro de enero a julio, mientras que el fotoperiodo inverso modificó el ciclo reproductivo anual de las ovejas Pelibuey, de manera que su época de actividad ovulatoria se adelantó cinco meses en comparación con el grupo mantenido en fotoperiodo natural. Esto demostró que las variaciones en el fotoperiodo que se presentan en la latitud del centro de México (19° Lat. N) si son suficientes para controlar la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey (Cerna, 2000), aunque los efectos del fotoperiodo fueron más drásticos cuando se emplearon fotoperiodos extremos (Porras, 1999).

Es importante mencionar que en los estudios de Porras (1999) y Cerna *et al.* (2000), dos y tres ovejas, respectivamente, mostraron actividad ovulatoria continua independientemente de los cambios en el fotoperiodo, lo que sugiere que podrían existir diferencias individuales (posiblemente genéticas) en la forma en que los animales responden al fotoperiodo.

2.4. NEUROENDOCRINOLOGÍA DEL CICLO REPRODUCTIVO ANUAL DE LA OVEJA

2.4.1. Retroalimentación positiva del estradiol durante el ciclo estral

El ciclo reproductivo anual de la oveja incluye un periodo en el cual una secuencia de eventos de carácter neuroendocrino culminan en la ovulación (época reproductiva), y un periodo en el que esto no ocurre (época de anestro o inactividad reproductiva; Barrell *et al.*, 1992). En la época reproductiva, al final de cada fase lútea, descienden las concentraciones plasmáticas de progesterona, lo que favorece la secreción tónica de LH, de tal forma que la frecuencia de sus pulsos se incrementa progresivamente hasta alcanzar un pulso cada hora. El aumento en la frecuencia de secreción de LH estimula la síntesis de E₂ en los folículos en proceso de maduración (Legan y Karsch, 1979; McNatty *et al.*, 1984; Noel *et al.*, 1993; Ravindra y Rawlings, 1997; Souza *et al.*, 1997; Bartlewski *et al.*, 2000; Evans *et al.*, 2000), por lo que se incrementa su concentración en la circulación general. El incremento progresivo en los niveles de E₂, ejerce retroalimentación positiva a nivel hipotalámico, lo que resulta en la descarga preovulatoria de GnRH y LH (Padilla *et al.*, 1988; Barrell *et al.*, 1992; Gallegos-Sánchez *et al.*, 1999).

El pico preovulatorio de LH precede a la ovulación por aproximadamente 24 h y se asocia con la conducta de estro (Legan y Karsch, 1979). Este evento requiere un incremento en la secreción de GnRH hipotalámica y un aumento en la respuesta hipofisiaria (cantidad de LH secretada en respuesta a cada pulso de GnRH). Ambos eventos son dependientes de E₂ (Karsch *et al.*, 1997). Se requiere el estímulo generado por la GnRH para que ocurra el pico preovulatorio de LH. La determinación directa de la concentración y perfil de secreción de GnRH en el sistema porta hipofisiario de ovejas mostraron que los picos preovulatorios de GnRH y LH ocurren paralelamente; sin embargo, el pico de LH dura pocas horas

debido a que la hipófisis se hace refractaria al GnRH, mientras que el pico de GnRH se extiende durante 36 a 48 h (tiempo aproximado de la duración del estro; Caraty *et al.*, 2002). La secreción prolongada de GnRH podría ser importante como un estímulo a la conducta sexual similar a lo observado en otros mamíferos (Pfaff *et al.*, 1994). Así, Caraty *et al.* (2002) en un estudio realizado durante la época reproductiva con ovejas Ile de France, observaron que la GnRH está involucrada en el control de la receptividad sexual en especies ruminantes y que esta hormona y el E₂ actúan de manera secuencial para permitir la expresión del estro. La actividad de las neuronas GnRH se prolonga durante la fase folicular del ciclo estral; el propósito de esta función fisiológica es mantener la receptividad sexual hasta la ovulación, después del efecto inicial del E₂. Es posible diferenciar el efecto directo del E₂ en la conducta de estro, del mecanismo que estimula la secreción de GnRH (Caraty *et al.*, 2002).

Otro factor implicado en el control de la conducta de estro es la progesterona presente durante la fase lútea anterior, la cual incrementa el número de receptores para E₂ en el hipotálamo mediobasal (MBH) y por lo tanto aumenta la sensibilidad al E₂ (Blaché *et al.*, 1994).

A nivel hipotalámico, el E₂ estimula la secreción pulsátil de GnRH/LH durante la fase folicular del ciclo estral. Caraty *et al.* (1998) colocaron implantes de estradiol intracraneales en el área preóptica (POA) y en el MBH de ovejas Ile de France ovariectomizadas, después de simular una fase lútea por administración exógena de progesterona. Los resultados mostraron que el E₂ aplicado en el núcleo ventromedial (NVM) del MBH provocó un pico de GnRH/LH, semejante al observado antes de la ovulación. Se concluyó que el E₂ actúa en el MBH induciendo el pulso preovulatorio de LH en la oveja. De manera adicional, se observó que el E₂ en el POA inhibe la secreción pulsátil de LH (Caraty *et al.*, 1998). La existencia de poblaciones específicas de neuronas que sintetizan receptores- α de estradiol (RE₂) con proyecciones al área preóptica rostral (rPOA)

y a la banda diagonal de la broca (DBB) de la oveja, donde se concentra el pericarion de las neuronas GnRH (Caldani *et al.*, 1988; Herbison, 1995), explica el efecto inhibitorio del E₂ a ese nivel. Estas observaciones proporcionaron las bases del conocimiento de la estructura neuroanatómica a través de la cual se llevan a cabo las acciones de estímulo e inhibición del E₂ en la secreción de GnRH en ovinos. Sin embargo, aún no es posible determinar de manera precisa si estas poblaciones neuronales tienen sinápsis directa con el pericarion de GnRH. Existe la posibilidad de que múltiples neuronas con RE₂ puedan intervenir en la biosíntesis y secreción de GnRH a nivel de los cuerpos celulares. Se sugiere que en la hembra ovina, grupos neuronales específicos con receptores para estrógeno pueden intervenir a nivel pre y post sináptico en las neuronas productoras de GnRH y con ello, inhibir la biosíntesis de esta hormona (Goubillon *et al.*, 1999).

2.4.2. Sistema de retroalimentación negativa de la progesterona

La progesterona (P₄) es una hormona esteroide que se secreta a nivel ovárico (cuerpo lúteo) y es fundamental en la regulación de la función reproductiva cíclica. La P₄ inhibe la secreción pulsátil de GnRH, y por lo tanto, de LH. Este esteroide presenta un efecto contrario al de retroalimentación positiva del E₂ en la secreción de GnRH y LH (Skinner *et al.*, 2001) y puede considerarse como el regulador del ciclo estral; su acción es a nivel central (Robinson, 1995). Cuando las concentraciones de P₄ son altas, durante la fase lútea del ciclo, la frecuencia de los pulsos de GnRH/LH es baja. La disminución en la concentración de P₄ después de la luteólisis permite que la frecuencia de pulsos de GnRH/LH se incremente y se estimule por el aumento en la concentración de estrógenos (Robinson, 1995).

El mecanismo exacto por medio del cual la P₄ inhibe la secreción pulsátil de GnRH se desconoce (Evans *et al.*, 2002). Hasta el momento no se han

identificado receptores para P_4 en las neuronas GnRH (Skinner *et al.*, 2001); sin embargo, se han localizado receptores para esta hormona en una gran cantidad de neuronas hipotalámicas productoras de neurotransmisores; por lo tanto, es posible que la P_4 regule la actividad del sistema neurosecretor de GnRH durante la fase lútea del ciclo estral de la oveja, de manera indirecta a través de uno o varios sistemas neurotransmisores (Evans *et al.*, 2002).

La participación de GABA como intermediario entre la P_4 y las neuronas GnRH en la inhibición de la secreción pulsátil de GnRH se observó al evaluar los cambios en la concentración del neurotransmisor en el POA (por la técnica de microdiálisis) durante el efecto de retroalimentación negativa ejercido por P_4 durante la época reproductiva. Se colocaron implantes subcutáneos de P_4 a ovejas ovariectomizadas y se obtuvieron concentraciones circulantes de la hormona similares a las observadas en la fase lútea del ciclo estral. Las dosis administradas inhibieron la concentración media de LH, lo cual se correlacionó con el incremento en la concentración de GABA en el POA. Estas observaciones proporcionaron evidencia de que la acción central inhibitoria de la P_4 en la secreción pulsátil de LH involucra a las neuronas GABA en las regiones del pericarion de GnRH. Este sistema neural participa de manera importante en la organización y regulación de los eventos del ciclo estral ovino (Robinson y Kendrick, 1992). Se sugiere también la participación de los Péptidos Opioides Endógenos (POEs) como mediadores en la inhibición de la secreción pulsátil de GnRH durante la fase lútea del ciclo estral, pero este mecanismo debe estudiarse con más detalle (Goodman *et al.*, 2002).

El efecto inhibitorio de la P_4 en la secreción pulsátil de GnRH a nivel central es agudo, pues la secreción de GnRH varía (aumenta o disminuye) en forma inmediata al inducir cambios de manera experimental en la concentración circulante de P_4 (Evans *et al.*, 2002). Lo anterior indica que la inhibición en la secreción pulsátil de GnRH inducida por la P_4 no es mediada por un mecanismo

genómico, pues si fuera así, el efecto ocurriría después de horas o días (Evans *et al.*, 2002). Sin embargo, otros trabajos sugieren que la acción inhibitoria de la P₄ si es mediada por el receptor clásico para progesterona (PR), ya que la administración del antagonista del receptor intracelular competitivo para progesterona RU486 incrementa la secreción pulsátil de LH en ovejas, durante la fase lútea del ciclo estral (Chabbert-Buffet *et al.*, 2000; Evans *et al.*, 2002; Goodman *et al.*, 2002).

2.4.3. Influencia de la melatonina en la regulación de los eventos reproductivos anuales de la oveja

La señal ambiental que sincroniza el ciclo reproductivo anual en los ovinos es el fotoperiodo (Williams y Helliwell, 1993; Malpaux *et al.*, 1996). La señal luminosa es captada por la retina y se transmite a través de una compleja red neuronal a la glándula pineal. Esta vía involucra el núcleo supraquiasmático y el ganglio cervical superior, donde se regula el ritmo de secreción de melatonina (Karsch *et al.*, 1984). La melatonina se sintetiza principalmente de noche; por lo tanto, la duración de su secreción difiere entre los días largos y cortos. Esta información se codifica a nivel central para regular la síntesis y liberación de GnRH, en interacción con la modificación en el sistema de retroalimentación negativa por los estrógenos (Malpaux *et al.*, 1999).

En ovejas, la administración de melatonina exógena de manera que simule el patrón de secreción natural de días cortos, incrementa la frecuencia de pulsos de GnRH. Sin embargo, este incremento en la secreción de GnRH se observa después de 40 a 60 días de tratamiento con melatonina (Viguié *et al.*, 1995). La variación en la frecuencia de secreción pulsátil de GnRH y LH es responsable de los cambios en la actividad ovulatoria entre los días cortos y los días largos (Karsch *et al.*, 1984).

2.4.4. Sitios de acción de la melatonina

La identificación de los sitios de acción específicos de la melatonina para regular eventos reproductivos estacionales se dificulta por que la melatonina participa en muchas funciones fisiológicas (Malpaux *et al.*, 2002). La melatonina puede actuar en un solo sitio del cerebro o la hipófisis regulando muchas funciones estacionales, o puede actuar en múltiples sitios, cada uno de los cuales estaría modulando una sola función estacional (Malpaux *et al.*, 1999). La dificultad para estudiar el sitio de acción de la melatonina aumenta por el hecho de que en una gran cantidad de tejidos corporales existen receptores con alta afinidad para melatonina (Malpaux *et al.*, 1999).

El desarrollo de la prueba para detectar receptores específicos de melatonina, utilizando melatonina marcada con I^{125} , permitió identificar los sitios exactos donde se localizan los receptores para melatonina dentro del sistema hipotalámico - hipofisiario (Malpaux *et al.*, 1999; Malpaux *et al.*, 2002).

En las especies investigadas, incluyendo la oveja, de manera consistente, se encontró una alta densidad de receptores para melatonina en la *pars tuberalis* (PT) de la adenohipófisis. Sin embargo, estudios realizados en ovejas y hamsters demostraron que la PT no media la acción de la melatonina sobre el eje neuroendocrino reproductivo (Malpaux *et al.*, 1999). En esta misma especie la administración directa de melatonina en la PT no modifica el perfil de secreción de LH, ya que la colocación de un microimplante de melatonina directamente contra la cara anterior de la PT no modificó la secreción de LH (Malpaux *et al.*, 1994). En contraste, los microimplantes colocados en el MBH o en el tercer ventrículo (IIIIV) estimularon la liberación de LH (Malpaux *et al.*, 1994). Lo anterior sugirió que el hipotálamo, y no la PT, es el principal órgano blanco donde se traducen los efectos de la melatonina sobre el eje neuroendocrino reproductivo. En estudios posteriores, se demostró que la inserción de microimplantes de melatonina en el

área hipotalámica premamilar (lugar donde también se identificaron receptores para melatonina), incrementó la frecuencia de secreción de pulsos de LH (Malpaux *et al.*, 1998). Dicha área se localiza en la base del cerebro y se limita dorsalmente por el fornix; se extiende 3 mm de uno a otro lado del IIIV, es posterior al receso infundibular y se delimita caudalmente por los cuerpos mamilares (Malpaux *et al.*, 1998). Se considera que esta área es el principal sitio de acción de la melatonina en la regulación de la frecuencia de pulsos de LH durante la época reproductiva en la oveja.

Actualmente, en mamíferos, se conocen dos subtipos de receptores de alta afinidad para melatonina, clasificados como MT1 y MT2 (antes conocidos como Mel1a y Mel1b, respectivamente). En la oveja se ha observado que sólo se expresa el subtipo MT1. Se sugiere que los efectos estacionales de la melatonina, particularmente el control de la reproducción, son mediados por el receptor MT1 (Malpaux *et al.*, 2002).

2.4.5. Mecanismo de acción de la melatonina en la actividad reproductiva anual de la oveja

A pesar de que la melatonina regula la liberación pulsátil de LH, no existe una acción directa de esta indolamina sobre las neuronas productoras de GnRH. La distribución de la mayoría de las neuronas GnRH no corresponde con los sitios de acción de la melatonina; pues la mayoría del pericarion de GnRH se localiza en el POA (60%) y sólo un 15 % en el HMB. Algunas neuronas productoras de GnRH se proyectan a la eminencia media (EM) y colindan con la irrigación portal. Por otro lado, el tiempo que transcurre entre el inicio de un tratamiento de melatonina y la respuesta en términos de secreción de GnRH/LH sugieren una acción indirecta por medio de interneuronas. Por último, y de mucha importancia es que varios neurotransmisores han sido implicados en dicha regulación (Malpaux *et al.*, 1996).

Se sugiere que el sistema dopaminérgico interviene en la regulación de la secreción de LH causado por la melatonina. El mayor efecto de esta indolamina ocurre al modular el efecto de retroalimentación negativa del estradiol en la secreción de GnRH. La exposición a días cortos estimuladores resulta en la disminución de la actividad dopaminérgica en la EM, lo cual se ve reflejado en la reducción del contenido de dopamina y en la actividad de la tirosina hidroxilasa (TH). La estimulación en la secreción de LH a causa de un implante de melatonina provoca una reducción paralela en la actividad de la TH, esto genera una evidencia clara de que el efecto del fotoperiodo en la actividad de la TH es mediado por la melatonina (Malpaux *et al.*, 1999). La inhibición en la actividad de la TH en la EM como una consecuencia de los días cortos o por el tratamiento con un implante de melatonina se expresa cuando la supresión en la secreción de prolactina es máxima, lo cual sugiere que los cambios inducidos por el fotoperiodo en la actividad de la TH son independientes de la regulación de secreción de prolactina (Malpaux *et al.*, 1999).

Se ha sugerido la participación de la serotonina y los aminoácidos excitatorios como mediadores de la acción de la melatonina sobre las neuronas productoras de GnRH; sin embargo, los sitios y mecanismo de acción de estos neurotransmisores durante la época reproductiva de la oveja no han sido establecidos claramente.

2.4.6. Neurotransmisores y estructuras hipotalámicas involucradas durante el anestro estacional de la oveja

Los estudios iniciales acerca del control neuroendocrino de la actividad reproductiva estacional de la oveja se desarrollaron en la década de los 80. Goodman y Meyer (1984) aplicaron un anestésico (pentobarbital) a ovejas en

anestro y observaron un incremento en la secreción pulsátil de LH. Posteriormente, Meyer y Goodman (1985, 1986) utilizando ovejas en anestro inducido con tratamientos de fotoperiodo artificial, demostraron la participación de las catecolaminas en la inhibición de la secreción pulsátil de LH durante esta etapa fisiológica. La administración de antagonistas α -adrenérgicos y dopaminérgicos, causó un incremento en la secreción pulsátil de LH.

Martin y Thiéry (1987) emplearon estimulación eléctrica en el área retroquiasmática (Arch) de ovejas ovariectomizadas. Dicha área contiene la parte anterior del núcleo infundibular en la posición sagital media (equivalente al núcleo arcuato de la rata), junto a este, se encuentra el Arch. La estimulación eléctrica del núcleo infundibular indujo la secreción pulsátil de LH, probablemente por la activación directa de las terminales de las neuronas productoras de GnRH.

La estimulación del Arch reduce la secreción de LH, sugiriendo la presencia de elementos neurales inhibitorios de las neuronas GnRH. Esta área contiene el núcleo A15 dopaminérgico, correspondiente a la parte ventral del núcleo A15 de la rata y recibe una rica inervación noradrenérgica. El núcleo mencionado se localiza justo detrás del quiasma óptico y es distinto al área que contiene células dopaminérgicas del sistema tuberoinfundibular, núcleo A12 (Thiéry *et al.*, 1995).

Thiéry *et al.* (1989) aplicaron una neurotoxina catecolaminérgica específica, la 6-hidroxidopamina, dentro del núcleo A15 de ovejas ovariectomizadas tratadas con estradiol y observaron que la destrucción del 20% de los cuerpos de las células dopaminérgicas aumentó la secreción pulsátil de LH. Los resultados sugirieron que el núcleo A15 es una de las áreas hipotalámicas clave involucradas en la inhibición de la secreción pulsátil de LH mediada por el E₂ durante la época de días largos (anestro estacional). Havern *et al.* (1991) colocaron implantes intracraneales de pimozide (antagonista dopaminérgico) en el Arch y la EM de

ovejas en anestro, observándose un aumento en la secreción pulsátil de LH en los animales experimentales.

Havern *et al.* (1994) determinaron que la frecuencia de secreción de los pulsos de LH aumentó después de lesiones con radiofrecuencia en el núcleo A14 y A15 de ovejas en anestro estacional. Lo anterior demostró que no sólo el núcleo A15 interviene en la modulación de la frecuencia de secreción de LH, el núcleo A14 dopaminérgico, localizado en la parte posteroventral del POA, también tiene un papel inhibitorio en la liberación pulsátil de LH durante el anestro estacional de la oveja (Havern *et al.*, 1994).

2.4.7. Mecanismo de retroalimentación negativa del estradiol y la actividad dopaminérgica durante el anestro estacional

El mecanismo de acción del E₂ en la actividad dopaminérgica del núcleo A15 se ha estudiado por medio de la técnica de microdiálisis. Gayrard *et al.* (1992) en un experimento donde se realizaron dos sesiones de diálisis en ovejas ovariectomizadas, una después de un tratamiento con E₂ durante 10 días y la otra después de 10 días sin tratamiento, encontraron que el E₂ disminuyó la secreción pulsátil de LH, sin afectar la secreción de prolactina. Este esteroide también causó un aumento en la concentración de metabolitos catecolaminérgicos, 4-hidroxi-3-metoxifenilglicol, ácido 3,4-dihidroxifenilacético y ácido homovanílico; así como, ácido 5-hidroxi-indolacético, un metabolito de 5-hidroxitriptamina. Con lo anterior se demuestra que el E₂ estimula la actividad dopaminérgica del núcleo A15 durante el anestro estacional.

Gayrard *et al.* (1994), con el propósito de establecer si el E₂ modifica la conversión de catecolaminas en el núcleo A15, aplicaron un inhibidor de la TH (NSD1015) por microdiálisis en seis ovejas ovariectomizadas en anestro

estacional inducido por fotoperiodo artificial, después de 10 días de tratamiento con E₂ (implante subcutáneo) y después de 10 días sin tratamiento. En las ovejas tratadas con E₂ se observó inhibición en la secreción pulsátil de LH, conjuntamente con la acumulación de L-3-4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) en el núcleo A15. Lo anterior demuestra que el E₂ estimula la actividad de la TH durante el anestro estacional de la oveja. En el mismo estudio, se midieron los metabolitos de aminas extracelulares y la actividad de la TH *in vivo* en el núcleo A15, en el cual, el 45% de la actividad de las terminales noradrenérgicas habían sido desactivadas por lesión con una neurotoxina específica (nomifensina), manteniendo las células dopaminérgicas intactas. La lesión resultó en disminución del 4-hidroxi-3-metoxifeniletenglicol (MHPG) e incremento compensatorio en el ácido 5-hidroxi-indolacético (metabolitos catecolaminérgicos), mientras la inhibición de la LH se mantuvo. La acumulación de L-DOPA después del bloqueo de la TH fue similar en los animales lesionados y testigos. Se concluye que el incremento en la actividad de la TH estimulada por el E₂ en el núcleo A15 se induce por el aumento específico en los cuerpos celulares dopaminérgicos y no por las terminales noradrenérgicas presentes en este núcleo. Parece que estas terminales noradrenérgicas no participan en la inhibición de la secreción pulsátil de LH.

Los efectos del E₂ en los metabolitos catecolaminérgicos se asocian o son precedidos por la reducción en la secreción pulsátil de LH (Stefanovic *et al.*, 2000). Lehman *et al.* (1996) empleando el factor de transcripción genética *c-Fos*, como un indicador de activación neuronal, confirmaron que el E₂ estimula la actividad del pericarion dopaminérgico. El tratamiento de ovejas ovariectomizadas con E₂ incrementó el porcentaje de neuronas dopaminérgicas en el núcleo A15 que expresan la proteína *c-Fos* durante el anestro, por el contrario, el mismo tratamiento en la época reproductiva no tuvo efecto (Lehman *et al.*, 1996).

La proteína *c-Fos*, producto de la protooncogénesis se utiliza de manera extensa como un marcador de activación neuronal. El *c-Fos* es uno de varios genes que aparecen cuando ocurren cambios neuronales en respuesta a la activación por neurotransmisores, hormonas o factores de crecimiento. El heterodímero de *Fos* y *Jun*, el producto de otro gen similar, puede aumentar la transcripción de genes adicionales, incluyendo aquellos que codifican productos neurosecretorios, tales como la GnRH (Moenter *et al.*, 1993).

2.4.8. Sitios de acción del estradiol durante el anestro estacional

La localización de receptores para estradiol (RE₂) en el cerebro de la oveja se identificó por métodos histoquímicos. Estos receptores se localizan en algunos cuerpos de las células dopaminérgicas del núcleo A12, pero no en el núcleo A15 y A14 (Lehman y Karsch, 1993; Goubillon *et al.*, 1999). Por lo tanto, es poco probable que en la oveja ocurra un efecto estimulador directo del E₂ y se sugiere la participación de sistemas neuronales como intermediarios (Thiéry *et al.*, 1995). Pueden estar involucradas las terminales para noradrenalina y 5-hidroxitriptamina. Es posible que las terminales noradrenérgicas del núcleo A15 estén involucradas en la inhibición de la secreción de LH dependiente de esteroides (Thiéry *et al.*, 1995). La actividad noradrenérgica precede a la actividad dopaminérgica en una cascada de eventos que conducen a la inhibición de la secreción de LH durante el anestro estacional. Sin embargo, es poco probable que esta cascada ocurra en el núcleo A15, pues la destrucción del 45% de esta inervación no suprime la estimulación de la actividad de la TH o la inhibición de la secreción pulsátil de LH (Gayrard *et al.*, 1994; Thiéry *et al.*, 1995). Por lo tanto, existe una relación anatómica entre los núcleos A14 y A15 (Havern *et al.*, 1994). Como el POA contiene RE₂ es posible que ésta sea una vía entre los receptores en el POA, el núcleo A14 y el núcleo A15 (Thiéry *et al.*, 1995).

En otros estudios, Gallegos-Sánchez *et al.* (1997) colocaron implantes intracraneales de estradiol en el área preóptica media (POAm), el área preóptica lateral (POAL), el NVM, el Arch y el hipotálamo periventricular posterior (HPVp) de ovejas Romanov y Romanov X Ile de France ovariectomizadas en anestro estacional o días largos constantes, observaron que el E₂ actuó de manera directa en el Arch, específicamente en el núcleo A15, inhibiendo la secreción pulsátil de LH. Sin embargo, las neuronas que contienen RE₂, se localizan principalmente en el POA, hipotálamo anterior (AH), *septum* ventrolateral, la base del núcleo de la estría *terminalis*, el NVM y el núcleo arcuato, pero no en el núcleo A15 (Lehman y Karsch, 1993; Kuiper *et al.*, 1997). No existió expresión del RNAm para RE₂ en el núcleo A15; por lo tanto, no es posible explicar el efecto inhibitor local de esta hormona esteroide en la secreción pulsátil de LH durante los días largos (Thiéry *et al.*, 2002). Por otro lado, se sugiere que los cambios en el fotoperiodo pueden modificar la distribución de RE₂. Al respecto, Skinner y Herbison (1997) utilizando ovejas bajo regímenes de luz artificial simulando días cortos y días largos, encontraron RE₂ en alrededor del 25% de neuronas del núcleo A14 y 15% en el A12, independientemente de los cambios en el fotoperiodo, pero no encontraron receptores en el núcleo A15. En contraste, el número de células expresando RE₂ dentro del POA se elevó alrededor del 20% en las ovejas en anestro, comparado con los animales en fase lútea.

2.4.9. Sitios de acción de la dopamina en las neuronas productoras de GnRH durante el anestro estacional

En un primer intento para determinar la posible interacción entre el núcleo A15 y las neuronas productoras de GnRH, se administró una neurotoxina dentro de este núcleo y se observaron los cambios en el contenido de aminas de la región septopreóptica, donde se encuentran los cuerpos celulares de las neuronas productoras de GnRH y en la EM, sitio donde se localizan las terminales de estas

neuronas. Se observó disminución en el contenido de dopamina, ácido 3,4-hidroxifenilacético y ácido homovanílico en EM y reducción en el contenido de dopamina, ácido 3,4-hidroxifenilacético y noradrenalina en el núcleo infundibular, lo cual sugiere una relación funcional entre el núcleo A15, HMB y la EM. La administración periférica de domperidone (antagonista dopaminérgico) indujo un aumento en la liberación de LH (Deaver *et al.*, 1987). El domperidone no puede atravesar la barrera hematoencefálica; por lo tanto, este tratamiento tiene efecto sólo a nivel de EM. La participación de la EM sugiere una acción inhibitoria de la dopamina por medio de supresión presináptica en los axones terminales de GnRH. Estudios anatómicos apoyan esta hipótesis y permiten sugerir la presencia de terminales catecolaminérgicas cercanas a las terminales GnRH en la EM (Kuljis y Advis, 1989). Posteriormente se determinó (Viguié *et al.*, 1996) que el fotoperiodo controla la actividad de las neuronas catecolaminérgicas a nivel de EM; durante los días largos se observó un incremento en la síntesis de dopamina y aumento en la actividad de la TH, asociados con la disminución en la secreción pulsátil de LH y aumento en la secreción de prolactina. Lo anterior sugiere que la inhibición de la secreción pulsátil de LH, mediada por el sistema dopaminérgico ocurre también en la EM durante un fotoperiodo largo (Viguié *et al.*, 1996).

Varios estudios realizados en ovejas adultas durante el anestro estacional, sugieren que la dopamina actúa sobre la secreción de GnRH a nivel de EM (Thiéry *et al.*, 2002), pues la concentración de dopamina en tejido y la bioactividad de la TH en la EM son más altas durante los días largos que durante los días cortos. Por otra parte, la inyección de pimozide, un antagonista de los receptores dopaminérgicos D₂ (Havern *et al.*, 1991) y la alfametilparatirosina, un inhibidor de la síntesis de catecolaminas, bloquea la síntesis de TH en la EM (Bertrand *et al.*, 1998) y estimula la secreción pulsátil de LH en ovejas ovariectomizadas tratadas con E₂ durante los días largos.

En la EM, la estimulación de los receptores D_2 inhibe la secreción pulsátil de LH (Bertrand *et al.*, 1999). La inhibición dopaminérgica de la secreción de las células productoras de GnRH puede ser, por lo tanto, presináptica y puede ocurrir en las terminales de las neuronas en la EM a través de los receptores D_2 . Sin embargo, el papel del núcleo A15 no se ha establecido en esta inhibición, pues las terminales de este núcleo se han encontrado en la neurohipófisis (Thiéry *et al.*, 2002).

En la regulación de la pulsatilidad de LH, el núcleo A15 probablemente sólo proporciona una señal “de paso” hacia la EM para amplificar la inhibición de la actividad de las células dopaminérgicas del núcleo infundibular A12, la cual es dependiente del fotoperiodo (Thiéry *et al.*, 2002). De manera alternativa, se sugiere una asociación entre el núcleo A15 y los cuerpos de las neuronas productoras de GnRH del HMB, las cuales están involucradas en la regulación de la secreción pulsátil de LH (Boukhlinq *et al.*, 1999).

De esta manera se propone que la inhibición de la actividad de las neuronas GnRH durante el anestro estacional de la oveja, puede depender de una acción en las terminales de la EM, independiente de E_2 y un efecto dependiente de E_2 a nivel de los cuerpos neuronales de las células GnRH (Thiéry *et al.*, 2002).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización geográfica

El estudio se realizó en el Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, ubicado a 19° 13' latitud norte y 99° longitud oeste, a una altura de 2760 msnm. El clima de la región es C (W) b (ij) que corresponde a semifrío subhúmedo, con lluvias en verano (García, 1981). La precipitación anual es de 800 a 1200 mm, con una temperatura promedio de 10°C.

3.2. Animales experimentales

Se utilizaron 10 ovejas adultas (entre 3 y 5 años de edad) de la raza Pelibuey con peso promedio de 54.97 ± 1.5 kg (Media \pm DE) y 10 ovejas adultas (1.5 años de edad) de la raza Suffolk con peso promedio de 89.2 ± 6.7 kg (Media \pm DE), descendientes de un rebaño importando a México hace aproximadamente 15 años. Las hembras se alojaron en corrales abiertos e independientes, en ambiente natural y aisladas de los machos. Antes de iniciar el experimento (diciembre de 2002), se verificó que las ovejas de ambas razas mostraran actividad estral. Con este propósito se realizaron detecciones diarias de estros, durante 17 días, por 15 minutos. Se utilizaron dos machos adultos provistos con mandil, uno de cada raza.

3.3. Alimentación

El sistema de alimentación para ambas razas estuvo compuesto por paja de avena, ensilado de maíz y concentrado comercial con 18% de proteína cruda

(PC), de manera que cubriera los requerimientos de mantenimiento, 2.0 Mcal de EM (NRC, 1985), para las ovejas Pelibuey y 2.6 Mcal de EM (NRC, 1985), para las ovejas Suffolk. Se ofreció agua y sales minerales *ad libitum*.

3.4. Muestreos sanguíneos y análisis de laboratorio

A todas las ovejas se les tomaron muestras de sangre durante dos años (2003 y 2004), mediante punción de la vena yugular, dos veces por semana, con tubos vacutainer heparinizados. Dentro de la primera hora después de obtenida la muestra, se centrifugó a 1,500 g durante 15 minutos. El plasma se separó y se almacenó a -20°C hasta realizar los análisis. En las muestras colectadas se determinó la concentración de P_4 por radioinmunoanálisis en fase sólida (Coat-A-Count, Diagnostic Products Corporation, Los Ángeles, CA, USA). La sensibilidad del ensayo fue de 0.02 ng ml^{-1} , con un coeficiente de variación intraensayo de 2.48 % e interensayo de 6.59 %. Se consideró como indicador de actividad ovulatoria cuando una oveja presentó concentraciones de P_4 de 1.0 ng ml^{-1} o mayores en por lo menos dos muestreos consecutivos (Yuthasastrakosol *et al.*, 1975; Walton *et al.*, 1977; Bartlewski *et al.*, 1998) y como indicador de anestro cuando las concentraciones de P_4 fueron menores a 1.0 ng ml^{-1} en ocho o más muestreos consecutivos (Porras, 1999).

Cada 15 días se registró el peso corporal de las ovejas de ambas razas y diariamente la temperatura ambiental máxima y mínima en el campo experimental.

3.5. Análisis estadístico

La proporción mensual, por época del año y entre años de hembras ovulando y en anestro se comparó entre razas con la prueba de ji-cuadrada (Infante y Zarate, 1990). Las diferencias entre años y razas en la duración del

anestro estacional se evaluaron con un análisis de varianza empleando el procedimiento PROC GLM de SAS (1989). Con los registros diarios de temperatura ambiental, se calculó el valor mensual máximo, mínimo y promedio, y los datos obtenidos se correlacionaron con la actividad ovulatoria de las ovejas de ambas razas utilizando un análisis de regresión simple, PROC REG de SAS (1989). El peso corporal de las ovejas Pelibuey y Suffolk se correlacionó con la actividad ovulatoria por medio de un análisis de regresión simple, PROC REG de SAS (1989).

4. RESULTADOS

Antes de iniciar el experimento (diciembre de 2002), todas las ovejas presentaron actividad estral.

4.1. Actividad Ovulatoria y anestro estacional

La actividad ovulatoria fue diferente ($P < 0.05$) entre razas durante los meses de febrero a junio en los dos años, y en el mes de julio del segundo año (Cuadro 1 y 2).

Cuadro 1. Porcentaje mensual de ovejas Pelibuey y Suffolk con actividad ovulatoria durante el año 2003, en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada.

Raza	n	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Pelibuey	10	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	90 ^a	90 ^a	80 ^a	90 ^a	100 ^a	80 ^a
Suffolk	10	70 ^a	0 ^b	0 ^b	10 ^b	10 ^b	20 ^b	80 ^a	80 ^a	90 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a

^{a, b} Distintas literales en una misma columna indican diferencias ($P < 0.05$).

Cuadro 2. Porcentaje mensual de ovejas Pelibuey y Suffolk con actividad ovulatoria durante el año 2004, en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada.

Raza	n	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Pelibuey	9	77.7 ^a	66.6 ^a	77.7 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a
Suffolk	10	50 ^a	10 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	10 ^b	80 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a

^{a, b} Distintas literales en una misma columna indican diferencias ($P < 0.05$).

Seis de 10 ovejas Pelibuey (60%) ovularon continuamente durante los dos años de observación, una oveja se eliminó en el segundo año de estudio al diagnosticarse un quiste folicular y sólo tres mostraron periodos de anestro estacional (Figura 1).

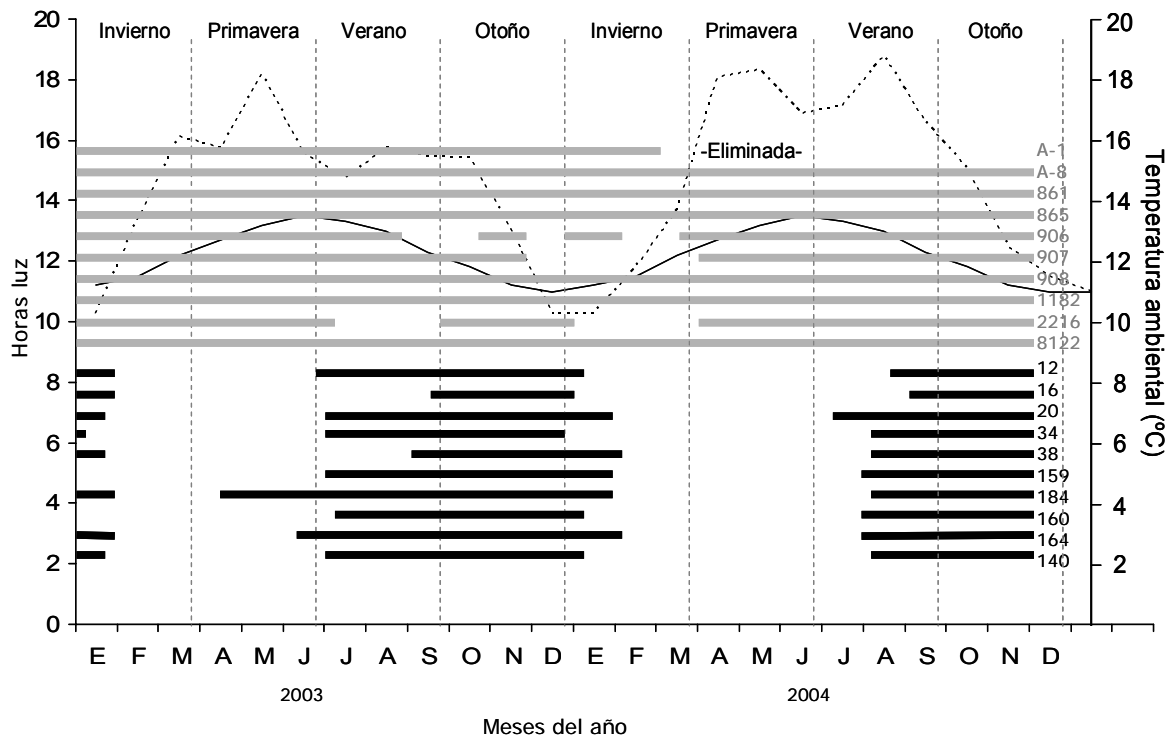


Figura 1. Actividad ovulatoria anual (barras rectas horizontales) en ovejas Pelibuey (barras grises) y Suffolk (barras negras) en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada. Temperatura ambiental (----). Horas luz (____).

En contraste, el 100% de las ovejas Suffolk mostraron anestro estacional entre febrero y junio en 2003 y de febrero a julio en 2004 (Cuadros 1 y 2; Figura 1). De agosto a enero, el comportamiento reproductivo de ambas razas fue similar ($P > 0.05$; Cuadro 1 y 2).

Al comparar el porcentaje de actividad ovulatoria en relación con la estación del año, se observaron diferencias ($P < 0.05$) entre razas en invierno y primavera en 2003 y en primavera y verano en 2004 (Cuadro 3). La proporción de ovejas Pelibuey ovulando en estas épocas fue alta en comparación con las Suffolk (Cuadro 3).

Cuadro 3. Porcentaje de ovejas Pelibuey y Suffolk con actividad ovulatoria por estación del año en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada.

Raza	n	Estaciones del año								
		2003				2004				
		Invierno	Primavera	Verano	Otoño	n	Invierno	Primavera	Verano	Otoño
Pelibuey	10	100 ^a	100 ^a	80.5 ^a	80.6 ^a	9	84.5 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a
Suffolk	10	30 ^b	10 ^b	80 ^a	100 ^a	10	70 ^a	0 ^b	60 ^b	100 ^a

^{a, b} Distintas literales en una misma columna indican diferencias ($P < 0.05$).

Se observó diferencia ($P < 0.05$) en febrero al comparar los años 2003 y 2004, en cuanto a la proporción de ovejas Pelibuey con actividad ovulatoria (Figura 2). La misma comparación, pero en la raza Suffolk, indicó diferencia ($P < 0.05$) en julio (Figura 3).

No hubo diferencia ($P > 0.05$) en el porcentaje de ovejas de ambas razas con actividad ovulatoria en las distintas estaciones del año entre 2003 y 2004 (Figuras 4 y 5).

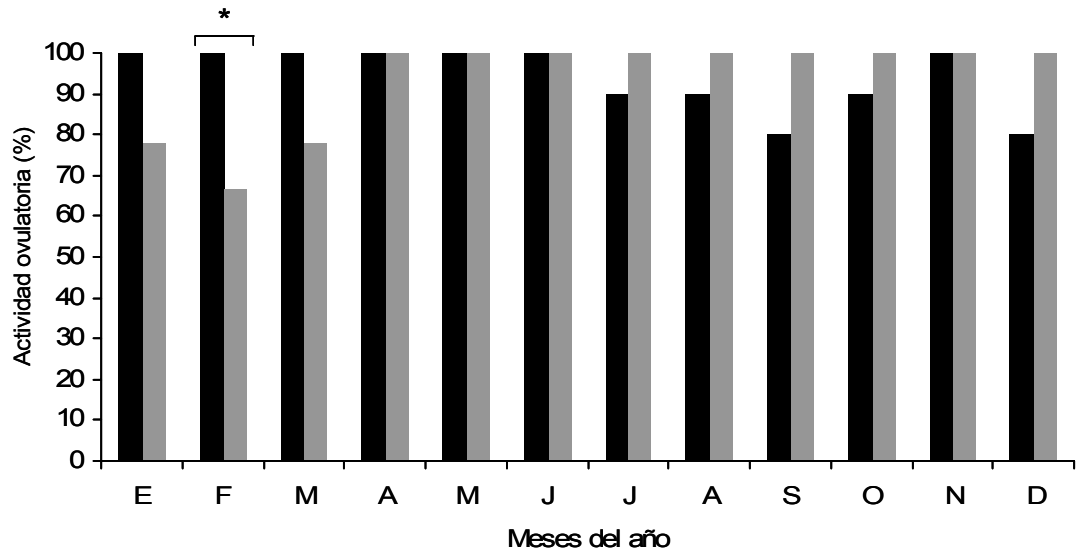


Figura 2. Diferencias anuales en la actividad ovulatoria de ovejas Pelibuey en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada. * Indica diferencia ($P < 0.05$; año 2003, barras negras; año 2004, barras grises).

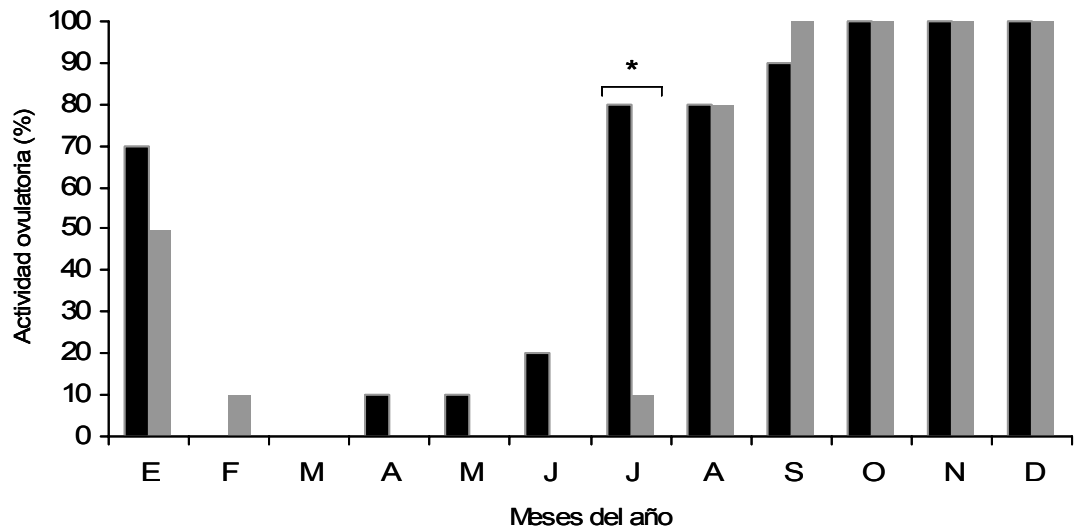


Figura 3. Comparación anual de la actividad ovulatoria en ovejas Suffolk en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada. * Indica diferencia ($P < 0.05$; año 2003, barras negras; año 2004, barras grises).

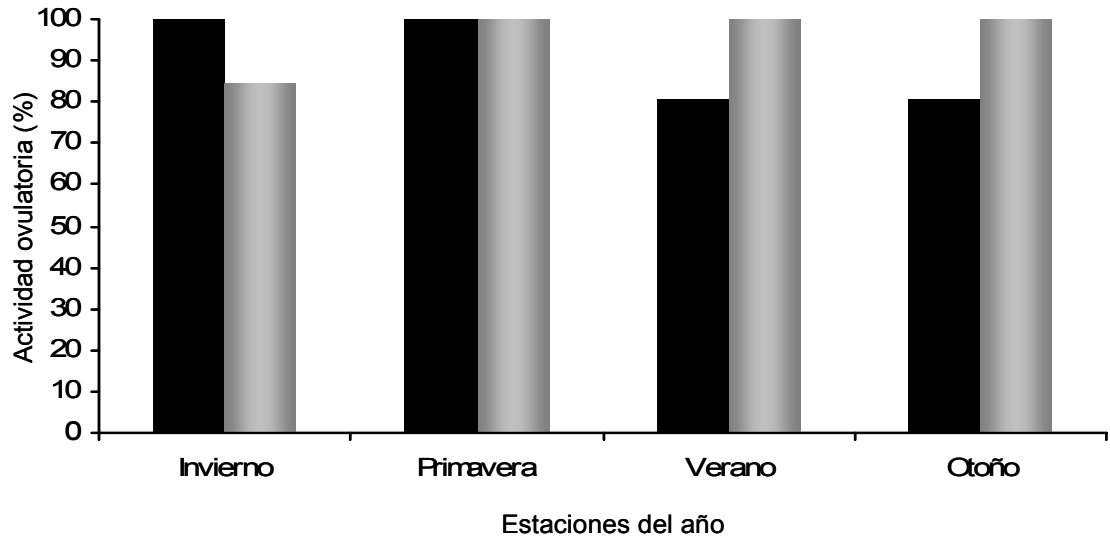


Figura 4. Actividad ovulatoria anual en ovejas Pelibuey por estación del año en 2003 (barras negras) y 2004 (barras grises) en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada. No hubo diferencias ($P>0.05$).

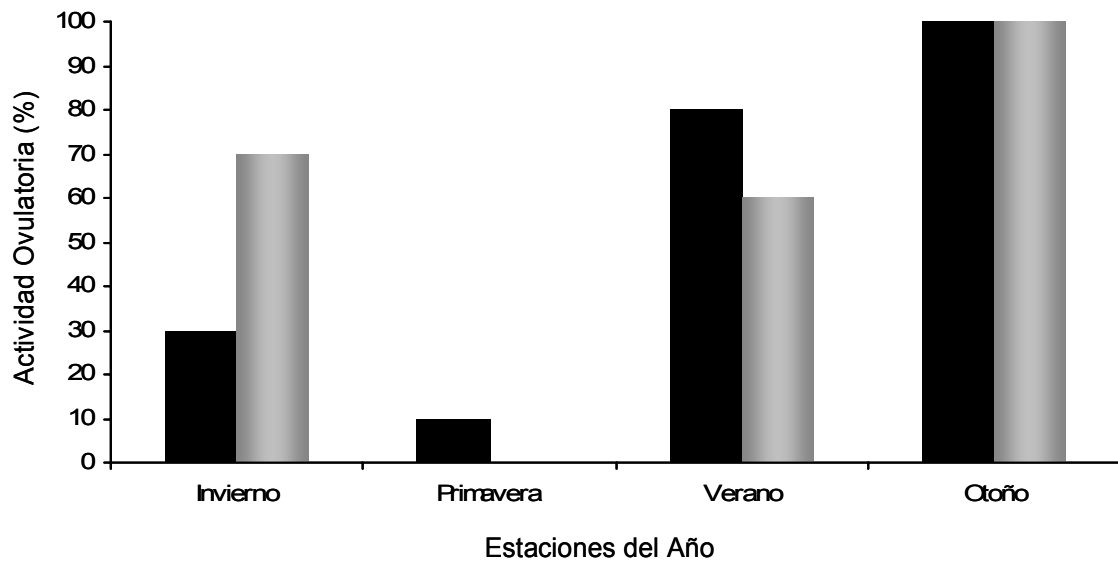


Figura 5. Actividad ovulatoria anual en ovejas Suffolk por estación del año en 2003 (barras negras) y 2004 (barras grises) en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada. No hubo diferencias ($P>0.05$).

En los dos años de estudio, la duración del anestro estacional fue mayor ($P < 0.05$) en las ovejas Suffolk en comparación con las Pelibuey (Cuadro 4) y el periodo de anestro estacional dentro de raza fue similar ($P > 0.05$; cuadro 4).

Cuadro 4. Duración del anestro estacional en ovejas Pelibuey y Suffolk en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada.

Raza	n	Duración del anestro (Días; media \pm D.E.)	
		Año 2003	Año 2004
Pelibuey	3	65 \pm 46 ^a	70 \pm 36 ^a
Suffolk	10	166 \pm 43 ^b	198 \pm 26 ^b

^{ab} Valores en una fila o columna con distinta literal son diferentes ($P < 0.05$).

4.2. Temperatura ambiental

No hubo correlación ($P > 0.05$) entre la temperatura ambiental mínima o máxima y la actividad ovulatoria de las ovejas en ninguna de las dos razas.

4.3. Peso corporal

El peso corporal de las ovejas Pelibuey se mantuvo constante durante todo el experimento y no se asoció con su actividad ovulatoria. En contraste, se observó un incremento en el peso corporal de las ovejas Suffolk [83.7 \pm 5 y 94.6 \pm 2 kg (Media \pm D.E.) en 2003 y 2004, respectivamente], no asociado con su actividad ovulatoria.

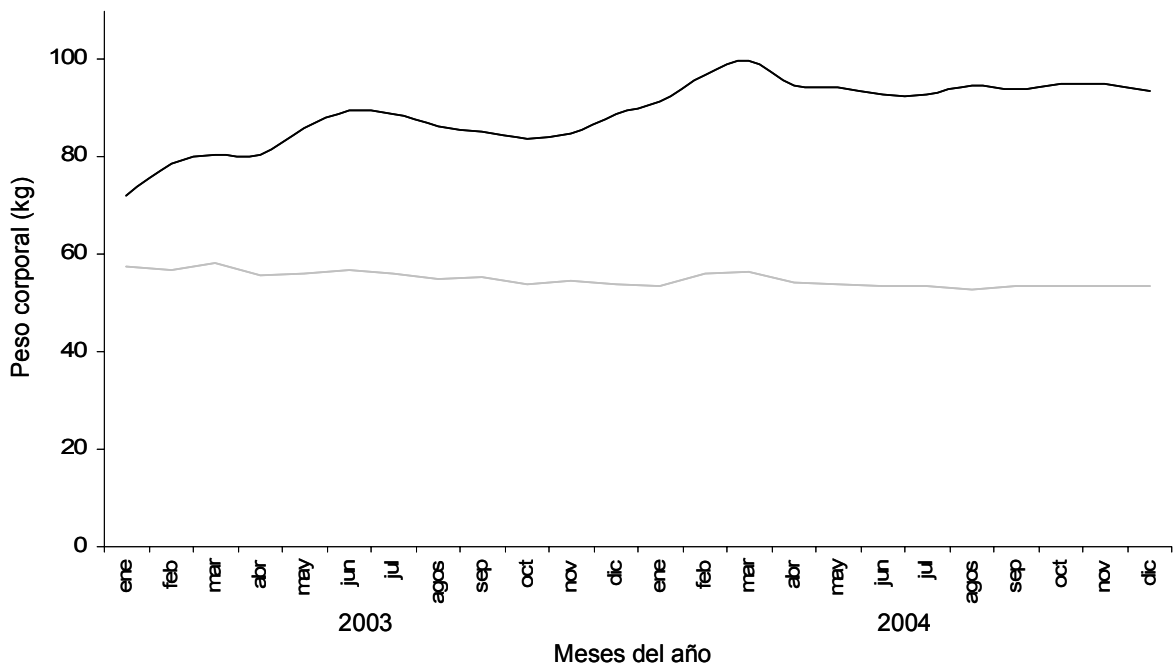


Figura 6. Peso corporal promedio mensual en ovejas Pelibuey (línea gris) y Suffolk (línea negra) en ambiente natural (19° Lat. N) y alimentación controlada. No hubo correlación entre el peso corporal y la actividad ovulatoria anual en ninguna raza.

5. DISCUSIÓN

En el presente estudio se demostró que en el altiplano mexicano (19° Lat. N), existen ovejas Pelibuey que son capaces de ovular todo el año. Es el primer estudio donde se observan ovejas de esta raza que ovulan sin interrupción por dos años; lo anterior demuestra que este comportamiento es repetible y por primera vez se identifican claramente individuos con esta característica. Este descubrimiento es relevante por que abre la posibilidad de seleccionar ovejas con esta capacidad. En un esquema de selección desarrollado en las ovejas Merino de Arles al Sur de Francia, se determinó que la heredabilidad y la repetibilidad de

ovulaciones espontáneas en primavera fue de 20 y 30%, respectivamente (Hanocq et al., 1999), resultando esta característica genética repetible, lo cual sugiere que alelos de genes específicos controlan la presencia o ausencia de ovulaciones durante la primavera. Una posible explicación, para este fenómeno, se asocia con la diferencia entre individuos en la estructura genómica del gen para el receptor de melatonina Mel_{1a} , el cual se encuentra en muchas especies animales y varias regiones corporales, incluyendo el cerebro (Messer *et al.*, 1997). Sin embargo, en ovejas no se ha encontrado asociación entre alguna mutación en este gen y la duración del anestro estacional o ausencia del mismo (Pelletier *et al.*, 2000; Hernández *et al.*, 2005). De acuerdo con esta información, se sugiere que la actividad ovulatoria continua observada en las ovejas Pelibuey puede ser heredable también y sería posible diseñar programas genéticos con el propósito de controlar la estacionalidad reproductiva.

En este estudio una alta proporción de ovejas Pelibuey ovularon todo el año, independientemente de los cambios naturales en la amplitud del fotoperiodo. De acuerdo con estos resultados y con los obtenidos por Porras (1999), se sugiere que existen tres tipos de ovejas Pelibuey: 1) Aproximadamente el 30% de las ovejas tienen un bajo umbral de respuesta a los cambios mínimos en la duración del fotoperiodo característico de regiones tropicales y responden expresando anestro estacional; 2) Una proporción de ovejas que puede ser tan elevada como el 60%, tienen un umbral alto de respuesta a las variaciones de luz característica de una latitud de 19° norte y mantienen su actividad ovulatoria durante todo el año; y 3) Un grupo de ovejas (aproximadamente 20%; Porras, 1999) con un umbral extremadamente alto que permanecen ovulando, aún al ser expuestas a un fotoperiodo característico de latitudes altas (>56°). La explicación de estas variaciones fisiológicas se desconoce. Sin embargo, Chemineau *et al.* (2004) plantearon dos hipótesis que pueden explicar el modelo reproductivo anual de las ovejas en regiones tropicales; en la primera hipótesis sugieren que las ovejas son insensibles al fotoperiodo y en la segunda mencionan que los cambios en el

fotoperiodo son tan ligeros que no son detectados por los ovinos. Los resultados del presente estudio confirman la primera hipótesis, por que con los ligeros cambios en el fotoperiodo a 19° Lat. N, todas la ovejas Suffolk y el 30% de las Pelibuey fueron capaces de interpretar la señal luminosa y expresar anestro estacional. El hecho de que algunas ovejas Pelibuey ovulen sin interrupción y otras expresen periodos de anestro, demuestra que existe variabilidad entre ovejas en su capacidad para responder al fotoperiodo. Al respecto, Pelletier *et al.* (2000) mencionaron que en razas de origen mediterráneo existe variabilidad entre y dentro de raza en la duración y expresión del anestro estacional; mientras algunas muestran anestro estacional, otras expresan periodos cortos de anestro y algunas ovejas ovulan todo el año. Este comportamiento es similar al observado en la oveja Pelibuey en México. Sin embargo, se desconoce el origen de esta variabilidad dentro de raza. Posiblemente, en las ovejas con actividad ovulatoria continua, el fotoperiodo no induce el aumento en la sensibilidad del hipotálamo a las concentraciones circulantes de estradiol y por lo tanto, no ejerce el efecto de retroalimentación negativa a nivel central, no activa las neuronas dopaminérgicas del núcleo A15 del área retroquiasmática lateral y al no incrementarse la concentración de dopamina, no hay supresión en la secreción pulsátil de GnRH y LH, mecanismo neuroendocrino clásico que induce el anestro estacional y que se ha descrito en ovejas de origen septentrional ($\geq 35^\circ$ Lat. N) (Thiéry *et al.*, 1995; Gallegos-Sánchez *et al.*, 1997; Lehman *et al.*, 2002; Thiéry *et al.*, 2002).

Otra explicación de la variabilidad en la respuesta al fotoperiodo entre hembras Pelibuey puede asociarse con la diferencia observada (45° Lat. N) entre individuos en la secreción de melatonina (Malpaux *et al.*, 1987), característica altamente repetible y heredable (Zarazaga *et al.*, 1998a), que ha permitido seleccionar ovejas con la capacidad de producir altas y bajas concentraciones de melatonina (Coon *et al.*, 1999; Zarazaga *et al.*, 1998a; Zarazaga *et al.*, 1998b). También se ha demostrado que la diferencia en la concentración fisiológica de esta indolamina tiene su origen en las variaciones entre individuos en el tamaño y

peso de la glándula pineal (Coon *et al.*, 1999), sin que se haya determinado el efecto biológico de esta diferencia. Con relación a lo anterior, Carcangiu *et al.* (2005), evaluaron las variaciones en la concentración de melatonina en cabras a 30° Lat. N y mencionaron que las hembras con menor concentración de melatonina plasmática expresaron una reducida estacionalidad reproductiva. Con base en lo anterior, es posible sugerir que las ovejas Pelibuey con actividad ovulatoria continua, tal vez sintetizen menos melatonina, como consecuencia de un menor tamaño de la glándula pineal y que la baja concentración de melatonina favorezca la insensibilidad a las variaciones en el fotoperiodo, lo cual origina la ausencia de anestro estacional. Sin embargo, esta hipótesis debe demostrarse aún.

En este estudio tres ovejas Pelibuey mostraron periodos de anestro estacional, agrupados entre julio de 2003 y marzo de 2004. El primer año, el anestro en las Pelibuey ocurrió entre julio y diciembre, después del solsticio de verano (21 de junio), cuando las horas luz decrecen; es decir, no hubo sincronía entre el cese de la actividad ovulatoria de estas ovejas y la señal fotoperiodica clásica que pone a tiempo el ritmo endógeno en los ovinos para iniciar y terminar el anestro estacional (Karsch *et al.*, 1984). En contraste, en el segundo año, las tres ovejas mostraron anestro cuando las horas luz se incrementaron (enero a abril), sin tener una explicación de esta variación entre años, ya que ni la temperatura ambiental, ni los cambios en el peso corporal se asociaron con este comportamiento. En estudios realizados con ovejas de origen europeo, manteniendo un fotoperiodo constante durante varios meses, se demostró que las hembras se vuelven refractarias al fotoperiodo imperante y manifiestan un estado reproductivo contrario al que estaban presentando (Karsch *et al.*, 1984; Malpoux *et al.*, 1987). Estas observaciones permitieron sugerir la participación de un ritmo endógeno en los ovinos, el cual es determinante para finalizar o reiniciar su actividad reproductiva en caso de que el fotoperiodo no sincronice su ciclo reproductivo anual. Es posible que a las ovejas Pelibuey que mostraron periodos

de anestro de julio a diciembre, su ritmo endógeno les indique el momento de interrumpir su actividad ovulatoria, sin que el fotoperiodo u otro factor ambiental sincronice este evento. La variación en la presentación del anestro en las hembras Pelibuey provocó que al comparar la actividad ovulatoria entre años, hubiera diferencia ($P < 0.05$) en el mes de febrero.

El ciclo reproductivo anual de las ovejas Pelibuey fue diferente al de las Suffolk, las cuales mostraron anestro estacional de febrero a julio. Previamente, De Lucas-Tron *et al.* (1997) en el altiplano mexicano al evaluar la actividad estral anual en ovejas Suffolk, utilizando machos con el pene desviado, reportaron anestro estacional de febrero a septiembre con una duración de 242 días. En el presente estudio, el anestro estacional en las ovejas Suffolk fue más corto (166 ± 43 y 198 ± 26.2 días en 2003 y 2004, respectivamente), inició a mediados de enero y finalizó entre julio y agosto. El mes de finalización del anestro fue diferente ($P < 0.05$) entre años. Anteriormente se han reportado variaciones entre años en el inicio de la época reproductiva en ovejas Suffolk (Robinson y Karsch, 1984). Este comportamiento se atribuye a la sensibilidad de las ovejas para responder a los cambios anuales en la duración del fotoperiodo, es decir, depende del momento en que se vuelven refractarias a los días largos inhibitorios y reinician su actividad ovulatoria (Robinson *et al.*, 1985).

Los resultados del presente estudio demostraron que las ovejas Suffolk son sensibles a los cambios en la amplitud del fotoperiodo a 19° Lat. N y por lo tanto expresan anestro estacional de manera similar al observado en ovejas de esta misma raza que habitan en latitudes altas (42° N; Robinson y Karsch, 1984). Por lo tanto, se sugiere que la duración en la secreción de melatonina en la raza Suffolk a 19° Lat N, provoca un cambio en la sensibilidad del hipotálamo a la concentración basal de estradiol, el cual activa las neuronas dopaminérgicas del núcleo hipotalámico A15; al aumentar la concentración de dopamina, esta actúa como un neurotransmisor intermediario entre el estradiol y las neuronas

productoras de GnRH e inhibe la secreción pulsátil de LH, impidiendo con ello la ovulación (Gayrard *et al.*, 1994; Havern *et al.*, 1994; Gallegos-Sánchez *et al.*, 1997; Gallegos-Sánchez *et al.*, 1998; Lehman *et al.*, 2002; Thiéry *et al.*, 2002). Se sugiere por lo tanto, que el mecanismo neuroendocrino que provoca el anestro estacional, es funcional en las ovejas Suffolk, a pesar de encontrarse a la latitud mencionada.

Las etapas de transición de las ovejas Suffolk en este estudio, fueron similares (enero y julio) a las observadas por Robinson y Karsch (1984) y Robinson *et al.* (1985) en ovejas de la misma raza en Michigan, E.U. (42° Lat. N). La duración del anestro estacional en las ovejas Suffolk en este trabajo fue similar a lo reportado en latitudes mayores de 35° (Karsch *et al.*, 1984) y contrario a los estudios descritos por Yeates (1949), Hafez (1952) y Jansen y Jackson (1993) donde se menciona que ovejas originarias de latitudes altas (>35°) que habitan o son trasladadas a regiones ecuatoriales (<35°), reducen la duración del anestro estacional o muestran periodos indefinidos de inactividad ovulatoria. Lo anterior indica que las ovejas Suffolk de este trabajo a pesar de ser originarias de una latitud norte de 19°, expresan estacionalidad reproductiva, característica genética que a través del proceso de selección natural le permitió a esta raza adaptarse y sobrevivir a condiciones extremas ambientales y de disponibilidad de alimento (Karsch *et al.*, 1984). De manera contraria, en regiones cercanas al ecuador, las variaciones ambientales no generan una presión tan intensa como la observada en regiones septentrionales; por lo tanto, las ovejas originarias de esas zonas geográficas, no desarrollaron una estacionalidad reproductiva marcada como estrategia de supervivencia y posiblemente eso explique por que algunos individuos no utilizan el fotoperiodo para sincronizar su actividad reproductiva anual.

La temperatura ambiental no se asoció con la actividad reproductiva anual de las hembras Pelibuey y Suffolk bajo las condiciones de este estudio. Lo anterior concuerda con las observaciones de Wodzicka-Tomaszewska *et al.* (1967),

quienes al estudiar el comportamiento reproductivo de ovejas bajo fotoperiodo ecuatorial constante y variaciones en la temperatura ambiental durante dos años y medio, reportaron que esta variable ambiental no afecta el ciclo reproductivo anual de los ovinos.

La mayoría de la información referente al efecto de la temperatura ambiental en la reproducción de la oveja, hace referencia a temperaturas altas, principalmente al impacto sobre la expresión de estros durante la época reproductiva, la fertilidad y la sobrevivencia embrionaria (Neville y Neathery, 1974; Igono *et al.*, 1983; Sheikheldin *et al.*, 1988; Clarke y Tilbrook, 1992). En este trabajo, ni las ovejas Pelibuey, ni las Suffolk tuvieron estrés por temperatura, pues las temperaturas promedio mínimas y máximas durante 2003 fueron de 8.5 ± 3.5 y 20.6 ± 2.8 °C, respectivamente y durante 2004 de 7.8 ± 2.7 y 22.2 ± 4.4 °C, respectivamente; rango comprendido del área termoneutral reportada para rumiantes, incluyendo ovinos (10 a 27 °C; Webster, 1983). Los rumiantes tienen la habilidad de alterar su área de neutralidad termal en respuesta a su historia previa de temperatura ambiental (Webster, 1983), lo que aumenta su habilidad para adaptarse a climas extremos.

En el estudio se observó incremento en el peso corporal de las ovejas Suffolk, no asociado con su actividad ovulatoria. Este comportamiento, posiblemente se relaciona con la edad de las ovejas. Al respecto, Freetly *et al.* (2002), mencionan que las ovejas Rambouillet alcanzan el 95% de su peso adulto a las 71 semanas de edad y las ovejas Finnsheep a las 113 semanas. Las ovejas Suffolk en este estudio, tenían al inicio del experimento 78 semanas de edad, lo cual sugiere que aún no alcanzaban su peso adulto y por lo tanto, el incremento de peso observado puede considerarse fisiológicamente natural. Efectivamente no se asocia con la actividad ovulatoria por que las ovejas Suffolk alcanzan la pubertad (edad en la que se presenta la primera ovulación en la vida del animal) aproximadamente a los 245 días de edad (Quirke *et al.*, 1985; alrededor de las 35

semanas de edad), y por lo tanto, al momento de iniciar el estudio, las ovejas Suffolk ya mostraban actividad ovulatoria. Lo cual se demostró con la detección de estros realizada en diciembre de 2002, en la cual todas las ovejas mostraron estro. Se asume que las ovejas Pelibuey, por su edad, ya habían alcanzado su peso adulto y por lo tanto mantuvieron un peso corporal constante.

Es importante mencionar que las ovejas utilizadas en el trabajo fueron mantenidas en condiciones experimentales. Las hembras Pelibuey no fueron inseminadas, ni estuvieron gestantes desde por lo menos un año antes de iniciar el experimento y evidentemente, durante el estudio no fueron expuestas al macho. Por su parte, las ovejas Suffolk nunca habían experimentado el cambio fisiológico generado por una gestación. Porras *et al.* (2003) señalaron que la estacionalidad reproductiva no se expresa claramente en ovejas sin presiones fisiológicas (gestación, lactancia) que se encuentran ciclando y para las cuales resulta fácil seguir haciéndolo, y mencionaron que en esos casos, evaluar situaciones en las que se restablece la actividad ovulatoria, como la pubertad o el posparto, permite identificar diferencias importantes entre épocas del año. Lo anterior sugiere que haber mantenido las ovejas de este estudio en las condiciones descritas, favoreció la expresión de actividad ovulatoria continua; sin embargo, las ovejas Suffolk, estuvieron en condiciones similares a las Pelibuey y se observó claramente que manifestaron anestro estacional.

Por último, los conocimientos obtenidos en este trabajo generan la base para desarrollar futuras investigaciones referentes a los factores neuroendocrinos y genéticos implicados en la estacionalidad reproductiva en los ovinos de pelo en México. Se obtuvo un modelo biológico único, la oveja Pelibuey que ovula todo el año. Sin embargo, el número de hembras con esta característica identificadas en el presente estudio, fue reducido; por lo tanto, se considera necesario identificar ovejas de este tipo en hatos más numerosos. Resulta de interés, explicar a nivel neuroendocrino la ausencia de anestro estacional en estas ovejas y establecer las

diferencias con respecto a ovejas de su misma raza que muestran estacionalidad reproductiva e incluso con razas de origen europeo.

De manera adicional, identificar ovejas con actividad ovulatoria anual continua, permitirá desarrollar programas de selección con el propósito de fijar esa característica y obtener hatos que puedan reproducirse todo el año, sin la limitante que representa el anestro estacional, con los subsecuentes beneficios productivos.

6. CONCLUSIONES

Se concluye que a 19° Lat. N existen ovejas Pelibuey con la capacidad de ovular todo el año, es decir, no expresan anestro estacional y esta característica es repetible entre años. De manera contraria, las ovejas Suffolk expresan anestro estacional asociado con los cambios anuales en la amplitud del fotoperiodo y, a pesar de encontrarse en una latitud relativamente baja, se comportan de manera similar a las ovejas de la misma raza en latitudes mayores de 35°.

Contar con ovejas que expresen actividad ovulatoria todo el año, permitirá implementar programas intensivos de reproducción sin la limitante fisiológica que implica el anestro estacional. Lo anterior, combinado con un adecuado manejo de la lactancia, puede incrementar la frecuencia de partos y con ello, el número de corderos nacidos en un periodo determinado.

7. REFERENCIAS

- Alvarez R.A., Valencia Z.M. y Rodríguez R.O. 1984. Efecto del destete precoz en el comportamiento reproductivo de la oveja Pelibuey. In: *Memorias del X Congreso Nacional de Buiatría*. Acapulco, Guerrero, México. 178-181.
- Barrell G.K., Moenter M.S., Caraty A. and Karsch J.F. 1992. Seasonal changes of gonadotropin – releasing hormone secretion in the ewe. *Biol. Reprod.*, 46: 1130-1135.
- Bartlewski M.P., Beard P.A., Cook J.S. and Rawlings C.N. 1998. Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. *J. Reprod. Fert.*, 113: 275-285.
- Bartlewski M.P., Vanderpol J., Beard P.A., Cook J.S., Rawlings C.N. 2000. Ovarian antral follicular dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotropins and ovarian steroids in anoestrous Finnish Landrace ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, 58: 273-291.
- Bertrand F., Vigié C., Picard S. and Malpoux B. 1998. Median eminence dopaminergic activation is critical for the early long-day inhibition of luteinizing hormone secretion in the ewe. *Endocrinol.*, 139: 5094-5102.
- Bertrand F., Thiéry J.C., Picard S. and Malpoux B. 1999. Implication of D2-like dopaminergic receptors in the median eminence during the establishment of long-day inhibition of LH secretion in the ewe. *J. Endocrinol.*, 163: 243-254.
- Blache D., Batailler M., Fabre-Nys C. 1994. Oestrogen receptors in the preoptico hypothalamic continuum: Immunohistochemical study of the distribution and cell density during oestrous cycle in ovariectomized ewe. *J. Neuroendocrinol.*, 6: 329-339.

- Boukhling R., Goodman L.R., Berriman J.S., Adrian B. and Lehman M. 1999. A subset of gonadotropin-releasing hormone neurons in the ovine medial basal hypothalamus is activated during increasing pulsatile luteinizing hormone secretion. *Endocrinol.*, 140: 5929-5936.
- Caldani M., Batailler M., Thiery J.C., Dubois M.P. 1988. LHRH-immunoreactive structures in the sheep brain. *Histochemistry*, 89: 129-139.
- Caraty A., Fabre-Nys C., Delaleu B., Locatelli A., Bruneau, Karsch F.J. and Herbison A. 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. *Endocrinol.*, 139:1752-1760.
- Caraty A., Delaleu B., Chesneau D. and Fabre-Nys C. 2002. Sequential role of E2 and GnRH for the expression of estrous behavior in ewes. *Endocrinol.*, 143: 139-145.
- Carcangiu V., Vacca G.M., Parmeggiani A., Mura M.C., Bini P.P. 2005. Blood melatonin levels relating to the reproductive activity of Sarda does. *Small Rumin. Res.*, 59: 7-13.
- Castillo R.H., Valencia Z.M., Berruecos J.M. 1972. Comportamiento reproductivo del borrego Tabasco mantenido en clima tropical y subtropical. I. Índices de fertilidad. *Téc. Pec. Méx.* 20: 52-56.
- Castillo R.H., Román P.H., Berruecos J.M. 1974. Características del crecimiento del borrego Tabasco. I. Efecto de la edad y peso al destete y su influencia sobre la fertilidad de la madre. *Téc. Pec. Méx.* 27: 28-32.

- Cerna C., Porrás A., Valencia M.J., Perera G., Zarco L. 2000. Effect of an inverse subtropical (19°13' N) photoperiod on ovarian activity, melatonin and prolactin secretion in Pelibuey ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, 60-61: 511-525.
- Coon S.L., Zarazaga L.A., Malpoux B., Ravault J.P., Bodin L., Voisin P., Weller J.L., Klein D.C. and Chemineau P. 1999. Genetic variability in plasma melatonin in sheep is due to pineal weight, not to variations in enzyme activities. *Am. J. Physiol.*, 277: E792-E797.
- Clarke I.J. and Tilbrook A.J. 1992. Influence of non-photoperiodic environmental factors on reproduction in domestic animals. *Anim. Reprod. Sci.*, 28: 219-228.
- Cruz L.C., Fernández-Baca S., Álvarez L.J. y Pérez R.H. 1994. Variaciones estacionales en la presentación de la ovulación, fertilización y sobrevivencia embrionaria de ovejas Tabasco en el trópico húmedo. *Vet. Méx.* 25: 23-27.
- Chabbert-Buffet N., Skinner D.C., Caraty A., Bouchard P. 2000. Neuroendocrine effects of progesterone. *Steroids*, 65: 613-620.
- Chemineau P., Daveau A., Cognié Y., Aumont G., Chesneau D. 2004. Seasonal ovulatory activity exists in tropical Creole female goats and Black Belly ewes subjected to a temperate photoperiod. *BMC Physiol.*, 4: 12.
- Deaver D.R., Keisler D.H. and Dailey R.A. 1987. Effects of domperidone and thyrotropin-releasing hormone on secretion of luteinizing hormone and prolactin during the luteal phase and following induction of luteal regression in sheep. *Dom. Anim. Endocrinol.*, 4: 95-102.

- De Lucas-Tron J., González P.E., Martínez R.L. 1997. Estacionalidad reproductiva en ovejas de cinco razas en el altiplano central mexicano. *Téc. Pec. Méx.*, 35: 25-31.
- Evans A.C.O., Duffy P., Hynes N. and Boland M.P. 2000. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenol.*, 53: 699-715.
- Evans N.P., Richter T.A., Skinner D.C., Robinson J.E. 2002. Neuroendocrine mechanisms underlying the effects of progesterone on the oestradiol-induced GnRH/LH surge. *Reprod. Suppl.*, 59: 57-66.
- Freetly H.C., Nienaber J.A., Brown-Brandl T. 2002. Relationships among heat production, body weight, and age in Finnsheep and Rambouillet ewes. *J. Anim. Sci.*, 80: 825-832.
- Gallegos-Sánchez J., Delaleu B., Caraty A., Malpoux B., Thiery J.C. 1997. Estradiol acts locally within the retrochiasmatic area to inhibit pulsatile luteinizing-hormone release in the female sheep during anoestrus. *Biol. Reprod.*, 56 1544-1549.
- Gallegos-Sánchez J., Malpoux B. and Thiéry J.C. 1998. Control of pulsatile LH secretion during seasonal anoestrus in the ewe. *Reprod. Nutr. Dev.*, 38: 3-15.
- Gallegos-Sánchez J., Hernández P.P. y Albarrán de la Ll. A. 1999. Neuroendocrinología del ciclo reproductivo de la oveja. In: *Memorias del curso internacional en fisiología de la reproducción en rumiantes*, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. de México. pp. 1-26.

- García E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 3ª Ed. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Gayrard V., Malpoux B. and Thiéry J.C. 1992. Oestradiol increases the extracellular levels of amine metabolites in the ewe hypothalamus during anoestrus: A microdialysis study. *J. Endocrinol.*, 135: 421-430.
- Gayrard V., Malpoux B., Tillet Y. and Thiéry J.C. 1994. Estradiol increases tyrosine hydroxylase activity of the A15 nucleus dopaminergic neurons during long days in the ewe. *Biol. Reprod.*, 50: 1168-1177.
- Goodman L.R., Bittman L.E., Foster L.D. and Karsch J.F. 1982. Alterations in the control of luteinizing hormone pulse frequency underlie the seasonal variation in estradiol negative feedback in the ewe. *Biol. Reprod.*, 27: 580-589.
- Goodman R.L. and Meyer S.L. 1984. Effects of pentobarbital anesthesia on tonic luteinizing hormone secretion in the ewe: Evidence for active inhibition of luteinizing hormone in anestrus. *Biol. Reprod.*, 30: 374-381.
- Goodman R.L., Gibson M., Skinner D.C. and Lehman M.N. 2002. Neuroendocrine control of pulsatile GnRH secretion during the ovarian cycle: evidence from ewe. *Reprod. Suppl.*, 59: 41-56.
- Gonzalez-Reyna A., Valencia J., Foot W.C. and Murphy B.D. 1991. Hair sheep in México: Reproduction in the Pelibuey sheep. *Anim. Breed. Abs.*, 59: 509-524.

- Gonzalez A., Murphy B.D., Foote W.C. and Ortega E. 1992. Circannual estrous variations and ovulation rate in Pelibuey ewes. *Small Rum. Res.*, 8: 225-232.
- Goubillon M.L., Delaleu B., Tillet Y., Caraty A., Herbison A.E. 1999. Localization of estrogen-receptive neurons projecting to the GnRH neuron-containing rostral preoptic area of the ewe. *Neuroendocrinol.*, 70: 228-236.
- Hafez E.S.E. 1952. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. *J. Agric. Sci.*, 42: 189-265.
- Hanocq E., Bodin L., Thimonier J., Teyssier J., Malpoux B., Chemineau P. 1999. Genetic parameters of spontaneous spring ovulatory activity in Merinos d'Arles sheep. *Genet. Sel. Evol.*, 31:77–90.
- Havern R.L., Whisnant C.S., Goodman R.L. 1991. Hypothalamic sites of catecholamine inhibition of luteinizing hormone in the anestrous ewe. *Biol. Reprod.*, 44: 476-482.
- Havern R.L., Whisnant C.S., Goodman R.L. 1994. Dopaminergic structures in the ovine hypothalamus mediating estradiol negative feedback in anestrous ewes. *Endocrinol.*, 134: 1905-1914.
- Herbison A.E. 1995. Neurochemical identity of neurons expressing oestrogen and androgen receptors in sheep hypothalamus. *J. Reprod. Fertil., Suppl.* 49: 271-283.
- Heredia A., Menéndez T.M. y Velázquez M.A. 1991. Factores que influyen en la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey. *In: Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*. Tamaulipas, México. 115.

- Hernández X., Bodin L., Chesneau D., Guillaume D., Chemineau P., Malpoux B., Migaud M. 2005. Relationship between MT1 melatonin receptor gene polymorphism and seasonal physiological responses in Ile-de-France ewes. *Reprod. Nutr. Dev.*, 45: 151-162.
- l'Anson H. and Legan S.J. 1988. Changes in LH pulse frequency and serum progesterone concentration during the transition to breeding season in ewes. *J. Reprod. Fertil.*, 82: 341-351.
- Igono N.O., Molokwu E.C.I. and Aliu Y.O. 1983. Seasonal variations in rectal temperature of yankasa sheep. *Vet. Res. Commun.*, 6: 223-226.
- Infante G.S. y Zárate L.G.P. 1990. Métodos estadísticos: Un enfoque interdisciplinario. 2da. Ed. Trillas. México.
- Jansen H.T., Jackson J.L. 1993. Circannual rhythms in the ewe: Patterns in ovarian cycles and prolactin secretion under two different constant photoperiods. *Biol. Reprod.*, 49: 627-634.
- Karsch J.F., Bittman L.E., Foster L.D., Goodman L.R., Legan J.S. and Robinson E.J. 1984. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Prog. Horm. Res.*, 40: 185-231.
- Karsch F.J., Dahl G.E., Evans N.P., Manning J.M., Mayfield K.P., Moenter S.M. and Foster D. 1993. Seasonal changes in gonadotropin-releasing hormone secretion in the ewe. Alteration in response to the negative feedback action of estradiol. *Biol. Reprod.*, 49: 1377-1383.

- Karsch F.J., Bowen J.M., Caraty A., Evans N.P., Moenter S.M. 1997. Gonadotropin-releasing hormone requirements for ovulation. *Biol. Reprod.*, 56: 303-309.
- Kuiper G.G.J.M., Carlsson B., Grandien K., Enmark E., Haggblad J., Nilsson S. and Gustafsson J.A. 1997. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors α and β . *Endocrinol.*, 138: 863-870.
- Kuljis R.O. and Advis J.P. 1989. Immunocytochemical and physiological evidence of a synapse between dopamine and luteinizing hormone releasing hormone containing neurons in the ewe median eminence. *Endocrinol.*, 124: 1579-1581.
- Legan J.S., Karsch J.F., and Foster L.D. 1977. The endocrine control of seasonal reproductive function in the ewe: A marked change in response to the negative feedback action of estradiol on luteinizing hormone secretion. *Endocrinol.*, 101: 818-824.
- Legan J.S. and Karsch J.F. 1979. Neuroendocrine regulation of the estrous cycle and seasonal breeding in the ewe. *Biol. Reprod.*, 20: 74-85.
- Lehman M.N., Karsch F.J. 1993. Do gonadotropin-releasing hormone, tyrosine hydroxylase-immunoreactive, and beta-endorphin-immunoreactive neurons contain estrogen receptors? A double-label immunocytochemical study in the Suffolk ewe. *Endocrinol.*, 133: 887-895

- Lehman M.N., Durham D.M., Jansen H.T., Adrian B., Goodman R.L. 1996. Dopaminergic A14/A15 neurons are activated during estradiol negative feedback in anestrous, but not breeding season ewes. *Endocrinol.*, 137: 4443-4450.
- Lehman M.N., Coolen L.M., Goodman R.L., Viguié C., Billings H.J. and Karsch F.J. 2002. Seasonal plasticity in the brain: the use of large animal models for neuroanatomical research. *Reproduction Supplement*, 59: 149-165.
- Malpaux B., Robinson J.E., Brown M.B. and Karsch F.J. 1987. Reproductive refractoriness of the ewe to induce photoperiod is not caused by inappropriate secretion of melatonin. *Biol. Reprod.*, 36: 1333-1341.
- Malpaux B., Daveau A., Maurice F., Locatelli A., Thiéry J.C. 1994. Evidence that melatonin binding sites in the pars tuberalis do not mediate the photoperiodic actions of melatonin on LH and prolactin secretion in ewes. *J. Reprod. Fertil.*, 101: 625-632.
- Malpaux B., Viguié C., Skinner D.C., Thiéry J.C., Pelletier J., Chemineau P. 1996. Seasonal breeding in sheep: Mechanism of action of melatonin. *Anim. Reprod. Sci.*, 42: 109-117.
- Malpaux B., Viguié C., Skinner D.C., Thiéry J.C. and Chemineau P. 1997. Control of the circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. *Brain Res. Bull.*, 44: 431-438.

- Malpaux B., Daveau A., Maurice-Mandon F., Duarte G., Chemineau P. 1998. Evidence that melatonin acts in the premammillary hypothalamic area to control reproduction in the ewe: Presence of binding sites and stimulation of luteinizing hormone secretion by *in situ* microimplant delivery. *Endocrinol.*, 139: 1508-1516.
- Malpaux B., Thiéry J.C., Chemineau P. 1999. Melatonin and the seasonal control of reproduction. *Reprod. Nutr. Dev.*, 39: 355-366.
- Malpaux B., Tricoire H., Mailliet F., Daveau A., Migaud M., Skinner D.C., Pelletier J. and Chemineau P. 2002. Melatonin and seasonal reproduction: Understanding the neuroendocrine mechanisms using the sheep as a model. *Reprod. Suppl.*, 59: 167-179.
- Martínez R.R.D., Zarco Q.L., Cruz L.C., Rubio G.I. 1995. La estacionalidad de la actividad ovárica en la oveja Pelibuey es independiente de variaciones en el peso o condición corporal de los animales. In: *Memorias del VIII Congreso Nacional de Producción Ovina*, Chapingo, Edo. de México. Asociación Mexicana de Técnicos Especialistas en Ovinocultura, A.C., México, 131-134.
- Martinez R.R.D. 1998. Estudios sobre la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey del trópico húmedo mexicano. *Tesis de Doctorado en Ciencias*, Facultad de Medicina veterinaria y Zootecnia, UNAM, México.
- Martin G.B., Thiery J.C. 1987. Hypothalamic multiunit activity and LH secretion in conscious sheep. *Exp. Brain Res.*, 67: 469-478.

- McNatty K.P., Hudson N.L., Henderson K.M., Lun S., Heath D.A., Gibb M., Ball K., McDiarmid J.M. and Thurley D.C. 1984. Changes in gonadotropin secretion and ovarian antral follicular activity in seasonally breeding sheep throughout the year. *J. Reprod. Fertil.*, 70: 309-321.
- Messer L.A., Wang L., Tuggle C.K., Yerle M., Chardon P., Pomp D., Womack J.E., Barendse W., Crawford A.M., Notter D.R., Rothschild M.F. 1997. Mapping of the melatonin receptor 1a (MTRN1A) gene in pigs, sheep and cattle. *Mamm. Genome.*, 8:368–370.
- Meyer S.L. and Goodman R.L. 1985. Neurotransmitters involved in mediating the steroid-dependent suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion in anestrus ewes: effects of receptor antagonists. *Endocrinol.*, 116: 2054-2061.
- Meyer S.L. and Goodman R.L. 1986. Separate neural systems mediate the steroid-dependent and steroid-independent suppression of tonic luteinizing hormone secretion in the anoestrus ewe. *Biol. Reprod.*, 35: 562-571.
- Moenter S.M., Karsch F.J. and Lehman M.N. 1993. Fos expression during the estradiol-induced gonadotropin-releasing hormone (GnRH) surge of the ewe: Induction in GnRH and other neurons. *Endocrinol.*, 133: 896-903.
- National Research Council. 1985. Nutrient requirements for sheep. Ed. 6. *National Academy Press*. Washington, D.C.
- Neville W.E. and Neathery M.W. 1974. Effect of temperature under field conditions on the reproductive performance of ewes. *J. Reprod. Fertil.*, 36: 423-426.

- Noel B., Bister J.L. and Paquay R. 1993. Ovarian follicular dynamics in Suffolk ewes at different periods of the year. *J. Reprod. Fertil.*, 99: 695-700.
- Padilla R.F.J., Mapes S.G.E., Jimenez K.F., 1988. Perfiles hormonales durante el ciclo estral de la oveja. *Téc. Pec. Méx.*, 28: 96-108.
- Pelletier J., Bodin L., Hanocq E., Malpoux B., Teyssier J., Thimonier J., Chemineau P. 2000. Association between expression of reproductive seasonality and alleles of the gene for Mel_{1a} receptor in the ewe. *Biol. Reprod.*, 62: 1096-1101.
- Pfaff D., Schwanzel-Fukuda M., Parhar I., Lauber A., McCarty I., Kow I. 1994. GnRH neurons and others cellular and molecular mechanisms for simple mammalian reproductive behaviors. *Recent Prog. Horm. Res.*, 49: 1-25.
- Porras, A.A.I. 1999. Efectos del fotoperiodo artificial sobre la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey. *Tesis de Doctorado en Ciencias Veterinaria*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Porras A.A.I., Zarco Q.L.A. y Valencia M.J. 2003. Estacionalidad reproductiva en ovejas. *Ciencia Vet.*, 9: 1-34.
- Quirke J.F., Stabenfeldt G.H., Brandford G.E. 1985. Onset of puberty and duration of the breeding season in Suffolk, Rambouillet, Finnish Landrace, Dorset and Finn-Dorset ewe lambs. *J. Anim. Sci.*, 60: 1463-1471.
- Ravindra J.P. and Rawlings N.C. 1997. Ovarian follicular dynamics in ewes during the transition from anoestrus to the breeding season. *J. Reprod. Fertil.*, 110: 279-289.

- Robinson J.E. and Karsch F.J. 1984. Refractoriness to inductive day lengths terminates the breeding season of the Suffolk ewe. *Biol. Reprod.*, 31: 656-663.
- Robinson J.E., Wayne N.L. and Karsch F.J. 1985. Refractoriness to inhibitory day lengths initiates the breeding season of the Suffolk ewe. *Biol. Reprod.*, 32: 1024-1030.
- Robinson J.E., Kendrick K.M. 1992. Inhibition of luteinizing hormone secretion in the ewe by progesterone: Associated changes in the release of gamma-aminobutyric acid and noradrenaline in the preoptic area as measured by intracranial microdialysis. *J. Neuroendocrinol.*, 4: 231-236.
- Robinson J.E. 1995. Gamma amino-butyric acid and the control of GnRH secretion in sheep. *J. Reprod. Fertil., Suppl.* 49: 221-230.
- Scaramuzzi R.J. and Baird T.D. 1977. Pulsatile release of luteinizing hormone and the secretion of ovarian steroids in sheep during anestrus. *Endocrinol.*, 101: 1801-1806.
- SAS. 1989. SAS/STAT^R User's Guide (Version 6, 4th Ed., Vol. 2). SAS Inst. Inc. Cary, NC.
- Sheikheldin M.A., Howland B.E. and Palmer W.M. 1988. Effects of heat stress on serum progesterone in cyclic ewes and on progesterone and cortisol response to ACTH in ovariectomized ewes. *J. Reprod. Fertil.*, 84: 521-529.
- Skinner D.C. and Herbison E.A. 1997. Effects of photoperiod on estrogen receptor, tyrosine hydroxylase, neuropeptide Y, and β -endorphin immunoreactivity in the ewe hypothalamus. *Endocrinol.*, 138: 2585-2595.

- Skinner D.C., Caraty A. and Allingham R. 2001. Unmasking the progesterone receptor in the preoptic area and hypothalamus of the ewe: No colocalization with gonadotropin-releasing neurons. *Endocrinol.*, 142: 573-579.
- Souza J.H.C., Campbell K.B. and Baird T.D. 1997. Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during the follicular and early luteal phases of the estrous cycle. *Biol. Reprod.*, 56: 483-488.
- Stefanovic I., Adrian B., Jansen H.T., Lehman M.N. and Goodman R.L. 2000. The ability of estradiol to induce fos expression in a subset of estrogen receptor-containing neurons in the preoptic area of the ewe depends on reproductive status. *Endocrinol.*, 141: 190-196.
- Thiery J.C., Martin G.B., Tillet Y., Caldani M., Quentin M., Jamain C. and Ravault JP. 1989. Role of hypothalamic catecholamines in the regulation of LH and prolactin secretion in the ewe during seasonal anoestrus. *Neuroendocrinol.*, 49: 80-87.
- Thiéry J.C., Gayrard V., Le Corre S., Vigié C., Martin G.B., Chemineau P. and Malpoux B. 1995. Dopaminergic control of LH secretion by the A15 nucleus in anoestrous ewes. *J. Reprod. Fertil., Suppl.* 49: 285-296.
- Thiéry J.C., Chemineau P., Hernández X., Migaud M., Malpoux B. 2002. Neuroendocrine interactions and seasonality. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 23: 87-100.
- Valencia Z.M., Castillo R.H. y Berruecos V.J. 1975. Reproducción y manejo del borrego Tabasco o Peligüey. *Téc. Pec. Méx.* 29:66-72.

- Valencia, J., Barrón, G., Fernández-Baca, S., 1978. Variaciones estacionales de la presentación de estros en ovejas Dorset y Criollas en México. *Vet. Mex.* 9, 45-50.
- Valencia M., Heredia M. y González E. 1981. Estacionalidad reproductiva en hembras Pelibuey. In: *Memorias de la VIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal*. Sto. Domingo, Republica Dominicana. 137.
- Valencia J., Porrás A., Mejía O., Berruecos J.M., Zarco L. 2002. Oestrus activity of Pelibuey ewes (dams and daughters) selected for continuous breeding. In: *XXII World Buiatrics Congress*, Hannover, Germany. 18-23 august, p. 196.
- Valencia J., Porrás A., Berruecos J.M., Zarco L. 2003. Actividad ovárica de ovejas Pelibuey seleccionadas o no para ciclar en forma continua en ausencia del macho. In: *XXVII Congreso Nacional de Buiatria*. Villahermosa, Tab., 12 - 14 de junio, CDR-4 p.
- Viguié C., Caraty A., Locatelli A. and Malpoux B. 1995. Regulation of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) secretion by melatonin in the ewe. I. Simultaneous delayed increase in LHRH and luteinizing hormone pulsatile secretion. *Biol. Reprod.*, 52: 1114-1120.
- Viguié C., Thibault J., Thiéry J.C., Tillet Y., Malpoux B. 1996. Photoperiodic modulation of monoamines and amino-acids involved in the control of prolactin and LH secretion in the ewe: evidence for a regulation of tyrosine hydroxylase activity. *J. Neuroendocrinol.*, 8: 465-474.

- Walton J.S., McNeilly J.R., McNeilly A.S. and Cunningham F.J. 1977. Changes in concentrations of follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin and progesterone in the plasma of ewes during the transition from anoestrus to breeding activity. *J. Endocrinol.*, 75: 127-136.
- Webster A.J.F. 1983. Environmental stress and the physiology, performance and health of ruminants. *J. Anim. Sci.*, 57: 1584-1593.
- Williams L.M. and Helliwell R.J.A. 1993. Melatonin and seasonality in the sheep. *Anim. Reprod. Sci.*, 33: 159-182.
- Wodzicka-Tomaszewska M., Hutchinson J.C.D. and Bennett J.W. 1967. Control of the annual rhythm of breeding in ewes: effect of an equatorial daylength with reversed thermal seasons. *J. Agric. Sci.*, 68: 61-67.
- Yeates N.T.M. 1949. The breeding season of the sheep with particular reference to its modification by artificial means using light. *J. Agric. Sci.*, 39: 1-43.
- Yuthasastrakosol P., Palmer W.M. and Howland B.E. 1975. Luteinizing hormone, oestrogen and progesterone levels in peripheral serum of anoestrous and cyclic ewes as determined by radioimmunoassay. *J. Reprod. Fertil.*, 43: 57-65.
- Zarazaga L.A., Malpoux B., Bodin L. and Chemineau P. 1998a. The large variability in melatonin blood levels in ewes is under strong genetic influence. *Am. J. Physiol.*, 274: E607-E610.
- Zarazaga L.A., Malpoux B., Guillaume D., Bodin L. and Chemineau P. 1998b. Genetic variability in melatonin concentrations in ewes originates in its synthesis, not in its catabolism. *Am. J. Physiol.*, 274: E1086-E1090.