



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

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

**EFFECTO DE LAS RESERVAS CORPORALES  
DE ENERGÍA Y DE LA RESTRICCIÓN  
NUTRICIONAL SOBRE LA EXPRESIÓN DE LA  
TRANSICIÓN REPRODUCTIVA ESTACIONAL  
EN CABRAS CRIOLLAS**

**T E S I S**

PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**PRESENTA**

**ELIAB ESTRADA CORTÉS**

**T U T O R:**

**Dr. EUGENIO VILLAGÓMEZ AMEZCUA  
MANJARREZ**

**COMITÉ TUTORAL:**

**Dr. HÉCTOR R. VERA ÁVILA  
Dr. ALEJANDRO VILLA GODOY**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **DEDICATORIA**

A mi familia y mejores amigos, Edgardo Estrada Bautista, Yolanda Cortés Bautista y Edgardo Estrada Cortés, quienes siempre han estado conmigo en todo momento, son el apoyo más grande que he tenido en mi vida, nunca terminare de agradecer lo que han hecho por mí.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México a través de la FES-Cuautitlán, por permitirme realizar los estudios de maestría en su honorable institución.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias a través de los campos ubicados en Ajuchitlán, Qro., San Luís Potosí y Distrito Federal, por permitirme realizar los estudios experimentales en sus instalaciones.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por su apoyo mediante la beca económica, la cual fue muy importante para sostenerme todo este tiempo.

Al Dr. Héctor Vera, Dr. Eugenio Villagómez y Dr. Jorge Urrutia, por el invaluable apoyo brindado en todos los sentidos y por compartir sus conocimientos conmigo. Además de la estricta relación académica que siempre hubo, en ellos pude ver a alguien más que un profesor, los aprecio mucho.

Al Dr. Héctor Jiménez, Dr. Alejandro Villa, Dr. Ricardo Basurto y Dr. Cesar Mejía, por sus valiosas sugerencias y apoyo durante el transcurso de la presente investigación.

Al M.C. Mario Cárdenas y Q.F.B. Patricia Sánchez del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y de la Nutrición Salvador Zubirain, por el apoyo con el RIA para LH.

Al Dr. Antonio Porras y Dr. Lorenzo Álvarez, por sus valiosas sugerencias para enriquecer el contenido del escrito de tesis.

A Tere Rivera, Héctor Gámez, a las familias Reza y Torres, Jazmín Ramírez, Mario Espinosa y a todos los compañeros y amigos que me apoyaron de una u otra forma en diferentes momentos del experimento y durante mi estancia en la maestría, mil disculpas por no mencionarlos a todos, pero no terminaría.

## CONTENIDO

	Página
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	I
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	I
<b>RESUMEN</b>	II
<b>ABSTRACT</b>	III
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>1.1. Objetivo</b>	3
<b>1.2. Hipótesis</b>	3
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	4
<b>2.1. Fisiología del eje reproductivo en la cabra</b>	4
2.1.1. Ciclo estral de la cabra	5
2.1.2. El eje hipotálamo hipófisis	5
2.1.3. Desarrollo folicular	13
<b>2.2. Fisiología de la estacionalidad reproductiva</b>	19
2.2.1. Manifestación de la estacionalidad en la cabra	19
2.2.2. Factores que influyen en la regulación de la estacionalidad	21
2.2.3. Efecto neuroendocrino del fotoperiodo en la estacionalidad	23
<b>2.3. Efecto del estado nutricional sobre la reproducción</b>	28
2.3.1. Relación entre la nutrición y la reproducción	28
2.3.2. El estado nutricional energético y la secreción de GnRH/LH	30
2.3.3. El estado nutricional energético y el desarrollo folicular	39
<b>2.4. Efecto de la nutrición sobre la estacionalidad reproductiva</b>	41

<b>III. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	45
<b>3.1. Generales</b>	45
<b>3.2. Actividad ovulatoria y duración del periodo anovulatorio</b>	47
<b>3.3. Desarrollo folicular</b>	48
<b>3.4. Secreción de LH</b>	48
<b>3.5. Análisis estadístico</b>	50
<b>IV. RESULTADOS</b>	51
<b>4.1. Actividad ovulatoria y desarrollo folicular</b>	51
<b>4.2. Secreción de LH</b>	54
<b>V. DISCUSIÓN</b>	59
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	71
<b>VII. LITERATURA CITADA</b>	72
<b>VIII. APÉNDICE</b>	96

## ÍNDICE DE CUADROS

	Página
<b>Cuadro 1.</b> Índice de masa corporal promedio, finalización de la actividad ovulatoria y finalización de la actividad ovulatoria regular durante la transición hacia la época anovulatoria.	51
<b>Cuadro 2.</b> Cambios en el diámetro del folículo mayor por efecto de la interacción entre el índice de masa corporal y el periodo de evaluación.	52
<b>Cuadro 3.</b> Cambios en el número total de folículos antrales por efecto de la interacción entre el consumo de alimento y el periodo de evaluación.	53
<b>Cuadro 4.</b> Índice de masa corporal promedio, reinicio de la actividad ovulatoria, reinicio de la actividad ovulatoria regular y duración del periodo anovulatorio durante la transición hacia la época reproductiva.	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Cambios en la concentración media de LH por efecto de la interacción entre el índice de masa corporal, el consumo de alimento y el periodo de muestreo.	55
<b>Figura 2.</b> Cambios en la concentración basal de LH por efecto de la interacción entre el índice de masa corporal, el consumo de alimento y el periodo de muestreo.	56
<b>Figura 3.</b> Cambios en la concentración basal de LH por efecto de la interacción entre el índice de masa corporal y el periodo de muestreo.	58

# EFFECTO DE LAS RESERVAS CORPORALES DE ENERGÍA Y DE LA RESTRICCIÓN NUTRICIONAL SOBRE LA EXPRESIÓN DE LA TRANSICIÓN REPRODUCTIVA ESTACIONAL EN CABRAS CRIOLLAS.

## RESUMEN

Se realizó un estudio para determinar el efecto de las reservas corporales de energía (índice de masa corporal; IMC) y el consumo de alimento (CA) sobre la duración del periodo anovulatorio (ANOV) y la actividad ovulatoria, desarrollo folicular y secreción de LH durante los periodos de transición reproductiva estacional. Se utilizaron 48 cabras criollas (36 intactas y 12 OVX+E2), que fueron asignadas a dos grupos (n=24): IMC alto y bajo (IMCA e IMCB,  $\geq 10.5$  o  $\leq 10.0$  unidades). Posteriormente cada grupo de IMC se subdividió en dos subgrupos: sin restricción en el CA (100% de la ración; SRCA, n=12) y con restricción temporal en el CA (100 % y 60% de la ración en periodos de 11 y 10 d; CRCA, n=12). El periodo experimental inició coincidiendo con un estro sincronizado y el IMC se registró cada 7 d. La actividad ovulatoria se determinó en las cabras intactas a partir de las concentraciones plasmáticas de progesterona y se monitoreó el desarrollo folicular durante la transición al periodo anovulatorio en 3 cabras/tratamiento y al final de cada uno de 3 periodos de 21 días. La LH se determinó en las cabras OVX a partir de muestras plasmáticas obtenidas cada 15 min/6 h al final de cada uno de 6 periodos de 21 d (1 a 3 en la transición al periodo anovulatorio y 4 a 6 en la transición a la época reproductiva). Durante el estudio, la restricción intermitente en el CA no alteró la clasificación inicial del IMC en los grupos CRCA ( $P > 0.1$ ). Durante la transición al periodo anovulatorio, las cabras CRCA finalizaron la actividad ovulatoria regular 15 d antes ( $P < 0.05$ ) y tuvieron más folículos antrales (+6 folículos;  $P < 0.01$ ) al final del primer periodo de 21 d, comparado con las cabras SRCA. Las cabras con IMCA tuvieron un mayor diámetro del folículo mayor (+1 mm;  $P < 0.01$ ) al final del primer periodo de 21 d vs. las cabras con un IMCB. Sin importar el tratamiento, el número de folículos antrales totales y el diámetro del folículo mayor disminuyó ( $P < 0.01$ ) del primer al tercer periodo de 21 d (13.2, 10.8 y 4.4 folículos; 3.7, 2.7 y 2.3 mm). La frecuencia de pulsos de LH (FPLH) y sus concentraciones plasmáticas promedio (CMLH) y basal (CBLH) disminuyeron ( $P < 0.01$ ) del primer al tercer periodo de 21 d (2.1, 1.4 y 0.4 pulsos/6 h; 2.1, 1.2 y 0.5 ng/ml; 1.3, 0.8 y 0.3 ng/ml). La FPLH fue mayor en las cabras con un IMCA vs. IMCB (2.1 vs. 0.6 pulsos/6 h;  $P < 0.05$ ). Las cabras con un IMCA/SRCA tuvieron mayores ( $P < 0.05$ ) CMLH y CBLH en el primer periodo de 21 d, comparado con las cabras en las otras combinaciones de tratamientos. Durante la transición a la época reproductiva, las cabras CRCA reiniciaron su actividad ovulatoria más tarde ( $P < 0.01$ ) que las cabras SRCA. La FPLH fue más alta en cabras con IMCA vs. IMCB (3.2 vs. 0.9 pulsos/6 h;  $P < 0.01$ ) y más alta en las cabras SRCA vs. CRCA (2.8 vs. 1.3 pulsos/6h;  $P < 0.01$ ). Las CMLH y CBLH aumentaron ( $P < 0.01$ ) del periodo 4 al 6 (1.0, 1.6 y 1.9 ng/ml; 0.6, 1.0 y 1.0 ng/ml). La CMLH fue mayor en las cabras IMCA vs. IMCB (2.1 vs. 0.9 ng/ml;  $P < 0.01$ ) y tendió a ser mayor en las cabras SRCA vs. CRCA (1.9 vs. 1.0 ng/ml;  $P = 0.06$ ). La CBLH fue mayor en las cabras SRCA vs. CRCA (1.2 vs. 0.6 ng/ml;  $P < 0.05$ ) y tendió a ser mayor en las cabras con IMCA vs IMCB (1.2 vs. 0.6 ng/ml;  $P = 0.07$ ). La duración del periodo anovulatorio fue 30 días más largo en las cabras CRCA ( $P < 0.01$ ). En las cabras criollas, aunque el CA y las reservas corporales de energía expresadas como IMC, influenciaron de manera similar la secreción de LH durante los periodos de transición reproductiva, aparentemente es el CA el que determina la duración del periodo anovulatorio. Además, el desarrollo folicular durante la transición al periodo anovulatorio es influenciado diferencialmente por el IMC y el CA.

**Palabras clave:** Cabras, nutrición, reproducción estacional.

## **EFFECT OF BODY ENERGY RESERVES AND NUTRITIONAL RESTRICTION ON THE EXPRESSION OF SEASONAL REPRODUCTIVE TRANSITION IN CREOLE GOATS.**

### **ABSTRACT**

An experiment was designed to determine the effect of body energy reserves (Body Mass Index; BMI) and food consumption (FC) on follicular development and LH secretion throughout seasonal reproductive transitions, and length of annual anovulatory period. 48 creole goats (36 intact & 12 OVX w/17- $\beta$  estradiol implants) were initially grouped as goats with high or low BMI ( $\geq 10.5$  or  $\leq 10.0$  BMI units; HBMI & LBMI, n=24) and subgroups of non-restricted in FC (100 % of feeding levels maintained; NRFC, n=12) or temporarily restricted in FC (100 % and 60% of feeding levels for 11 and 10 d cyclically; REFC, n=12) goats within BMI levels were randomly established. Experimental period was initiated coincidentally with a synchronized estrus and BMI was registered every 14 d. Ovulatory activity was determined in intact goats from plasma progesterone concentrations and follicular development during transition into anovulatory period was monitored in 3 goats/treatment at the end of each of three 21 d windows (w). LH was determined in OVX goats from plasma samples obtained every 15min/6 h at the end of each of six 21 d w (3 for transition into & 3 for transition out of anovulatory period). Throughout the experiment intermittent restriction in FC did not alter initial BMI classification in the REFC groups ( $P > 0.10$ ). During transition into anovulatory period REFC goats ended regular ovulatory activity 15 d before ( $P < 0.05$ ) and had more total antral follicles (+ 6 follicles;  $P < 0.01$ ) at the end of the 1st 21 d w, as compared to NRFC goats. HBMI goats had a larger diameter of the biggest follicle (+1 mm;  $P < 0.01$ ) at the end of the 1<sup>st</sup> 21 d w vs. LBMI goats. Irrespective of treatment total antral follicle number & diameter of the biggest follicle diminished ( $P < 0.01$ ) from the 1<sup>st</sup> to the 3<sup>th</sup> 21 d w (13.2, 10.8 & 4.4 follicles; 3.7, 2.7 & 2.3 mm). LH pulse frequency (LHF) and plasma mean (MLH) and basal LH (BLH) diminished ( $P < 0.01$ ) from the 1<sup>st</sup> to the 3<sup>th</sup> 21 d w (2.1, 1.4 & 0.4 pulses/ 6 h; 2.1, 1.2 & 0.5 ng/ml; 1.3, 0.8 & 0.3 ng/ml). LHF was greater in HBMI vs. LBMI goats (2.1 vs. 0.6 pulses/6 h;  $P < 0.05$ ). HBMI/NRFC goats had greater ( $P < 0.05$ ) BLH and MLH at the 1<sup>st</sup> 21 d w, as compared to goats in other treatment combination. During transition out of anovulatory period REFC goats reinitiated ovulatory activity later ( $P < 0.01$ ) than NRFC goats. LHF was greater in HBMI vs. LBMI goats (3.2 vs. 0.9 pulses/6 h;  $P < 0.01$ ) and greater in NRFC vs. REFC goats (2.8 vs. 1.3 pulses/6h;  $P < 0.01$ ). MLH and BLH increased ( $P < 0.01$ ) from the 4th to the 6th 21 d w (1.0, 1.6 & 1.9 ng/ml; 0.6, 1.0 & 1.0 ng/ml). MLH was greater in HBMI vs. LBMI goats (2.1 vs. 0.9 ng/ml;  $P < 0.01$ ) and tended to be greater in NRFC vs. REFC goats (1.9 vs. 1.0 ng/ml;  $P = 0.06$ ). BLH was greater in NRFC vs. REFC goats (1.2 vs. 0.6 ng/ml;  $P < 0.05$ ) and tended to be greater in HBMI vs. LBMI goats (1.2 vs. 0.6 ng/ml;  $P = 0.07$ ). Length of anovulatory period was 30 d longer in REFC goats ( $P < 0.01$ ). In creole goats, although body energy reserves expressed as BMI and FC similarly influenced LH secretion during transition into and out of anovulatory period, FC appeared to be the main determinant of length of anovulatory period. In addition, follicular development during transition into anovulatory period was differentially influenced by BMI and FC.

**Key Words:** Goats, nutrition, seasonal reproduction.

## **I. INTRODUCCIÓN**

En México, la mayor parte de la población caprina destinada a la producción animal está constituida por animales criollos, localizados principalmente en las zonas áridas y semiáridas de los estados del centro y norte del país. En estas zonas, el sistema de producción predominante es de tipo extensivo, donde la alimentación depende fundamentalmente de la vegetación nativa de los agostaderos y del uso de esquilmos agrícolas, por lo que la condición nutricional de los animales puede ser subóptima con relativa frecuencia (Salinas, 1991; Hoyos, 1993). A pesar de que la especie caprina contribuye sólo con el 1.5 y 1.2 % de la producción de leche y carne nacional respectivamente (CNG, 2002), es una especie importante desde el punto de vista social, ya que constituye una fuente de ingreso y ahorro para los productores de zonas marginadas (Herrera, 1999; Romero, 2004).

La estacionalidad reproductiva representa uno de los principales problemas que limitan la eficiencia productiva en los sistemas de producción caprinos, debido a que este fenómeno ocasiona una menor producción de crías por año y disponibilidad de leche y carne limitada a algunas épocas del año (Shelton, 1991). Durante la evolución, las cabras desarrollaron un modelo reproductivo estacional como estrategia para que los partos coincidieran con las épocas de mayor disponibilidad de alimento y temperaturas favorables. Con la domesticación y la propagación de la especie a diversas condiciones ambientales alrededor del mundo, la época de actividad reproductiva se ha venido modificando (Martin *et al.*, 2004) presentando actualmente una gran variabilidad en su duración.

La generalidad de los estudios, indica que en las cabras domésticas la época de actividad reproductiva inicia entre el verano u otoño y finaliza entre el invierno y primavera, dependiendo de la raza y la región geográfica en que se encuentren (Shelton, 1978). En las latitudes tropicales y subtropicales de México, se ha observado que los genotipos criollos presentan una gran variación en cuanto a las fechas de inicio (entre enero y abril) y finalización (mayo a agosto) de la época de anestro (Gutiérrez, 1979; Vega *et al.*, 1983; Valencia *et al.*, 1990; Monroy *et al.*, 1991;

Esquivel *et al.*, 1992; Flores *et al.*, 1996; Urrutia, 2002). En algunos estudios se ha indicado que el ciclo reproductivo anual de la cabra criolla, es controlado por la señal fotoperiódica como elemento primario (Delgadillo *et al.*, 2004), no obstante, bajo latitudes tropicales existen evidencias de que la expresión de la estacionalidad reproductiva es a su vez influenciada por señales nutricionales y socio sexuales (Martin *et al.*, 1999; Archer *et al.*, 2005). En el contexto nutricional, se ha observado que una mejora en la alimentación de machos y hembras caprinas (Walkden-Brown *et al.*, 1994; Zarazaga *et al.*, 2005) y un mejor estado de condición corporal en ovejas (Forcada *et al.*, 1992; Carrillo *et al.*, 2004) pueden influenciar la duración de la estación reproductiva, ya sea prolongándola, y (o) acelerando el reinicio de la misma.

La función reproductiva es fuertemente influenciada por el estado nutricional (Dunn y Moss, 1992), pero bajo condiciones comunes de producción, se ha sugerido que es el estado energético el que juega un papel determinante (Imakawa *et al.*, 1986; Schillo, 1992; Robinson, 1996). Éste es determinado por el gasto calórico en las funciones del organismo, la cantidad de reservas corporales de energía y por el ingreso de combustibles metabólicos oxidables mediante el consumo diario de alimento (Schneider, 2004). Estos dos últimos componentes, generan señales de largo y corto plazo respectivamente, las cuales pueden actuar por separado o en conjunto, modulando la secreción de GnRH/LH (Archer *et al.*, 2002), o actuando directamente sobre la función ovárica (Scaramuzzi *et al.*, 2006).

En las cabras criollas de México, existe escasa información sobre la medida en que la condición nutricional puede estar determinando la actividad ovulatoria durante los periodos de transición reproductiva estacional y por lo tanto la duración de las épocas reproductiva y de anestro. Además, con relación a lo mismo, queda por establecerse que componente de la condición nutricional energética tiene una mayor importancia relativa como regulador complementario de la estacionalidad reproductiva en la especie, lo cual por otra parte es de interés práctico y fisiológico.

### **1.1. Objetivo**

Determinar los efectos de la relación entre el estado de reservas corporales de energía y el consumo diario de alimento sobre la duración del periodo anovulatorio así como la actividad ovulatoria, secreción de LH y desarrollo folicular durante los periodos de transición reproductiva estacional.

### **1.2. Hipótesis**

La duración del periodo anovulatorio, así como la actividad ovulatoria, la secreción de LH y el desarrollo folicular durante los periodos de transición reproductiva estacional, es determinada por la interacción entre las reservas corporales de energía y su ingreso al organismo por el consumo diario de alimento.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Fisiología del eje reproductivo en la cabra

#### 2.1.1. Ciclo estral de la cabra

En la cabra al igual que en otras especies domésticas, el ciclo estral involucra una secuencia de eventos orquestados, los cuales son regulados por el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas además del útero. Bajo condiciones regulares, se ha observado que los ciclos estrales se presentan a un intervalo promedio de 21 días (Medan *et al.*, 2003; Rivera *et al.*, 2003). Con base en los eventos fisiológicos más importantes durante el ciclo estral en los animales domésticos, éste se ha dividido en cuatro etapas bien definidas: proestro, estro, metaestro y diestro.

Durante el proestro, el incremento en la frecuencia de secreción pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) secretada por el hipotálamo, actúa estimulando la adenohipófisis, la cual responde secretando de forma frecuente y pulsátil también, a la hormona luteinizante (LH; Tanaka *et al.*, 1995). Esta última a su vez, estimula la maduración final del o los folículos potencialmente ovulatorios presentes (Webb *et al.*, 2004). En la etapa del estro, la cual se ha reportado que dura entre 10 y 22 horas (Llewelyn *et al.*, 1993), estos folículos ya adquirieron la capacidad de sintetizar y secretar las suficientes concentraciones de estradiol, que son necesarias para provocar el comportamiento estral y la oleada preovulatoria de LH (De Castro *et al.*, 1999). Con la oleada de LH que ocasiona la ovulación, en paralelo, las concentraciones de estrógenos van disminuyendo drásticamente, y por otro lado, se lleva a cabo la luteinización del o los folículos ovulados, que asimismo darán origen a una nueva glándula temporal denominada cuerpo lúteo (Niswender *et al.*, 2000). Durante la etapa conocida como metaestro, en el ovario se encuentra a una estructura llamada cuerpo hemorrágico, que es el estadio intermedio entre un folículo y el cuerpo lúteo (Camp *et al.*, 1983). En esta etapa con duración de alrededor de 3 días, las concentraciones de progesterona van incrementando progresivamente hasta que llegan a ser mayores a 1 ng/ml. Con el final del

metaestro, se da inicio a la etapa de diestro, donde el cuerpo lúteo alcanza su máximo tamaño y capacidad de secreción de progesterona (12 ng/ml), la cual permanece elevada entre los días 4 al 15 del ciclo (Leyva-Ocariz *et al.*, 1995; Orita *et al.*, 2000; Rivera *et al.*, 2003). La etapa de diestro culmina con la luteólisis, inducida alrededor del día 16 a causa de la liberación pulsátil de prostaglandinas secretada por el útero. Con ello, las concentraciones sanguíneas de progesterona disminuyen a niveles que permiten un nuevo incremento en la frecuencia de secreción de GnRH/LH (De Castro *et al.*, 1999; Menchaca y Rubianes, 2001).

### 2.1.2. El eje hipotálamo hipófisis

Es conocido que la unidad hipotálamo - hipófisis y el sistema reproductivo están estrechamente relacionados, pues la función gonadal depende estrictamente del estímulo de las hormonas hipofisarias FSH y LH, cuyas secreciones son a su vez controladas por la neurohormona hipotalámica GnRH y por la presencia de hormonas gonadales que actúan por mecanismos de retroalimentación, ya sea a nivel hipotalámico o hipofisiario (Dubois, 1993). La vía de comunicación entre el hipotálamo y la hipófisis es soportada básicamente por las conexiones de terminaciones nerviosas y capilares del sistema portal hipotálamo-hipofisiario, el cual está constituido por la irrigación de la arteria hipofisial superior, que a su vez forma asas capilares en la región de la eminencia media. A partir de estos capilares, la sangre fluye en los vasos portales hipotálamo-hipofisarios que pasan por el tallo hipofisiario para terminar en la hipófisis anterior (Berne *et al.*, 2004).

El hipotálamo es una porción del diencefalo, situado bajo el tálamo en la base del cerebro y que forma parte del piso y la pared lateral del tercer ventrículo. Si éste se limita por planos verticales laterales, se encuentra localizado entre la comisura anterior y el quiasma óptico en la porción frontal y entre el foramen de Monro y el cuerpo mamilar en la región caudal (Dubois, 1993). El hipotálamo se encuentra constituido por acumulaciones de neuronas en forma de núcleos alrededor del tercer ventrículo, las cuales envían sus terminaciones ya sea hacia otras neuronas, hacia el

plexo portal en la eminencia media o a la hipófisis posterior (Dubois, 1993; Smith y Jennes, 2001). Por otro lado, la hipófisis o llamada también glándula pituitaria, ubicada en la llamada silla turca de la base del cráneo, se encuentra dividida anatómicamente en dos porciones: la hipófisis anterior y la hipófisis posterior (Berne *et al.*, 2004). La hipófisis anterior o adenohipófisis, está constituida básicamente por cinco tipos celulares: somatotropos, corticotropos, tirotrópos, lactotropos y los gonadotropos. Este último grupo celular es el encargado de la síntesis, almacenamiento en pequeños gránulos y secreción de la FSH y LH, las cuales son componentes fundamentales en los procesos de gametogénesis y esteroidogénesis gonadal (Childs, 1998).

#### La secreción de GnRH

La GnRH es un péptido formado por 10 aminoácidos, sintetizado a partir de un ARNm que codifica para una proteína de 92 aminoácidos y que es modificada por procesos postransduccionales (Levine, 2003). Aunque en diferentes especies se han caracterizado alrededor de 16 formas de GnRH, en el cerebro de los mamíferos la principal forma encontrada es la GnRH tipo I, la cual controla la secreción de gonadotropinas en la adenohipófisis (Clarke y Pompolo, 2005). La población de neuronas GnRH es relativamente pequeña (alrededor de 800 en ratones y 2400 en el mono Rhesus), y sus cuerpos celulares se encuentran ordenados en forma de una red, esencialmente localizados entre la banda diagonal de Broca (dbB), región medial septal y retroquiasmática, núcleo ventromedial, hipotálamo medio basal, el núcleo arcuato y en mayor proporción en el área preóptica (POA); aunque su distribución puede variar según la especie (Lehman *et al.*, 1997; Herbison, 1998; Levine, 2003). Algunos estudios en ovejas indicaron que el 60% de los cuerpos celulares de las neuronas GnRH se encuentran presentes en el POA, que está mayormente implicada en la secreción en oleada de GnRH/LH (Advis *et al.*, 1985; Caldani *et al.*, 1988; Lehman *et al.*, 1997). También se indicó que alrededor del 15% de la población de neuronas GnRH está presente en el hipotálamo medio basal, el cual se sugiere

está implicado en la secreción tónica de GnRH (Caldani *et al.*, 1988; Lehman *et al.*, 1997).

La secreción pulsátil de las neuronas GnRH es regulada principalmente por los efectos de los esteroides gonadales, que actúan principalmente mediante neuronas intermediarias, las cuales poseen relevante cantidad de receptores para éstos (Herbison, 1998). Se ha puesto en manifiesto que las neuronas GnRH no poseen el receptor para andrógenos o progesterona (Skinner *et al.*, 2001). También se ha indicado que las neuronas GnRH no tienen el receptor intracelular  $\alpha$  para los estrógenos (ER $\alpha$ ; Herbison y Pape, 2001); sin embargo, en estudios en ratones, se ha reportado la presencia de receptores  $\beta$  para estradiol (ER $\beta$ ) en la membrana plasmática, los cuales pudieran estar ejerciendo un efecto agudo no genómico (Herbison y Pape, 2001; Hrabovszky *et al.*, 2001). Por otro lado, otros estudios han sugerido la presencia de ER $\alpha$  en la membrana plasmática de las neuronas GnRH, los que pudieran ser capaces de ejercer una función nuclear (Xu *et al.*, 2004). No obstante a lo anterior, la mayoría de la evidencia indica que el control de la secreción de GnRH, es principalmente regulada por vías interneuronales responsivas a estrógenos, donde se involucra tanto a neurotransmisores excitatorios como inhibitorios (Herbison, 1998; Clark y Pompolo, 2005).

Durante la fase lútea del ciclo estral, la secreción de GnRH se caracteriza por una alta amplitud y baja frecuencia de pulsos. Lo anterior está asociado a los efectos negativos ejercidos por la progesterona, la cual actúa de dos maneras sobre la secreción de GnRH: 1) mediante un mecanismo de retroalimentación negativa, disminuyendo la frecuencia de secreción pulsátil de GnRH, donde se implica a las neuronas secretoras de péptidos opioides como intermediarias; y 2) sensibilizando al hipotálamo para la posterior acción de los estrógenos en su efecto sobre la oleada de GnRH/LH, aunque es importante mencionar que esta hormona tiene un mínimo efecto sobre los gonadotropos (Lehman *et al.*, 1997; Caraty y Skinner, 1999; Clarke y Pompolo, 2005). Además, se ha sugerido que éste segundo efecto de la

progesterona, es necesario para la reestabilización del sistema reproductivo hipotalámico, después de finalizar algún tipo de anestro, como en el estacional o después del parto (Gallegos y Pérez, 2001). Por otro lado, se ha observado que en diferentes circunstancias, los estrógenos pueden ejercer un mecanismo de retroalimentación negativo o positivo. Por ejemplo, con el final de la fase lútea, cuando los niveles de progesterona descienden y las concentraciones de estrógenos se incrementan y se mantienen por varias horas en un cierto umbral, éstos actúan de manera positiva provocando la oleada preovulatoria de GnRH/LH (Herbison, 1998). Sin embargo, con bajos niveles durante el ciclo estral, en situaciones de subnutrición o de anestro estacional, los estrógenos ejercen un efecto de retroalimentación negativa (Legan y Karsch, 1983; Schneider, 2004).

Con relación a los efectos de los esteroides gonadales sobre la síntesis de GnRH, se ha publicado que durante el ciclo estral en animales domésticos la progesterona provoca una reducción en la frecuencia de secreción de GnRH, pero no tiene un efecto sobre su síntesis (Clarke y Pompolo, 2005). En el caso del 17- $\beta$  estradiol, se ha indicado que durante el proestro promueve un incremento en la expresión del ARNm para GnRH (Gore y Roberts, 1995; Suzuki *et al.*, 1995); por el contrario, durante el anestro estacional o nutricional, la mayoría de los resultados indican que no existe una alteración en los niveles de ARNm para GnRH; por lo que bajo estas condiciones, éste esteroide pudiera tener sólo un efecto adverso sobre la frecuencia de secreción de GnRH (Mc Shane *et al.*, 1993; Hileman *et al.*, 1998; Clarke y Pompolo, 2005). Sin embargo, Grunawald y Matsumoto (1993), en un estudio en ratas las cuales fueron restringidas en su consumo de alimento por tres meses, observaron una disminución en el número de neuronas GnRH expresando ARNm para GnRH en la dbB y POA.

Como ya se mencionó anteriormente, el efecto de las hormonas esteroides sobre la secreción de GnRH es principalmente ejercido mediante neuronas intermediarias (Herbison, 1998). En diferentes revisiones, se han caracterizado a las vías

neuronales responsivas a éstas hormonas y que efectúan un control negativo o positivo sobre la secreción de GnRH. Dentro de las vías generalmente identificadas como positivas, se encuentran a las neuronas glutaminérgicas, neuronas secretoras de óxido nítrico y kisspeptinas; con efectos negativos, a las neuronas secretoras de GABA, dopamina y péptidos opióides; y con efectos duales, a las vías neuronales secretoras de neuropéptido Y, noradrenalina y serotonina (Terasawa y Fernández, 2001; Clarke y Pompolo, 2005).

Las neuronas GnRH representan el componente final de una red neuronal que integra múltiples señales estimuladoras o inhibitorias, provenientes del medio ambiente o del mismo organismo y mediada a través de interneuronas, las cuales al final de cuentas, van a regular su secreción pulsátil (Herbison, 1998; Terasawa y Fernández, 2001). Aunque éstas interneuronas pueden dirigir sus axones para hacer contacto sináptico con otras neuronas, la mayoría de ellas los envían hacia la eminencia media donde se lleva a cabo la secreción de la GnRH (Smith y Jennes, 2001). Las terminaciones sinápticas hacia los cuerpos neuronales GnRH es muy limitada, si éstas se comparan con otras neuronas del hipotálamo (Silverman *et al.*, 1994), por lo que algunos investigadores sugieren que es posible que los neuropéptidos o neurotransmisores que comunican directamente con las neuronas GnRH ejercen un fuerte efecto sobre éstas, o bien, que las sinápsis en sus terminaciones a nivel de la eminencia media juegan una mayor influencia en la determinación de su actividad secretora (Smith y Jennes, 2001). Por otro lado, se ha indicado que las células gliales organizadas alrededor de las neuronas GnRH, pueden estar contribuyendo en los mecanismos de regulación de su secreción, posiblemente impidiendo o permitiendo la formación de complejos sinápticos con la membrana plasmática de éstas, modificando el medio ambiente local, o bien, sirviendo como mediadoras de señales de otras neuronas o del mismo 17- $\beta$ -estradiol (Terasawa y Fernández, 2001).

Finalmente, después de la síntesis de GnRH, ésta es almacenada dentro de gránulos secretorios los cuales son transportados hacia las terminales axonales (Levine, 2003). Su proceso de secreción, involucra un mecanismo exocitótico dependiente de calcio, donde finalmente la liberación episódica de GnRH dentro del sistema portal hipotálamo-hipofisiario, provoca un modelo pulsátil en la secreción de gonadotropinas, principalmente LH (Herbison, 1998; Levine, 2003).

### La secreción de LH

La LH es una glucoproteína constituida por dos subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  (LH $\beta$ ), las cuales son codificadas por genes diferentes, donde los péptidos resultantes operan coordinadamente en los procesos postransduccionales para el ensamble de la hormona. La subunidad  $\alpha$  es idéntica en todos los miembros de la familia de glucoproteínas hipofisarias; sin embargo, la subunidad  $\beta$  es específica en cada una de éstas glucoproteínas y les confiere su actividad biológica y bioquímica (Shupnik, 2003). En la circulación se han detectado alrededor de 41 isoformas de LH, las cuales se generan con base en las modificaciones postransduccionales en el proceso de glucosilación, durante su paso por las membranas del retículo endoplásmico y las cisternas de golgi, donde también son empacadas en pequeñas vesículas para su posterior almacenamiento (Bousfield, 1998; Childs, 1998). Se ha documentado, que dependiendo del tipo de carbohidratos agregados a la subunidad  $\beta$  básicamente, ésta hormona puede modificar la intensidad de su estímulo y la duración de su vida media. Con respecto a ello, en humanos se ha observado que la vida media de la LH durante la mitad de la fase lútea, es menor comparada con la vida media durante la fase folicular (Bousfield, 1998).

Finalmente, después de su síntesis y almacenamiento dentro de gránulos secretorios en los gonadotropos, al igual que GnRH, el proceso de secreción de LH involucra un mecanismo exocitótico dependiente de calcio (Shupnik, 2003). El patrón de la frecuencia de liberación de ésta glucoproteína, va a ser una señal muy importante en

los mecanismos de regulación del desarrollo final folicular y la ovulación (Driancourt, 2001).

Los gonadotropos poseen receptores para hormonas reguladoras clave en la síntesis y secreción de LH, lo que les permite ser estimulados o inhibidos de manera sincronizada con el resto del sistema reproductivo. Estas células hipofisarias son reguladas básicamente por los efectos de la secreción pulsátil de GnRH y los esteroides gonadales, progesterona y 17- $\beta$ -estradiol; sin embargo, en los últimos años se ha involucrado a diferentes factores de crecimiento (IGF-I, EGF y NGF) secretados por células vecinas, los cuales pueden actuar de manera paracrina modulando la síntesis y secreción de LH (Childs, 1998; Hashizume *et al.*, 2002).

La secreción pulsátil de GnRH, definida por su frecuencia y la amplitud de los pulsos, además de promover la expresión de su mismo receptor (GnRH-R) es importante en la determinación de la síntesis y el ritmo de secreción de LH (Herbison, 1998; Shupnik, 2003). Es conocido que el modelo pulsátil de la secreción de LH en la circulación portal como en la periférica, sigue una relación uno a uno con la secreción de GnRH, en la cual se ha observado un pulso de LH por cada pulso previo de GnRH (Padmanabhan y McNelly, 2001). De esta manera, se ha documentado que una frecuencia de pulsos rápida o intermedia de GnRH (1 pulso cada 15 a 60 min), provoca a su vez una velocidad de secreción pulsátil similar en la LH. Bajo la condición anterior, preferentemente se estimula la síntesis del ARNm para la subunidad  $\alpha$  y  $\beta$  de LH, y además se incrementan los niveles del ARNm para el GnRH-R. Por el contrario, una baja frecuencia de pulsos de GnRH (1 pulso cada 120 minutos) favorece la secreción de FSH y disminuye la de LH (Haisenleder *et al.*, 1994; Shupnik, 2003). La estimulación del GnRH-R tiempo previo a la oleada de LH promueve un incremento en la sensibilidad de los gonadotropos a GnRH (Haisenleder *et al.*, 1994). En un estudio realizado en cabras se observó que la secreción de LH se presentó con una frecuencia de 1 pulso c/1.3 h, 1 c/2 h, 1 c/4 h, 1 c/4.7 h, 1 c/6.1 h y 1 c/2 h durante los días 1, 3, 5, 8, 13 y 18 después de la

ovulación, y una concentración media de  $1.33 \pm 0.06$ ,  $1.18 \pm 0.07$ ,  $0.56 \pm 0.44$ ,  $0.49 \pm 0.04$ ,  $0.48 \pm 0.05$  y  $2.20 \pm 0.15$  ng/ml en los días 1, 3, 5, 8, 13 y 18, también después de la ovulación (Kawate *et al.*, 2000). Resultados similares fueron reportados por Llewelyn *et al.*, (1993). A la fecha, se sabe que los gonadotropos poseen sólo un tipo de receptor para GnRH, y el mecanismo por el cual las señales dependientes de la frecuencia son codificadas a nivel del receptor y enviadas diferencialmente para la síntesis de las subunidades de las gonadotropinas, siguen sin ser explicadas. Con relación a lo anterior, se especula que el punto de regulación por la GnRH, pudiera ser mediante una preferencial sensibilidad preferencial a diferentes vías de señalización reclutadas por las variantes en la frecuencia de pulsos, que implica actuar sobre diferentes factores de transcripción y(o) distintos genes blanco (Shupnik, 2003).

Como ya se mencionó, la secreción de LH puede ser regulada por las concentraciones de esteroides gonadales. Aunque éstos actúan indirectamente en la secreción de LH, existen evidencias donde se indica que pueden influir sobre la expresión de las subunidades de las gonadotropinas directamente en los gonadotropos (Haisenleder *et al.*, 1994). En este sentido, durante la etapa del proestro en el ciclo estral, se ha observado que el 17- $\beta$ -estradiol promueve el incremento del GnRH-R y estimula la transcripción de la subunidad  $\beta$  de la LH, además de inducir la síntesis del receptor para progesterona en el hipotálamo (retroalimentación positiva; Laws *et al.*, 1990; Shupnik, 2003). Por el contrario, durante otras etapas del ciclo o bajo condiciones de algún tipo de anestro, ésta hormona (17- $\beta$ -estradiol) al igual que la progesterona ejercen un control negativo sobre la secreción de LH. Algunos autores sugieren que éste efecto negativo es mediado a través de la regulación de la secreción de GnRH (Haisenleder *et al.*, 1994; Shupnik, 2003). Sin embargo, estudios realizados en ovejas ovariectomizadas evidenciaron que el estradiol, pero no la progesterona, provoca una disminución en la expresión del ARNm para la subunidad  $\beta$  de la LH (DiGregorio y Nett, 1995; Turzillo *et al.*, 1998).

### 2.1.3. Desarrollo folicular

La principal función de las gónadas femeninas es el desarrollo y liberación cíclica de ovocitos maduros, capaces de ser fertilizados. Además, juegan un papel importante en la producción balanceada de hormonas esteroides que permiten el desarrollo y mantenimiento del aparato reproductor, el embrión o el feto, entre otras respuestas fisiológicas. El folículo ovárico, es la estructura que permite al ovario cumplir con la función gametogénica y algunas de las esteroidogénicas.

#### Origen del folículo ovárico

En la mayoría de los mamíferos, es conocido que durante el desarrollo embrionario, las células germinales primordiales que posteriormente darán origen a las oogonias (o espermatogonias en machos), se originan en el saco vitelino del endodermo. Subsecuentemente éstas células migran hacia el riego gonadal, donde el número de células se incrementa como consecuencia de su actividad mitótica (Kierszenbaum, 1994). Bajo condiciones normales, si la determinación del sexo fue hacia una hembra, las células germinales se diferencian a oogonias, las cuales siguen su proliferación mitótica hasta poco antes o después del parto según la especie. Una vez que las oogonias inician con la primera división meiótica, éstas son denominadas ovocitos primarios (Wassarman y Albertini, 1994). Es en este estado, cuando se ha observado que los ovocitos expresan un gen conocido como Figla, el cual codifica para un factor de transcripción que se cree coordina la expresión de genes estructurales para los componentes de la zona pelúcida y la producción de uno o más factores (posiblemente factores quimiotácticos) secretados por los ovocitos que son esenciales para la organización de las células pregranulosas aplanadas alrededor de ellos, constituyendo los llamados folículos primordiales (Greenwald y Roy, 1994; Soyak *et al.*, 2000). Las reservas de folículos en reposo durante toda la vida productiva del individuo está integrada por éste tipo de folículos, los cuales al nacimiento son alrededor de 300 000 en humanos, pero varía según la especie (McGee y Hsueh, 2000).

### Desarrollo folicular inicial independiente de gonadotropinas

La etapa de desarrollo folicular inicial, comprende desde los folículos primordiales hasta los folículos con una pequeña cavidad antral. En esta etapa, los folículos se han clasificado en base al número y morfología de las células pregranulosas o granulosas alrededor del ovocito. De este modo, el tipo 1 se refiere a los folículos primordiales con una capa de células pregranulosas aplanadas, el tipo 1a son folículos transitorios con una capa de células mixtas (pregranulosas aplanadas y granulosas cuboidales), el tipo 2 con dos capas de células cuboidales, el tipo 3 (preantral pequeño) con 2 a 4 capas, el tipo 4 (preantral grande) con 4 a 6 capas y el tipo 5 (antral pequeño) con más de cinco capas de células cuboidales (McNatty *et al.*, 1999).

Dentro del pool de folículos primordiales quiescentes, un grupo emerge de manera continua para seguir desarrollándose (llamado también reclutamiento inicial), sin embargo, el destino de más del 99% de éstos es la atresia y durante todo el periodo de vida de los individuos, sólo una mínima cantidad de éstos folículos llega a liberar un óvulo fecundable (Webb *et al.*, 1999a; McGee y Hsueh, 2000). Los mecanismos que regulan la activación y el desarrollo subsecuente de los folículos en estas etapas iniciales son parcialmente entendidos, pero algunos estudios indican que existe una compleja interacción de factores locales regulatorios entre el ovocito y las células que lo rodean. Dentro de los principales actores identificados se encuentran el receptor C-KIT y el ligando KIT, el factor de diferenciación y crecimiento 9 (GDF-9), la proteína morfogénica ósea (BMP), el factor de crecimiento parecido a la insulina I y II (IGF-I e IGF-II), proteínas de unión de IGFs (IGFBP), activinas, inhibinas, el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) y el factor de crecimiento epidermal (EGF; McNatty *et al.*, 1999; Soyak *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2000; Galoway *et al.*, 2000; Knight y Glistler, 2001; Webb *et al.*, 2004).

Esta etapa es denominada como independiente de gonadotropinas, debido a que algunos estudios han evidenciado que aún en ausencia de éstas hormonas, los

folículos primordiales inician su desarrollo y llegan a crecer hasta el estado de folículos antrales pequeños (Dufour *et al.*, 1979), con un diámetro no mayor a 2 mm en ovejas (Campbell *et al.*, 1995) y a 3 mm en cabras (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2004). Sin embargo, el papel que las gonadotropinas (esencialmente FSH) pudieran estar efectuando, aún no está determinado. Con respecto a ello, en algunos estudios se ha reportado la presencia del ARNm para los receptores de la FSH en folículos de tipo 1 y 2 (Xu *et al.*, 1995a; Bao y Garverick, 1998). Por otro lado, en un estudio *in vitro* con folículos primordiales obtenidos de ovarios de cabra, la presencia de FSH o el EGF no afectaron la proporción de folículos que entraron a la fase de crecimiento con respecto al tratamiento control. Sin embargo, en este mismo estudio se observó un incremento en el diámetro del ovocito y de folículos primarios y secundarios por efecto de la FSH y EGF (Silva *et al.*, 2004). Por su parte Campbell *et al.* (2000; 2004) y Gutierrez *et al.* (2000) en estudios *in vitro* e *in vivo*, observaron que la presencia de FSH acelera la tasa de desarrollo de folículos preantrales. Esta situación ha conducido a suponer que durante el reclutamiento inicial y el desarrollo temprano de los folículos, la FSH pudiera tener un efecto indirecto (modulatorio), vía factores liberados por folículos de mayor tamaño o por las células del estroma ovárico (Webb *et al.*, 1999b; Silva *et al.*, 2004).

#### Desarrollo del folículo antral dependiente de gonadotropinas

Durante el ciclo estral en la cabra, el proceso de dinámica folicular se lleva a cabo en forma de oleadas, y cada oleada se caracteriza por la presentación de etapas de reclutamiento, selección y dominancia (De Castro *et al.*, 1999; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 1999; Medan *et al.*, 2003), como ha sido publicado en bovinos y ovinos (Adams *et al.*, 1999). Este modelo de desarrollo se encuentra activo también durante el periodo de gestación temprana y anestro estacional (Ginther y Kot, 1994; Pinczak *et al.*, 2001). La mayoría de las publicaciones indican que durante el ciclo interovulatorio de las cabras, el número de oleadas de desarrollo folicular varía entre dos y cinco, pero siendo predominante las cabras que desarrollan ciclos de longitud normal entre 19 y 22 días y cuatro ondas de desarrollo. De esta manera, la emergencia de las oleadas

foliculares 1, 2, 3 y 4 regularmente ocurre entre los días -1 a 0, 5-6, 10-11 y alrededor del día 16 posovulación respectivamente (Ginther *et al.*, 1994; De Castro *et al.*, 1999; Schwarz y Wierzchos, 2000; Medan *et al.*, 2003; Simoes *et al.*, 2006).

La etapa de reclutamiento cíclico da inicio a una oleada de desarrollo folicular, donde un grupo de folículos antrales sanos ( $6 \pm 0.7$  reportado en cabras) inicia su crecimiento y se vuelven dependientes de gonadotropinas (Webb *et al.*, 1999a; Menchaca *et al.*, 2002). Se ha demostrado que cada oleada de desarrollo folicular, es precedida por un incremento en las concentraciones circulantes de FSH. Por lo anterior, se ha sugerido que los incrementos periódicos de ésta hormona durante el ciclo estral, son responsables de la emergencia y el número de las oleadas de desarrollo folicular (Adams *et al.*, 1992; Ginther *et al.*, 1994; Medan *et al.*, 2003). Reportes en ovejas y cabras son consistentes en que los folículos que han alcanzado un desarrollo hasta el estado antral, pueden responder al estímulo por las gonadotropinas (principalmente FSH), pero no necesariamente ser dependientes (Campbell *et al.*, 2004; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2004). En estudios *in vitro* en ovejas, se ha observado que son los folículos superiores a 1 mm de diámetro los que pueden responder activamente a la administración de FSH con la síntesis de AMPc, esteroides y la expresión y síntesis de receptores para FSH para proseguir su desarrollo (McNatty *et al.*, 1992, citado por Picazo y López-Sebastian, 1995). Por su parte, algunos estudios en cabras demuestran que son los folículos de 2 a 3 mm, los que evidentemente responden al estímulo de FSH (Menchaca *et al.*, 2002; Medan *et al.*, 2003; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2004), pero el tamaño pudiera variar con la raza.

Con respecto a lo anterior, en estudios realizados en bovinos, se ha observado que la expresión del ARNm para los receptores de FSH y LH, se encuentra presente en las células de la granulosa y teca respectivamente, durante el reclutamiento (Xu *et al.*, 1995a). La presencia del ARNm para las enzimas P450scc y P450arom en las células de la granulosa está asociado con ésta etapa del desarrollo folicular (Xu *et al.*, 1995b); además, se ha visto que en vacas ovariectomizadas y tratadas con

antagonistas de GnRH, la adición de FSH promueve la expresión del ARNm para éstas enzimas en las células de la granulosa de folículos antrales pequeños (Garverick *et al.*, 2002). Los resultados anteriores, confirman que las concentraciones de FSH juegan un papel importante en el control del proceso de reclutamiento, y que al igual que en bovinos, es posible que éste mecanismo ocurra de la misma manera en la especie caprina.

En la etapa de selección y dominancia, la mayoría de los folículos que iniciaron su crecimiento durante el reclutamiento, son destinados a sufrir atresia (subordinados), bajo un medio ambiente endocrino en el que generalmente una mínima cantidad de éstos son favorecidos para seguir su desarrollo (Driancourt, 2001). El mecanismo de selección incluye en primera instancia el descenso de las concentraciones de FSH, el cual es inducido por el efecto de retroalimentación negativa provocado por el incremento en las concentraciones de inhibina y estradiol secretadas principalmente por los folículos seleccionados (Adams *et al.*, 1999). Por otra parte, hay un incremento en la sensibilidad a la LH por los folículos seleccionados, lo cual les permitirá sobrevivir en un medio ambiente endocrino limitado en cuanto a FSH (Ginther *et al.*, 1996; Adams *et al.*, 1999). Con respecto a lo anterior, en un estudio realizado en cabras, las concentraciones de FSH se mantuvieron altas hasta que los folículos alcanzaron un tamaño de 5 mm de diámetro, momento en el cual las concentraciones de inhibina y estradiol tendieron a elevarse (Medan *et al.*, 2003). De manera alterna se ha sugerido la existencia de algún factor inhibidor secretado por los folículos de mayor tamaño, el cual puede ocasionar la atresia de los folículos subordinados (Adams *et al.*, 1999).

La existencia de dominancia folicular en las cabras ha sido controversial durante varios años; sin embargo, diferentes estudios soportan el concepto de que la dominancia también es operativa en ésta especie, con mayor posibilidad de observarse durante la primera oleada de desarrollo folicular y la oleada ovulatoria del ciclo estral. Aunque el tamaño del folículo dominante va a depender de varios

factores, la generalidad de los estudios indica que éstos presentan un diámetro de entre 5 y 8 mm (Ginther y Kot, 1994; De Castro *et al.*, 1999; Menchaca *et al.*, 2002; Medan *et al.*, 2003; Simoes *et al.*, 2006). En bovinos, se ha observado que alrededor de la selección del folículo dominante, éste expresa el ARNm para la enzima 3- $\beta$ HSD (proveedora de andrógenos) y del receptor para LH en las células de la teca interna y granulosa respectivamente, lo que soporta el concepto de que el folículo dominante incrementa su capacidad esteroidogénica y es capaz de utilizar a la LH como soporte para continuar su desarrollo, cuando las concentraciones de FSH declinaron (Xu *et al.*, 1995a; Bao *et al.*, 1997). En los últimos años se ha sugerido que los efectos de las gonadotropinas en las etapas de selección y dominancia pueden ser modulados por diferentes factores de crecimiento (BMP-4, 6 y 7, el TGF $\beta$ , FGF, FGE, IGF- I y II, entre otros) sintetizados localmente (Webb *et al.*, 2004). En este sentido, se ha observado que durante el establecimiento de la dominancia en bovinos, las concentraciones circulantes de IGFBP-2 descienden por acción de proteasas estimuladas por FSH, y por lo tanto, se presenta un incremento en la disponibilidad de los niveles de IGF-I local (Nicholas *et al.*, 2002; Monget *et al.*, 2003). Es importante recordar, que en algunos experimentos *in vitro*, se ha observado que el IGF-I interactúa con la FSH estimulando la producción de estradiol en las células de la granulosa (Spicer *et al.*, 2002). No obstante al número de experimentos realizados, el mecanismo exacto de la dominancia permanece sin resolverse.

Por otro lado, si la luteólisis no ocurre durante el desarrollo del folículo dominante, éste es destinado a sufrir atresia. En bovinos, éste proceso inicia alrededor del día 6 en una oleada no ovulatoria, y se ha observado que la expresión del ARNm para las enzimas esteroidogénicas y de las gonadotropinas en las células de la teca interna y granulosa comienzan a disminuir (Xu *et al.*, 1995a, b). En conjunto, las concentraciones de inhibina y estradiol disminuyen, lo que causa una nueva elevación de FSH y con ella otra oleada de desarrollo folicular (Driancourt, 2001). En contraste, si la luteólisis se lleva a cabo, el incremento de la frecuencia de secreción de la LH originará que el folículo dominante en turno aumente su capacidad

esteroidogénica, siga su desarrollo, y con ello, a su vez estimule la oleada preovulatoria de LH (Webb *et al.*, 1999a; Driancourt, 2001).

## **2.2. Fisiología de la estacionalidad reproductiva**

### **2.2.1. Manifestación de la estacionalidad en la cabra.**

Durante miles de años, los animales que habitan en el planeta han vivido bajo la influencia de fluctuaciones estacionales de las condiciones medioambientales. De acuerdo a la especie animal, éstas han desarrollado un sin número de estrategias evolutivas que les ha permitido sobrevivir ante los diferentes ambientes. Entre estas estrategias, se encuentra el fenómeno de hibernación, cambio del pelaje, almacenamiento de energía en forma de grasa, producción de calor y el patrón reproductivo estacional (Thiery *et al.*, 2002). Éste último, al parecer se generó con la finalidad de asegurar que los partos y lactancias coincidieran con las épocas de mayor producción de forraje y mejores condiciones ambientales que garantizarán la sobrevivencia tanto de las crías como de la madres (Martin *et al.*, 2002).

La estacionalidad reproductiva en la cabra se caracteriza por cambios a nivel endocrino, ovulatorio y en el comportamiento sexual a través del año, donde se ha observado que presentan una alternancia notable entre dos periodos: 1) la estación de actividad reproductiva, que se caracteriza por la sucesión en intervalos regulares (21 días promedio) del comportamiento estral y la ovulación, si no se da una gestación; y 2) la estación de anestro, en la cual los animales experimentan reposo sexual, representada por ausencia de la actividad ovulatoria y manifestación de estros (Mohammad *et al.*, 1984; Rivera *et al.*, 2003).

Durante la transición del anestro a la estación reproductiva, los rebaños presentan un gradual incremento en el porcentaje de cabras ciclando, y algunos estudios reportan que eventualmente las cabras y ovejas presentan ciclos estrales de corta duración (Rivera *et al.*, 2003; Rosa y Bryant, 2003). Por el contrario, durante la transición de la actividad reproductiva al anestro, el porcentaje de cabras ciclando va decreciendo

(Valencia *et al.*, 1990). Además, Rivera *et al.* (2003) reportaron que durante ambos periodos de transición, las cabras presentaron ovulaciones sin manifestación de estro, no obstante a que se ha sugerido (Shelton, 1978) que en el inicio de la actividad reproductiva, éste fenómeno no es común en cabras.

La generalidad de las razas lecheras de origen europeo, como la Saanen, Toggenburg y Alpina presentan una estación de anestro bien definida entre los meses de febrero a julio (Shelton, 1978). Es conocido que las cabras con fenotipo criollo en México, también presentan un modelo reproductivo estacional (Valencia *et al.*, 1990; Monroy *et al.*, 1991). Sin embargo, a diferencia de las razas europeas, se ha evidenciado que las cabras criollas presentan una gran variabilidad en cuanto a las fechas de entrada y salida de la estación de anestro, además de la profundidad con que es expresada. Respecto a ello, en algunos reportes se indica que las cabras criollas presentan un anestro profundo de corta duración, entre los meses de abril-mayo (Gutiérrez, 1979), otros autores han encontrado que el anestro se presenta entre marzo-mayo (Vega *et al.*, 1983), o abril-junio (Monroy *et al.*, 1991), pero éstos últimos con prolongada expresión de las épocas de transición (de 2 a 3 meses). También se han reportado estudios, donde un grupo de cabras presentó periodos de corta duración del anestro, pero con un 15-40 % de los animales ciclando durante esa época (Valencia *et al.*, 1990; Urrutia, 2002). Por su parte, Flores *et al.* (1996) y Duarte *et al.* (1999) observaron que las cabras criollas muestran un anestro de mayor duración, entre los meses de marzo a julio.

Bajo condiciones de trópico subhúmedo en la región de Yucatán, Esquivel *et al.* (1992) reportaron que cabras criollas encastadas con Nubia presentaron dos periodos de inactividad cíclica, el primero iniciando en el mes de enero hasta la segunda semana de marzo y el segundo desde el inicio de mayo hasta la segunda semana de junio. En la comarca lagunera, Meza *et al.* (2000) al evaluar el crecimiento y actividad ovárica de cabras a los 10 (noviembre) y 16 meses de edad (mayo) mediante ultrasonografía rectal, observaron la presencia de cuerpos lúteos y

actividad ovárica en estos animales durante el mes de mayo, no obstante a que trabajos previos en la región, habían indicado que durante dicho mes la actividad reproductiva de las cabras es nula. Finalmente, la generalidad de los resultados evidencian que las cabras criollas notablemente experimentan una marcada variación en la duración del periodo de anestro, los meses en que es manifestado y la profundidad con que es expresado.

#### 2.2.2. Factores que influyen en la regulación de la estacionalidad.

Como ya se mencionó para asegurar que los partos y lactancias coincidieran con las épocas de abundancia de forraje y mejores condiciones ambientales, las cabras desarrollaron un patrón reproductivo estacional (Martin *et al.*, 2002). Se conoce que son diversos los factores que pueden contribuir en la sincronización de la actividad reproductiva a cierta época del año, dentro de éstos se incluye a los estímulos asociados a las señales ambientales (la temperatura, la humedad, precipitación pluvial, fotoperiodo, entre otros), socio-sexuales y nutricionales (Williams, 1984; Silva, 1995; Martin *et al.*, 2004).

En las regiones geográficas ubicadas dentro de latitudes templadas, son muy acentuados los cambios climáticos estacionales en la temperatura ambiental, la duración de las horas luz y la disponibilidad de alimento a través del año. Bajo estas condiciones, de las diferentes señales involucradas, se ha sugerido que el fotoperiodo es la más confiable que los animales utilizan como anunciador de las estaciones del año, y por lo tanto, de las mejores condiciones ambientales y de disponibilidad de alimento (Thiery *et al.*, 2002). Con respecto a ello, es conocido que las cabras se aparean durante los días decrecientes, y en los días largos se encuentran en un estado de inactividad sexual. Asimismo, en condiciones experimentales, se ha observado que los días cortos son estimulatorios y los días largos son inhibitorios de la actividad sexual (Chemineau *et al.*, 1988).

Generalmente se ha manejado que el fotoperiodo es la señal más confiable que predice las estaciones del año, y por lo tanto del mejor período con abundancia de alimento. Sin embargo, este punto de vista no es aplicable para todas las regiones en donde las cabras son explotadas. Lo anterior básicamente por tres razones: 1) porque el fotoperiodo puede cambiar imperceptiblemente en las regiones cercanas al ecuador; 2) por que en muchos ambientes, la disponibilidad de alimento es determinada por la temporada de lluvias u otros factores; y 3) particularmente en las regiones áridas y semiáridas, por que el período de abundancia de forrajes varía de manera considerable año con año, debido a que la temporada de lluvias es muy impredecible (Martin *et al.*, 2004). Bajo estas circunstancias, una estrategia reproductiva que es basada estrictamente en las señales fotoperiódicas pudiera no ser la más conveniente. Consecuentemente, en las regiones ubicadas dentro de latitudes tropicales y subtropicales, algunos animales tienden a responder en mayor medida a otros factores, además del fotoperiodo. Dentro de los factores que toman mayor importancia en estas condiciones, se incluye principalmente a los estímulos asociados a las señales nutricionales y socio-sexuales (Martin *et al.*, 2002, 2004).

En la cabra criolla de México, se ha evidenciado que el patrón reproductivo estacional, es controlado por el fotoperiodo como elemento primario (Delgadillo *et al.*, 1999, 2004). Sin embargo, estos fenotipos expresan una amplia variación en las fechas de entrada y salida de la estación de anestro, no obstante a que el fotoperiodo es una señal de origen astronómico que no cambia año con año. Es probable que las cabras criollas estén respondiendo a otros estímulos, posiblemente provenientes de señales nutricionales y socio-sexuales, las cuales pudieran estar interactuando con la señal fotoperiódica, y de esta manera modulando la duración, la profundidad y el momento en que se expresa la condición de anestro. Debido a la orientación del presente estudio, más adelante sólo se hará referencia en el efecto del fotoperiodo y del estado nutricional como reguladores de la expresión de la estacionalidad.

### 2.2.3. Efecto del fotoperiodo sobre la estacionalidad.

El fotoperiodo es considerado como la señal medioambiental más importante que controla la estacionalidad reproductiva en ovejas y cabras, y mediante su manipulación, se puede alterar su actividad reproductiva (Delgadillo *et al.*, 2004). Con respecto a ello, Delgadillo *et al.* (1991 y 1992) observaron que al someter a machos Alpinos y Saanen a alternancias de 1 mes de días largos (16 horas de luz/día) y 1 mes de días cortos (8 horas de luz/día), se atenuaba la estacionalidad de su comportamiento sexual, del peso testicular y de la producción espermática cuantitativa y cualitativa. Sin embargo, el efecto de los tratamientos fotoperiódicos sobre la modificación de la expresión de la actividad reproductiva y los mecanismos neuroendocrinos involucrados, ha sido mayormente estudiado utilizando a la oveja como modelo, por lo que mucho se hará referencia en esta especie.

#### Ritmo endógeno reproductivo y fotorrefractoriedad

Generalmente se sugiere que los días cortos son estimulatorios y los días largos inhibitorios de la actividad reproductiva (Chemineau *et al.*, 1988). Sin embargo, en un estudio realizado con ovejas, Malpoux *et al.* (1988) observaron que cuando fueron sometidas a descensos en las horas luz después del solsticio de invierno, la estación de la actividad reproductiva se prolongó, pero ésta no fue sostenida y eventualmente finalizó. Por el contrario, cuando las ovejas son mantenidas bajo un constante incremento en los días largos, éstas exhibieron su actividad reproductiva en el tiempo habitual (Malpoux *et al.*, 1989). Los autores sugirieron que tanto el término como el inicio de la estación reproductiva, es un proceso obligatorio, el cual no puede ser prevenido o modificado por el ambiente fotoperiódico. Además, que la pérdida de respuesta al estímulo por los días cortos o largos, fenómeno conocido como refractoriedad, refleja la presencia de un ritmo endógeno reproductivo.

La presencia del ritmo endógeno reproductivo fue soportada en estudios posteriores, en los cuales se observó que aún después de bloquear (pinealectomía, gangliotomía cervical superior, entre otros) la transmisión de la información fotoperiódica, los

animales siguieron expresando su actividad reproductiva estacional. Por lo anterior, se ha sugerido que la reproducción estacional en cabras y ovejas, es generada por un ritmo circanual endógeno de la actividad neuroendocrina, y que el papel del fotoperiodo es sincronizarlo, mas no crearlo (Rosa y Bryant, 2003). Asimismo, se ha sugerido que los días largos de primavera son importantes para sincronizar éste ritmo, especialmente en el momento del inicio de la actividad reproductiva al final del verano, y los días cortos, para actuar principalmente en el mantenimiento de la actividad reproductiva una vez que ha iniciado (Malpaux *et al.*, 1989).

#### *Transferencia de la información fotoperiódica*

Después de varias investigaciones (Karsh *et al.*, 1984; Legan y Winans, 1981; Lincoln, 1992) finalmente se identificó la ruta fotoneuroendocrina, por donde la información fótica es convertida en una señal neuroendocrina. Basados en la evidencia encontrada en hámster y posteriormente en ovejas, se demostró que el estímulo fótico es recibido inicialmente por la retina, la cual contiene fotorreceptores que transmiten esta información al núcleo supraquiasmático (SCN) del hipotálamo, por una vía conocida como tracto retinohipotalámico. El SCN funciona como un reloj biológico interno, que regula los ritmos circadianos endógenos. Una vez que el SCN ha recibido el mensaje fotoperiódico, es transmitido a la glándula pineal por inervación simpática a cargo del ganglio cervical superior. La glándula pineal funciona como un transductor, convirtiendo información neural observada del ciclo luz - oscuridad a una señal hormonal, la cual toma la forma de un ritmo circadiano en la secreción de melatonina (Karsh *et al.*, 1984; Legan y Winans, 1981; Lincoln, 1992).

#### *Melatonina y la secreción de GnRH y LH*

La melatonina es una hormona secretada principalmente por la glándula pineal, la cual es liberada en la vena Galena y en el fluido cerebroespinal. Ésta hormona es liberada únicamente en la noche, por lo que la duración de su secreción difiere entre las estaciones de días largos y cortos (Alila-Johansson *et al.*, 2001; Tricoire *et al.*, 2003). Se ha indicado que el efecto de la melatonina sobre el eje reproductivo se

lleva a cabo a nivel central, sobre la regulación de la secreción de GnRH y LH. Con respecto a ello, en un estudio realizado en ovejas ovariectomizadas implantadas con estradiol, las cuales fueron expuestas a días largos inhibitorios, se observó que la frecuencia de pulsos de GnRH y LH fue baja; sin embargo, cuando se les aplicó un implante de melatonina que generó una situación similar a los días cortos, la frecuencia de GnRH y LH se incrementó notablemente (Viguié *et al.*, 1995).

#### *Retroalimentación negativa del estradiol*

Se ha indicado que las variaciones fotoperiódicas estacionales mediadas a través de la melatonina, actúan regulando la secreción de la GnRH y LH. Ésta regulación involucra a dos mecanismos complementarios: uno esteroide-dependiente que parece ser el más importante y otro independiente de esteroides (Thiery *et al.*, 2002). Utilizando el modelo de la oveja ovariectomizada y utilizando implantes de estradiol, en diferentes estudios se observó que la secreción de LH (reflejo de la GnRH) disminuye durante la estación de anestro e incrementa en la estación reproductiva al igual que ovejas intactas, pero no de igual manera, sin la aplicación del esteroide. Los autores concluyeron, que con los días largos, la baja duración de la exposición de melatonina de alguna manera es traducida por el sistema neuroendocrino, el cual responde incrementando la sensibilidad a la retroalimentación negativa del estradiol, que a su vez provoca una disminución de la frecuencia en la secreción de GnRH y LH (Martin *et al.*, 1983; Legan y Karsch, 1983). Por otro lado, en ovejas ovariectomizadas sin tratamiento con estradiol, también se ha demostrado un efecto en menor grado del fotoperiodo sobre la secreción de LH. En este caso se involucra un mecanismo no dependiente de esteroides; sin embargo, aunque se sugiere que pudiera darse un efecto directo de melatonina, poco es conocido al respecto (Thiery *et al.*, 2002).

#### *Sitios y mecanismo de acción de la melatonina*

Mediante el uso de melatonina marcada con I<sup>125</sup>, en diferentes estudios realizados en ovejas se identificaron los sitios blanco de la melatonina. En primera instancia, la

pars tuberalis causó mayor atención debido a la presencia de una alta densidad de unión comparada con otros sitios pituitarios o hipotalámicos (Malpaux *et al.*, 1995). Los estudios demostraron que la pars tuberalis medía la acción de la melatonina en un efecto sobre la secreción de prolactina, pero no sobre la secreción de GnRH y LH (Malpaux *et al.*, 1997). En contraste, bajo condiciones inhibitorias, la secreción de LH fue estimulada cuando microimplantes de melatonina fueron colocados en el área hipotalámica premamilar y el hipotálamo medio basal (Malpaux *et al.*, 1997; Malpaux *et al.*, 1998). Con los anteriores estudios, además de la localización de los posibles sitios de acción de la melatonina sobre el eje neuroendocrino, se confirmó que su efecto lo ejerce a nivel central. Sin embargo, el mecanismo por el cual el modo de secreción de la melatonina actúa sobre el cambio de la sensibilidad del generador de pulsos de GnRH a la retroalimentación negativa del estradiol, es una cuestión que sigue sin resolverse (Rosa y Bryant, 2003).

Se ha indicado que en la región del hipotálamo medio basal se encuentra el 15% de los cuerpos celulares de la población de neuronas GnRH (Caldani *et al.*, 1988). También se ha observado que ésta región hipotalámica es un sitio de unión de la melatonina (Malpaux *et al.*, 1997). Sin embargo, Malpaux *et al.* (1996, 1998), sugirieron que no es probable un efecto directo de la melatonina sobre la red GnRH. Ellos argumentaron que aunque el hipotálamo medio basal es un sitio de unión de la melatonina, es muy poca la población de neuronas GnRH presentes; además, que la tardada respuesta de la secreción de GnRH y LH a la melatonina, indica que su acción implica un mecanismo complejo. Con respecto a ello, diferentes autores concuerdan en que la melatonina opera mediante un mecanismo indirecto, en el cual se involucra a diferentes vías interneuronales, responsivas o no a estrógenos, dentro de las cuales destacan las neuronas dopaminérgicas, además de las secretoras de serotonina, GABA, noradrenalina y aminoácidos excitatorios glutamato y aspartato (Malpaux *et al.*, 1996; Thiery *et al.*, 2002; Jensen *et al.*, 2003).

En los últimos años se ha indicado que el grupo de células dopaminérgicas A15 localizadas en el núcleo retroquiasmático y con terminaciones nerviosas en la

eminencia media cercanas a las de las neuronas GnRH, juega un papel central en los cambios de sensibilidad de la secreción de GnRH a los estrógenos (Lehman *et al.*, 1996; Gallegos-Sanchez *et al.*, 1997). Se ha observado que éste grupo neuronal es responsivo a los estrógenos durante el anestro pero no en la estación reproductiva (Lehman *et al.*, 1996). Aunque los estrógenos provocan la actividad del grupo de neuronas dopaminérgicas A15, algunos investigadores han demostrado que éstas no contienen receptores ER $\alpha$  o ER $\beta$ , lo que indicó que otro grupo neuronal aferente a éstas neuronas puede estar mediando éste efecto (Lehman y Karsch, 1993; Lubbers *et al.*, 1999). Sin embargo, recientes estudios han identificado receptores ER $\alpha$  en grupos neuronales presentes en el área preóptica ventromedial y retroquiasmática, los cuales envían proyecciones al núcleo A15. Se ha observado que la administración local de estradiol en éstos núcleos durante el anestro, disminuye la secreción de LH mediante la vía dopaminérgica A15 (Gallegos-Sanchez *et al.*, 1997; Anderson *et al.*, 2001; Hardy *et al.*, 2003). Los resultados indican que al igual que las neuronas dopaminérgicas del núcleo A15, los núcleos responsivos a estradiol presentes en el área preóptica ventromedial y retroquiasmáticos, son componentes importantes en los cambios de sensibilidad de la secreción de GnRH y LH a los estrógenos.

Distintos investigadores concuerdan en que el cambio de sensibilidad de la red neuronal GnRH al estradiol, puede ser reflejo de un efecto de plasticidad neuronal estacional, el cual implica una remodelación de distintas conexiones sinápticas o la asociación de células gliales, sobre la red GnRH (Lehman *et al.*, 1997; Jansen *et al.*, 2003; Adams *et al.*, 2006). Algunos estudios en ovejas evidencian lo anterior; por ejemplo, Xiong *et al.* (1997) demostraron que el número de conexiones sinápticas sobre las neuronas GnRH, se incrementa significativamente durante la estación reproductiva, comparada con la estación de anestro. Por su parte Jansen *et al.* (2003) observaron que durante la estación reproductiva, hay un incremento de las uniones sinápticas hacia las neuronas GnRH por parte de las vías asociadas a GABA y neuropéptido Y. Además, observaron que las vías asociadas a  $\beta$ -endorfina fueron

mayores en el soma de las neuronas GnRH durante el anestro, y en las dendritas en la estación reproductiva. Se ha sugerido que las hormonas tiroideas juegan un importante papel en el fenómeno de plasticidad, principalmente durante la transición hacia el anestro donde intervienen de manera permisiva (Anderson *et al.*, 2003). Con respecto a ello, en un estudio reciente realizado por Adams *et al.*, (2006), se observó que la plasticidad estacional de las neuronas GnRH, no fue dependiente de las hormonas tiroideas; sin embargo, durante la transición al anestro en este mismo estudio, se identificó el fenómeno de plasticidad estacional en el grupo de neuronas A15 dopaminérgicas, el cual fue dependiente de la presencia de las hormonas tiroideas.

Aunque en los últimos años han existido considerables avances, la comprensión de los mecanismos implicados en la regulación del patrón reproductivo estacional, no son comprendidos del todo, y ésta situación se complica aún más, cuando se trata de integrar a los diferentes factores involucrados.

### **2.3. Efecto del estado nutricional sobre la reproducción**

#### 2.3.1. Relación entre la nutrición y la reproducción.

La función reproductiva de los mamíferos domésticos, es fuertemente influenciada por su estado nutricional (Dunn y Moss, 1992). Es conocido que el exceso o deficiencia de cualquier nutrimento puede afectar la función reproductiva; sin embargo, se ha sugerido que bajo condiciones comunes de producción, es el estado energético el que juega un papel determinante (Imakawa *et al.*, 1986; Schillo, 1992; Robinson, 1996).

En vacas, se ha observado que la pérdida del 20% de su peso vivo debido a la restricción de energía en la dieta, provoca el cese de su actividad ovulatoria (Imakawa *et al.*, 1986). Distintos estudios en ovejas indican que ya sea la condición corporal, la restricción del consumo, o la suplementación (flushing), pueden influir en la secreción de LH, el desarrollo folicular y la tasa ovulatoria (Snyder *et al.*, 1999;

Kiyma *et al.*, 2004; Scaramuzzi *et al.*, 2006). En cabras, algunos estudios indican que la restricción del 40 % de sus requerimientos de proteína y energía, con pérdida de hasta el 20 % de peso vivo, no ocasionó la interrupción de la actividad ovárica cíclica (Meléndez, 2001). Por otro lado, en cabras de la raza Shiba, se observó que una restricción del 70 % de sus requerimientos provocó la detención de su actividad ovulatoria (Tanaka *et al.*, 2003). En otro estudio, la baja condición corporal aunada a una restricción alimenticia del 75% de sus requerimientos por 19 días, no evitó la manifestación del estro después de la sincronización, pero sí se disminuyó el porcentaje de ovulaciones múltiples y de concepción (Mani *et al.*, 1992). Lo anterior indica que durante la época reproductiva de la cabra, sólo una severa desnutrición puede provocar el paro de su actividad ovulatoria, no obstante otros aspectos como el desarrollo folicular o tasa ovulatoria, si pueden verse afectados.

Se ha sugerido que los efectos del estado nutricional energético sobre el eje reproductivo, involucra un componente estático o estable representado por el peso vivo y las reservas corporales de energía, y un componente dinámico representado por el cambio de peso y el consumo diario de alimento. Estos componentes generan señales de largo y de corto plazo respectivamente, las cuales van a actuar como moduladores en los diferentes niveles del eje reproductivo (Archer *et al.*, 2002). El estado energético de un individuo, puede ser visualizado a través del balance de energía. Este último es determinado por el gasto calórico en las distintas funciones del organismo, el estado de reservas corporales de energía y por el ingreso de combustibles metabólicos mediante el consumo diario de alimento (Schneider, 2004).

Entonces, cuando la disponibilidad de alimento es abundante y los animales consumen más de los requerimientos que necesita, el excedente es almacenado (como triglicéridos o glucógeno) o dispersado en forma de calor metabólico. En esta situación se dice que el animal se encuentra en balance energético positivo. Por el contrario, cuando la disponibilidad de alimento es deficitaria y los animales no consumen lo necesario para cubrir sus requerimientos, éstos utilizan la energía

almacenada en sus reservas corporales para cubrir el déficit; y en este contexto, se dice que el animal se encuentra en un estado de balance energético negativo (Scaramuzzi *et al.*, 2006). Éste último estado es el más común, ya que en la mayoría de los sistemas de producción el escenario que prevalece es el de una deficiente alimentación. Bajo estas condiciones, los animales redirigen su energía disponible para el mantenimiento de funciones con mayor prioridad (actividad celular, circulación, termorregulación y otras) que la reproducción. Entonces, dependiendo de la severidad del balance energético negativo, la actividad reproductiva puede verse disminuida, o detenida en el peor de los casos (Wade y Jones, 2004).

### 2.3.2. El estado nutricional energético y la secreción de GnRH/LH

Como ya se mencionó, las neuronas GnRH representan el componente final de una red neuronal que integra múltiples señales, provenientes del medioambiente o del mismo organismo. Además, la neurohormona GnRH es el principal controlador del eje hipotálamo - hipófisis - ovarios (Herbison, 1998). La vía primordial por donde los componentes del estado energético pueden modular la actividad reproductiva, es a través de la regulación de la frecuencia de secreción de GnRH, y por consecuencia de LH (Dunn y Moss, 1992; Wade y Jones, 2004).

Se ha sugerido que el hipotálamo es capaz de diferenciar entre las señales provenientes de las reservas corporales de energía y las relacionadas con el consumo de alimento (Archer *et al.*, 2002). En algunos estudios realizados en borregos, no se observaron diferencias en la secreción de LH entre los grupos de animales con una condición corporal alta o baja, cuando recibieron una dieta para mantener cada condición (Zhang *et al.*, 2005). En este mismo estudio, cuando cada grupo de condición corporal (alta o baja) fue dividido para ofrecerles una dieta de mantenimiento y de doble mantenimiento, se observó que el aumento en el plano nutricional incrementó la frecuencia de LH, pero sólo en los animales con condición corporal baja. Resultados similares fueron reportados por Archer *et al.* (2002). Los autores concluyeron que aunque no hubo efecto de las reservas corporales *per se*

(señales de largo plazo) sobre la secreción de LH, el efecto del incremento agudo en plano nutricional, depende en gran medida del estado de condición corporal en que se encuentre el individuo. No obstante a lo anterior, es importante recordar que en los sistemas de producción extensivos, la alimentación es comúnmente hacia la baja, lo cual contrasta con los esquemas utilizados por estos autores.

Utilizando cabras de la raza Shiba caracterizada como no estacional, Tanaka *et al.* (2002), evaluaron la secreción de LH con diferentes escenarios del estado nutricional con respecto a los utilizados por Zhang *et al.* (2005) y Archer *et al.* (2002). Dos grupos de cabras en base a su peso corporal (pesadas y ligeras) fueron alimentados con una dieta de mantenimiento, y posteriormente se les ayunó por tres días. La frecuencia de LH fue monitoreada previo al ayuno y en cada día del ayuno. En todas las ventanas de muestreo, no se observó una reducción significativa en la frecuencia de LH en el grupo de cabras pesadas. En el grupo de cabras ligeras, la frecuencia de LH no fue diferente que las cabras pesadas previo al ayuno y en el primer día de ayuno; sin embargo, sí fue significativamente reducida y diferente en el segundo y tercer día del ayuno. Aunque en diferente contexto nutricional, los autores llegaron a la misma conclusión que Archer *et al.* (2002) y Zhang *et al.* (2005). Al parecer las señales de largo y corto plazo son integradas de alguna manera, e indican a los centros hipotalámicos la condición del estado energético.

Es conocido que las señales de largo o corto plazo que controlan el funcionamiento del eje reproductivo, también están implicadas en la regulación del balance de energía, y por ello su estrecha relación. Las señales generadas por los componentes del estado energético y que regulan éstas dos funciones, involucra estímulos generados por la presencia de combustibles metabólicos oxidables, el sistema hormonal, y por neurotransmisores en el hipotálamo (Schneider, 2004).

Se ha sugerido que la disponibilidad y/o utilización de combustibles metabólicos (glucosa, ácidos grasos, metabolitos intermediarios del ciclo de Krebs u otras rutas

metabólicas, además de las concentraciones de ATP) pueden estimular la actividad del pulso generador de GnRH, independientemente de los estímulos hormonales (Schneider, 2004). Aunque poco se conoce al respecto, se ha indicado que los ácidos grasos y la glucosa son de los principales nutrientes implicados en la regulación de la secreción de GnRH y LH (Blache *et al.*, 2006).

En rumiantes las concentraciones de ácidos grasos volátiles incrementan con la alimentación, y en otros casos, el balance energético negativo induce un incremento de los ácidos grasos no esterificados (AGNE; Van Der Walt y Linington, 1989). En un estudio realizado por Boukhliq y Martin (1997) en el cual adicionaron ácidos grasos volátiles (acético, propiónico) y aceite vegetal en la dieta de borregos, se observó un incremento de la secreción de LH. Los autores concluyeron que la mejora en la secreción de LH, posiblemente sea mediada por vías asociadas a la síntesis o utilización de los ácidos grasos. Por otro lado, debido a la relación inversa entre la secreción de LH y las concentraciones de AGNE, se ha sugerido que éstos últimos pueden estar implicados en la inhibición de su secreción (Schillo, 1992). Se ha observado que la restricción de alimento por tres días inhibe la secreción de LH, pero sólo en cabras ligeras vs pesadas. Con respecto a ello se indicó que posiblemente las reservas de grasa corporal, proporcionaron energía mediante la oxidación de los ácidos grasos, lo cual soportó los efectos de la restricción (Tanaka *et al.*, 2002). Asimismo, cuando hámsters gordos fueron sometidos a un ayuno inducido, éstos no entraron en anestro; sin embargo, cuando fueron ayunados pero además tratados con un inhibidor de la utilización de ácidos grasos, su ciclicidad estral si fue detenida (Schneider, 2004). Aunque las evidencias indican que los ácidos grasos pueden ser parte de las señales que regulan la secreción de GnRH/LH, también cabe la posibilidad de que su efecto lo realice de manera indirecta, mediante la activación de otros elementos como la leptina (Blache *et al.*, 2006).

Diferentes estudios soportan la hipótesis de que las concentraciones circulantes de glucosa actúan como uno de los principales reguladores de la secreción de GnRH y

LH. En cabras, el ayuno por tres días provocó una disminución de la concentración sanguínea de glucosa a niveles menores en los animales ligeros vs los pesados (Tanaka *et al.*, 2002). En ovejas, la administración de glucosa incrementa la secreción de LH cuando ésta es reducida por un estado de hipoglucemia inducida por insulina (Clarke *et al.*, 1990). De igual manera, la hipoglucemia inducida por insulina provocó una reducción de la actividad del generador de pulsos de GnRH en cabras ovariectomizadas tratadas con estradiol (Ohkura *et al.*, 2004). En este mismo estudio, se observó que la glucoprivación generada mediante la aplicación de un inhibidor de la glucólisis, suprime la actividad del generador de pulsos GnRH. Algunos estudios indican la existencia de sensores de glucosa, los cuales dependiendo de su disponibilidad, pueden regular el consumo de alimento y la secreción de GnRH/LH (Ohkura *et al.*, 2000; Grill y Kaplan, 2002). Al parecer éstos glucosensores se encuentran ubicados en el área postrema (AP) y núcleo del tracto solitario (NTS) localizados en la médula oblongada (Schneider y Zhou, 1994; Murahashi *et al.*, 1996). Los cuerpos neuronales del AP y NTS proyectan terminaciones hacia el PVN, y se ha sugerido que mediante la noradrenalina estimulan la liberación de CRH del PVN, la cual tiene un efecto supresivo sobre la secreción de GnRH (Gross *et al.*, 1990; Tsukamura *et al.*, 1994).

Existen diferentes integrantes del sistema hormonal que pertenecen a las señales de largo o corto plazo generadas por los componentes del estado energético, y que son importantes reguladores de la función reproductiva. De estos integrantes se ha sugerido que la hormona de crecimiento (GH), IGF-I, leptina y la insulina, son las de mayor importancia (Blache *et al.*, 2006). En estudios en vacas y ovejas, se ha observado que la restricción en el consumo de alimento provoca un incremento en la concentración sanguínea de la GH (Thomas *et al.*, 1994; Bossis *et al.*, 1999). En un estudio con ovejas gordas y flacas, la concentración sanguínea de GH fue alta en los animales flacos mientras que la concentración de LH fue baja (Henry *et al.*, 2004). En borregos, se sugirió que la GH no parece estar involucrada en la estimulación de la secreción de GnRH, por que un incremento en el plano nutricional indujo el

decremento de la concentración sanguínea de ésta hormona (Miller *et al.*, 1998). La presencia del ARNm del receptor de la GH en el hipotálamo y la hipófisis, incrementa la posibilidad de que ésta hormona juegue un papel en la regulación de la secreción de gonadotropinas (Lucy *et al.*, 1998). Sin embargo, los resultados son poco concluyentes y con las presentes evidencias sólo se puede especular un posible efecto negativo en la secreción de gonadotropinas.

El sistema hormonal IGF-I se ha propuesto como un importante mediador del estado nutricional en los efectos sobre la reproducción de rumiantes (Schillo, 1992). La secreción de IGF-I es principalmente producida por el hígado, aunque puede ser secretada en otros tejidos, donde se incluye la adenohipófisis (Zulu *et al.*, 2002). No obstante a que la GH es el controlador principal de la secreción de IGF-I hepática, bajo condiciones de desnutrición cuando las concentraciones de GH son incrementadas, las concentraciones de IGF-I son disminuidas (Bossis *et al.*, 1999). Bajo estas circunstancias, se ha sugerido que existe una reducción de los receptores para GH en el hígado, y por lo tanto, una situación de insensibilidad para promover la síntesis y secreción de IGF-I (Lucy, 2000; Zulu *et al.*, 2002).

Diferentes estudios han mostrado que los niveles de IGF-I en sangre, están directamente relacionados al estado energético. Con respecto a ello, se ha observado que vacas lecheras en balance energético positivo, presentan mayores niveles sanguíneos de IGF-I y reinicio de su actividad ovárica más temprano, que las que se encuentran en balance energético negativo (Beam *et al.*, 1997; Beam y Butler, 1999). En ovejas, el grupo de animales con una condición corporal alta presentó mayor concentración sanguínea de IGF-I y de LH comparado con el grupo de baja (Snyder *et al.*, 1999). El ayuno por 72 horas en ovejas, también ocasionó una disminución de la concentración sanguínea de IGF-1, la cual permaneció baja hasta la realimentación (Kiyama *et al.*, 2004). Adam *et al.* (1997) reportaron que un incremento en la circulación de IGF-I dentro del rango fisiológico estimula la secreción de LH en borregos. En un estudio con células pituitarias de bovino, se

observó que el IGF-I interactúa con los estrógenos incrementando la respuesta a GnRH, y por lo tanto la secreción de LH (Hashizume *et al.*, 2002). Aunque se ha sugerido que en borregos, es poco probable que el IGF-I actúe como mediador del estado nutricional a nivel central (Blache *et al.*, 2000), la generalidad de los estudios en vacas y ovejas, indican que ésta hormona es parte de las señales del estado nutricional, y un importante regulador en la secreción de LH.

La secreción de la insulina pancreática es sensiblemente afectada por el estado nutricional, y se ha indicado que es una de las señales más importantes que modulan la secreción de GnRH/LH (Blache *et al.*, 2000). Con respecto a ello, se ha observado que ovejas con condición corporal alta presentan mayor concentración sanguínea de insulina y LH que las de condición baja. Sin embargo, cuando éstas fueron sometidas a un ayuno por 32 horas, la concentración de insulina tendió a disminuir en ambos grupos, aunque en mayor grado en el grupo de condición corporal alta y sin observarse efecto sobre la secreción de LH (Henry *et al.*, 2004). En contraste, Tanaka *et al.* (2002) observaron que cabras ligeras y pesadas tenían concentraciones similares de insulina sanguínea y de la frecuencia de LH. No obstante, cuando éstas fueron sometidas a un ayuno por tres días la concentración de insulina disminuyó en ambos grupos, pero la frecuencia de LH sólo se vio afectada en las cabras ligeras. En otro estudio, la disminución en la concentración de insulina sanguínea después del ayuno en cabras, fue asociada con una menor actividad del generador de pulsos de GnRH (Matsuyama *et al.*, 2004).

Algunos investigadores sugieren que el efecto de la insulina sobre la secreción de GnRH, puede ser ya sea mediante una acción directa, o indirecta asociada a los cambios de disponibilidad de glucosa (Tanaka *et al.*, 2000). El hipotálamo es uno de los posibles sitios de acción de la insulina, y algunos autores han reportado la presencia de sus receptores en sus núcleos neuronales (Blache *et al.*, 2000). Con respecto a ello, Burcelin *et al.* (2003) reportaron que la adición de insulina a cultivos de neuronas hipotalámicas de ratón, induce la secreción de GnRH de manera dosis-

dependiente. Asimismo, Tanaka *et al.* (2000) utilizando como modelo al borrego diabético, observaron que la infusión intracerebroventricular de insulina incrementaba la frecuencia de LH comparado con los animales testigo. Por otro lado, se ha sugerido que cambios en la disponibilidad de glucosa dependiente de insulina, pueden ser detectados por glucosensores centrales, los cuales traducen la información en una señal neural regulando la secreción de GnRH (Tanaka *et al.*, 2000). En apoyo a lo anterior, se ha reportado la presencia de transportadores de glucosa dependientes de insulina (GLUT-4) en el cerebro de ratones (Leloup *et al.*, 1996), además de la unión de insulina en el AP (Van Houten y Posner, 1981), identificada como sensor de glucosa en el SNC y un importante regulador de la secreción de GnRH/LH (Murahashi *et al.*, 1996). Finalmente, independientemente de cual sea el sitio y el mecanismo de acción, todo lo anterior indica que la secreción de GnRH/LH es influenciada por la señal insulinémica, y ésta puede realizar su efecto asociada a otras señales dependiendo del estado energético del individuo.

La leptina ha sido identificada como la señal que proviene del tejido graso y que comunica al cerebro sobre el estado de las reservas corporales de energía, además de que actúa regulando el consumo de alimento, el gasto de energía (Niswender y Schwartz, 2003) y la secreción de GnRH/LH (Spicer, 2001). La leptina es secretada principalmente por el tejido adiposo blanco (Houseknecht y Portocarrero, 1998), y se ha reportado que cambios en periodos largos y cortos en el estado metabólico energético, alteran la sensibilidad de los tejidos cerebrales a ésta hormona, además de su síntesis y liberación (Blache *et al.*, 2006).

Con respecto a lo anterior, en un estudio realizado en ovejas se observó que el grupo de condición corporal alta presentó mayor concentración sanguínea de leptina y LH que el grupo de condición baja. Sin embargo, cuando éstas fueron sometidas a un ayuno por 32 horas, la concentración de leptina se disminuyó sólo en el grupo de condición corporal alta y la secreción de LH no fue alterada (Henry *et al.*, 2004). Aunque los autores sugirieron que cambios en periodos largos (condición corporal),

pero no agudos (consumo diario de alimento) en la concentración de leptina pueden afectar la secreción de LH, es posible que el tiempo de ayuno utilizado no fuera suficiente para llegar a un nivel nutricional en el cual se afectara aún más la secreción de LH. En vaquillas, Amstalden *et al.* (2000) observaron que el ayuno por 48 horas, disminuyó las concentraciones sanguíneas de leptina, situación que fue asociada a una reducción en la frecuencia de pulsos de LH. Por otro lado, Zhang *et al.* (2005) observaron que cuando a borregos gordos y flacos que recibían una dieta de mantenimiento, se les incrementó a doble mantenimiento, la concentración sanguínea de leptina incrementó en el grupo de animales gordos, pero la secreción de LH sólo fue incrementada en el grupo de animales flacos. La diferente respuesta en las concentraciones de leptina en los animales gordos y flacos, sugiere que el papel de la leptina sobre la secreción de LH es solamente permisivo, más que directamente regulatorio (Zhang *et al.*, 2005).

El mecanismo neuroendocrino a través del cual la leptina afecta la secreción de GnRH/LH, no ha sido completamente elucidado (Zieba *et al.*, 2005). Algunos investigadores coinciden en que el efecto de la leptina puede ser de manera indirecta, incrementando la disponibilidad y oxidación de glucosa, y además interactuando con otras señales metabólicas (Foster y Nagatani, 1999; Cunningham *et al.*, 1999; Schneider, 2004). Se ha observado que la leptina restaura la secreción de LH en vacas que son sometidas a un ayuno de 72 horas (Maciel *et al.*, 2004), pero este efecto no se llevó a cabo, cuando además de leptina hamster sirios recibieron infusiones de 2-deoxi-D-glucosa (2DG; Schneider *et al.*, 1998). Asimismo, la sensibilidad a insulina puede ser incrementada por la leptina (Sivits *et al.*, 1997), y además se ha reportado la presencia de GLUT-4 en el cerebro de ratones (Leloup *et al.*, 1996), la unión de insulina en el AP (Van Houten y Posner, 1981) y la presencia de receptores para leptina en el AP y NTS (Grill *et al.*, 2002). Foster y Nagatani (1999) sugieren que es posible que la leptina actúe en sinergismo con la insulina, incrementando la acción de ésta última en la regulación de proteínas transportadoras de glucosa en los sensores localizados en el AP y NTS.

Otros investigadores sugieren que la leptina actúa en el hipotálamo, aunque no directamente en las neuronas GnRH (Barb *et al.*, 2004; Zieba *et al.*, 2005). Se ha reportado la presencia de receptores para leptina en diferentes núcleos del hipotálamo, además de la hipófisis (Houseknecht y Portocarrero, 1998). Asimismo, se ha observado que la leptina actúa dentro del hipotálamo estimulando la secreción de GnRH, y con alta sensibilidad en el núcleo arcuato y la eminencia media de ratas ayunadas (Watanobe *et al.*, 2002). Chiliard *et al.* (2005), indican que en el núcleo arcuato puede existir un sensor metabólico, pues es un centro involucrado en la regulación del consumo de alimento, la reproducción, y además se han localizado receptores para insulina y leptina. Sin embargo, diferentes publicaciones mencionan a otros núcleos hipotalámicos (núcleo paraventricular, hipotálamo ventromedial y dorsomedial), en los cuales la leptina puede tener una acción indirecta. Lo anterior, a través de la activación o represión de diferentes neurotransmisores (Schwartz *et al.*, 1996; Cunningham *et al.*, 1999; Clarke y Henry, 1999).

Se han caracterizado varios neurotransmisores involucrados en la regulación del balance energético, y que a su vez intervienen (directa o indirectamente) estimulando o inhibiendo la actividad de la red neuronal GnRH (Clarke y Henry, 1999). Algunos de los que se han identificado como inhibitorios incluyen al NPY, la proteína relacionada al agouti (AgRP) y la hormona liberadora de corticotropina (CRH). En contraste, la proopiomelanocortina (POMC) y la hormona estimuladora del  $\alpha$  melanocito ( $\alpha$ -MSH) actúan como estimulatorios (Barb *et al.*, 2004; Schneider, 2004; Zieba *et al.*, 2005; Archer *et al.*, 2005). Se ha observado que la leptina suprime y promueve la expresión de éstos neurotransmisores inhibitorios y estimulatorios respectivamente (Barb *et al.*, 2004; Archer *et al.*, 2005). Por el contrario, recientemente se ha indicado que la ghrelina, una hormona secretada principalmente por células de la mucosa gástrica, tiene un efecto antagónico a la leptina (Anderson *et al.*, 2005). Por otra parte, en los últimos años se han identificado otros neuropéptidos (kisspeptina, orexinas A y B, péptido parecido a galanina), los cuales también pueden tener un efecto regulatorio

sobre la secreción de GnRH, pero poco es conocido al respecto (Zieba *et al.*, 2005; Blache *et al.*, 2006).

La integración de la constelación de señales implicadas en la regulación de la secreción de GnRH/LH, es una situación bastante complicada, sin embargo, se han propuesto algunos modelos (Wade y Jones, 2004; Schneider, 2004). Por ejemplo, Schneider (2004) sugiere que señales primarias (glucosa y ácidos grasos) pueden ser detectadas por sensores en el AP, NTS y en otros tejidos periféricos (hígado, páncreas, tejido adiposo, estómago y otros). Estos últimos pueden responder, por un lado enviando una señal neural a través del nervio vago, el cual conecta con el NTS; y por el otro, mediante la secreción de hormonas metabólicas (IGF-I, insulina, leptina, ghrelina y otras). Las señales primarias al igual que la hormonal, pueden ser detectadas ya sea en los sensores del AP y NTS o en el hipotálamo, donde finalmente va a estimular o inhibir la expresión de neuropéptidos hipotalámicos (NPY, AgRP, POMC, CRH y otros), mismos que van a regular directa o indirectamente la secreción de GnRH y LH.

### 2.3.3. El estado nutricional energético y el desarrollo folicular.

Derivado de las investigaciones realizadas en los últimos años, se ha evidenciado la importancia del estado nutricional energético sobre el desarrollo folicular (Webb *et al.*, 2004). Durante el ciclo estral de rumiantes, el desarrollo y maduración final de los folículos antrales dependientes de gonadotropinas, puede ser influenciado por cambios crónicos (reservas corporales de energía) y agudos (consumo diario de alimento) en el estado nutricional energético (Rhind y McNeilly, 1998; Landau y Molle, 1997; Diskin *et al.*, 2003; Viñoles *et al.*, 2005), lo que finalmente puede afectar la tasa de ovulación.

Aunque las gonadotropinas son los principales reguladores del reclutamiento (fundamentalmente FSH) y/o desarrollo folicular, se ha sugerido que los efectos del estado nutricional pueden ser independientes a su acción (Lucy *et al.*, 2001). En este

sentido se ha observado que la suplementación con una dieta para doble mantenimiento estimula un mayor número de folículos reclutados (Gutierrez *et al.*, 1997a) y prolonga la duración del periodo de vida de los folículos dominantes no ovulatorios (Viñoles *et al.*, 2005), sin afectar la concentración sanguínea de FSH. En relación a ello, se ha sugerido que la glucosa, insulina, IGF-I y leptina son los principales mediadores del estado nutricional (Viñoles *et al.*, 2005; Scaramuzzi *et al.*, 2006), ya que se ha demostrado que pueden ser influenciados por el estado de reservas corporales de energía y consumo diario de alimento (Marie *et al.*, 2001; Henry *et al.*, 2004) además de su efecto sobre el desarrollo folicular (Webb *et al.*, 2004).

Existen evidencias en donde se ha observado que la infusión intravenosa de glucosa en ovejas puede incrementar la concentración sanguínea de insulina, aunado a un mayor porcentaje de ovulación (Downing *et al.*, 1995), y la infusión de insulina en vacas incrementa el diámetro del folículo dominante (Simpson *et al.*, 1994). Con respecto a ello, en un estudio reciente se demostró la presencia de transportadores de glucosa dependientes de insulina en las células de la granulosa y teca en rumiantes, por lo que se ha sugerido la posibilidad de que éstos efectos sean ocasionados por una mayor disponibilidad de glucosa intracelular en los folículos ováricos (Williams *et al.*, 2001). Asimismo, también se ha reportado que la insulina actúa en sinergismo con el IGF-I y la FSH induciendo la proliferación y esteroidogénesis en las células de la granulosa (Gutiérrez *et al.*, 1997b) además de incrementar el número de receptores para gonadotropinas (Lucy *et al.*, 2001).

Por otro lado, se ha sugerido que la leptina en rumiantes también puede ejercer un efecto de manera directa sobre los folículos ováricos (Kendall *et al.*, 2004). Los receptores de leptina han sido identificados en bovinos, en donde se ha observado que esta hormona atenúa la esteroidogénesis inducida por la insulina, en las células de la granulosa, pero sin afectar la proliferación celular (Spicer y Francisco, 1997). Asimismo, en ratas la leptina incrementa el número de ovulaciones dobles, además

de acelerar la maduración folicular, al parecer evitando su atresia (Almog *et al.*, 2001).

Finalmente, las señales generadas por los dos componentes del estado nutricional energético y mencionadas anteriormente juegan un papel central en el mantenimiento de la homeostasis de un individuo, pero además actúan como importantes reguladores del funcionamiento del eje hipotálamo - hipófisis - ovarios (Schneider, 2004; Scaramuzzi *et al.*, 2006).

#### **2.4. Efecto de la nutrición sobre la estacionalidad reproductiva.**

Como ya se mencionó, en los animales domésticos la actividad reproductiva puede ser fuertemente influenciada por efecto de su estado nutricional. En las regiones geográficas ubicadas entre los 35<sup>o</sup> de latitud norte y sur, la época de escasez de alimento regularmente coincide con el anestro estacional de ovejas y cabras. Debido a ello, se ha sugerido que el estado nutricional juega un papel importante en la expresión de la actividad reproductiva estacional durante el año (Martin *et al.*, 2002; Martin *et al.*, 2004), sin embargo, éste efecto ha sido poco estudiado en la especie caprina, y la mayoría de los estudios existentes han sido dirigidos sobre ovejas poco estacionales de razas mediterráneas.

Con relación a lo anterior, cuando ovejas de la raza Aragonesa fueron mantenidas en buena condición corporal constante durante los meses de noviembre a septiembre, la duración del anestro estacional fue reducida comparada con las ovejas de condición corporal baja (64 vs 113 días respectivamente). Al parecer, la diferencia entre estos grupos fue originada debido a que el inicio del anestro estacional fue retrasado en las ovejas con mayores reservas corporales de energía (Forcada *et al.*, 1992). Resultados similares también fueron reportados por Rondon *et al.* (1996) en ovejas de la misma raza, y por Carrillo (2005) en ovejas de pelo. Por otro lado, en estudios recientes se ha demostrado que algunas razas de ovejas como la Merino, han desarrollado estrategias que son oportunistas a la disponibilidad de alimento, y

relativamente flexibles con respecto al inicio y la intensidad en que expresan su actividad reproductiva tanto en la época de apareamiento como fuera de ella (Martin *et al.*, 2002; Hötzel *et al.*, 2003).

En los escasos estudios realizados en cabras, Zarazaga *et al.* (2005) reportaron que el incremento de 50% en los requerimientos nutricionales ocasionó reducción en la duración del periodo anovulatorio, y este efecto se expresó en el mismo grado tanto en el fin como en el reinicio de éste periodo. Asimismo, cuando machos cabríos Cashmere recibieron una dieta de alta calidad se observó que la duración de la época de mayor actividad reproductiva fue prolongada por dos meses más (Walkden-Brown *et al.*, 1994). La condición de restricción nutricional también puede reflejarse en la actividad reproductiva, por ejemplo, en cabras criollas de México se observó que la restricción a 90% de los requerimientos de mantenimiento, ocasionó una disminución en el porcentaje de animales ciclando durante la época de baja actividad reproductiva (Urrutia, 2000). Los resultados mencionados, muestran indicios de que el estado nutricional en cabras puede estar expresándose durante los periodos de transición reproductiva estacional, ya sea retrasando la finalización y/o promoviendo el reinicio de la época reproductiva. Sin embargo, hasta donde es conocimiento del autor son casi nulos los estudios que han sido dirigidos a evaluar el efecto de diferentes condiciones del estado nutricional energético sobre la actividad ovulatoria durante los periodos de transición, y determinar a que nivel de eje reproductivo puede influir.

Con base en las evidencias que han sido documentadas en ovejas, se puede especular que el efecto del estado nutricional energético en los periodos de transición, puede ser principalmente afectando la secreción de GnRH/LH. En relación a ello, se ha observado que un alto consumo de alimento o de reservas corporales de energía induce incremento en la secreción de LH, sin modificar la sensibilidad de la hipófisis a la GnRH (Rhind *et al.*, 1991). Al parecer, la adecuada nutrición ocasiona reducción en la sensibilidad del hipotálamo a la retroalimentación

negativa de los estrógenos (Rhind *et al.*, 1991), situación que sucede de manera inversa con la restricción nutricional (Imakawa *et al.*, 1986). En este sentido, se ha observado que durante la transición hacia la época reproductiva en ovejas cara blanca, un menor estado de condición corporal ocasiona retraso en el reestablecimiento de la secreción de LH (Snyder *et al.*, 1999). Asimismo, en ovejas ovariectomizadas de la raza Aragonesa, dos semanas de sobrealimentación durante el inicio y el fin de la estación de anestro induce incremento en la concentración de LH (Forcada *et al.*, 1997). Se ha demostrado que el sistema dopaminérgico es uno de los principales involucrados en la regulación de la secreción de LH en el inicio y el fin de la época de anestro (Forcada *et al.*, 1997), además se ha observado que durante estos periodos, la aplicación de un antagonista de dopamina induce incremento en la secreción de LH, pero sólo en ovejas subalimentadas (Forcada *et al.*, 2002).

En la especie caprina, a pesar de que en el estudio de Zarazaga *et al.* (2005) se determinó la secreción de LH durante las épocas de anestro, transición y estación reproductiva, en ninguno de dichos periodos se realizaron comparaciones entre los grupos de diferente condición nutricional. No obstante a ello, en machos cabríos Cashmere, se ha observado que durante el inicio de la época de menor actividad sexual, la sobrealimentación induce incremento en la concentración sanguínea de gonadotropinas y testosterona (Walkden-Brown *et al.*, 1994).

Menos es conocido sobre un posible efecto del estado nutricional energético sobre el desarrollo folicular durante los periodos de transición y cómo pudiera repercutir en la duración del periodo anovulatorio. Sin embargo, Carrillo (2005) reportó que en ovejas de pelo durante el inicio del periodo anovulatorio, el grupo de animales con buen estado de condición corporal presentó mayor diámetro folicular que los grupos con una condición regular y mala. Por otro lado, en ovejas de la raza Aragonesa se ha observado que el efecto de la nutrición (mejor estado de condición corporal) es principalmente reflejado durante la transición al anestro estacional (Forcada *et al.*,

1992) o durante la salida del anestro lactacional (Abecia *et al.*, 1993) condición en la cual induce incremento de la tasa ovulatoria.

### III. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1. Generales

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Campo Experimental San Luís del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, localizado en el municipio de Soledad de Graciano Sánchez, San Luís Potosí. El campo se encuentra a 22° 14' 03" Latitud Norte, 100° 53' 11" Longitud Oeste y a 1835 m.s.n.m. El clima predominante es seco estepario frío [Bs Kw (wi)] según la clasificación de Köppen, modificada por García (1981). La temperatura media anual es de 17.6 °C y la precipitación pluvial media anual es de 335 mm. La diferencia entre el día más largo y el más corto es de 2.72 horas.

Se utilizaron 48 hembras caprinas de raza criolla, de entre tres y cuatro años de edad, sin gestar ni lactar, libres de problemas clínicos reproductivos y con antecedentes de fertilidad adecuada. En México la raza criolla se distingue por no presentar características definidas, pues es una mezcla de diferentes razas (principalmente Nubia, Granadina y Blanca Celtibérica), sumamente rustica y adaptada a las zonas áridas y montañosas del país. El tipo de cabras utilizadas en este experimento presenta un fenotipo parecido a la raza Nubia, debido a la cruce que existió entre ésta y la criolla en la zona en donde se realizó el estudio.

Tres meses antes del inicio del experimento se estableció un periodo de pre-tratamiento durante el cual se manipuló la dieta/ración de los animales experimentales para conformar dos grupos: 1) con índice de masa corporal (IMC) alto (n=24; IMCA  $\geq$  10.5); y 2) con IMC bajo (n=24; IMCB  $\leq$  10.0), que corresponderían a animales con calificación  $\geq$  3 y  $\leq$  2 respectivamente en la escala de condición corporal de 1-4 establecida por Honhold *et al.* (1991). Se decidió estimar el IMC en lugar de la condición corporal debido a que es un método de evaluación objetivo que genera una variable continua y con mejor sensibilidad para discriminar valores cercanos. Su estimación fue realizada mediante la siguiente fórmula:  $IMC = \frac{\text{Peso vivo}}{[\text{Altura a la cruz}/2 \times \text{Largo del cuerpo} \times \text{Ancho de la cadera}]} \times 10000$ . Una vez

conformados los grupos de IMC, la alimentación se basó en una sola dieta (APENDICE 1), ajustando la ración de acuerdo al peso vivo individual para lograr niveles de mantenimiento (NRC, 1981) y estabilizar el peso e IMC de acuerdo al grupo correspondiente.

Seis semanas previas al inicio del estudio 12 de las 48 cabras fueron ovariectomizadas (ovx) para posteriormente insertarles un implante subcutáneo de Silastic (Dow Corning, Midland, MI, USA) que contenía 17- $\beta$ -estradiol (Sigma Chemical Compañy, St Louis, MO, USA). Mediante la cuantificación de la concentración sérica de progesterona en dos muestras consecutivas colectadas con nueve días de diferencia, se constató que todos los animales intactos se encontraban ciclando antes de dar inicio el experimento. Desde el periodo previo al inicio del experimento y durante éste, el cual se llevó a cabo del 24 de Enero al 8 de Diciembre del 2005, todos los animales permanecieron estabulados en corrales comunales con agua a libre acceso, bajo fotoperiodo natural y aislados del contacto con machos; fueron alimentados una vez al día (entre las 9:00 y 12:00 horas) y cada uno recibió su ración de manera controlada en comederos individuales.

En el inicio del experimento, el cual coincidió con un estro sincronizado mediante dos aplicaciones intramusculares (a intervalo de 11 días) de PGF2- $\alpha$  (25 mg dinoprost trometamina, Lutalyse, Pharmacia & Upjohn, Pfizer), a la mitad de los animales de cada grupo de IMC (IMCA e IMCB) se les asignó de manera aleatoria uno de dos niveles de consumo de alimento (CA): 1) Oferta del 100% de la ración de mantenimiento de forma constante (SRCA); y 2) Oferta del 100% de la ración de mantenimiento pero con restricciones temporales del 40% (CRCA). Por lo tanto, mediante la combinación de los efectos principales (IMC y CA) se obtuvieron los siguientes tratamientos: IMCA/SRCA, IMCA/CRCA, IMCB/SRCA e IMCB/CRCA.

Para efectuar la restricción temporal en el consumo de alimento, se tomaron como referencia los 21 días promedio del ciclo estral reportado en cabras (estro = día 0).

Así, los animales de los subgrupos restringidos (CRCA) recibieron durante los primeros 11 días del ciclo el 100% de la ración, mientras que en los 10 días restantes (del 12 al 21 del ciclo) sólo se les suministró el 60% (APENDICE 2). Este manejo alimenticio se llevó a cabo durante todo el estudio, tratando de evitar un cambio de IMC en los animales de los subgrupos restringidos y por lo tanto disociando el efecto de las reservas corporales de energía (IMC) y del consumo diario de la misma (CA). Por otra parte, a través de la intermitencia entre periodos de restricción y de no restricción, se intentó impedir un estado de adaptación metabólica como la que puede ocurrir en cabras sometidas a restricción nutricional, las cuales al disminuir y estabilizar su peso, pueden generar una condición de mantenimiento a un peso más bajo (Silanikove, 2000). Cabe señalar que las cabras ovx (n=3 por cada tratamiento) fueron alimentadas de acuerdo a su grupo de tratamiento con base en el mismo esquema utilizado en los animales intactos del grupo correspondiente.

### 3.2. Actividad ovulatoria y duración del periodo anovulatorio

Para determinar la actividad ovulatoria y la duración del periodo anovulatorio, se utilizaron las 36 cabras intactas (n= 9 por tratamiento), a las cuales se les colectaron muestras de sangre por punción en la vena yugular dos veces por semana (martes y viernes) para determinar la concentración sérica de progesterona. Las muestras fueron centrifugadas a 1400 gravedades por 15 minutos y los sueros fueron almacenados a - 20<sup>0</sup> C hasta su radioinmunoanálisis (RIA), el cual se realizó utilizando un estuche comercial (DPC, Los Angeles Ca.). La sensibilidad del ensayo fue de 0.03 ng/ml y el coeficiente de variación intra- e inter ensayo fue de 4.1 % y de 8.2 %, respectivamente.

Se consideró como evidencia de ovulación cuando las cabras presentaron una fase lútea, la cual fue determinada cuando los sueros sanguíneos mostraron una concentración de progesterona > 1 ng/ml, en por lo menos 2 muestras consecutivas. Con base en el día calendario (1<sup>o</sup> Enero= día 1) se estimó, en la transición hacia el anestro, el número de días a finalización de la actividad ovulatoria (FAO; final de

última fase lútea independientemente de su duración y del intervalo con respecto a la fase lútea anterior) y finalización de la actividad ovulatoria regular (FAOR; final de última fase lútea de duración normal, >8 días, e intervalo  $\leq 14$  días con respecto a fase lútea anterior) y en la transición hacia la siguiente estación reproductiva, utilizando los mismos criterios, el número de días a reinicio de la actividad ovulatoria (RAO) y reinicio de la actividad ovulatoria regular (RAOR). Además, tomando en cuenta la diferencia entre FAO y RAO se estimó la duración en días del periodo anovulatorio (ANOV).

### 3.3. Desarrollo folicular

Para determinar el desarrollo de los folículos antrales durante la transición al período anovulatorio, 12 (n= 3 por tratamiento) de las 36 cabras intactas fueron seleccionadas al azar. El día 21 del ciclo estral de acuerdo al estro sincronizado y durante dos ocasiones más con intervalos de 21 días, se les realizaron ultrasonografías transrectales con un equipo Aloka con transductor de 7.5 Mhz. Para el caso de los animales CRCA, las ultrasonografías coincidieron con el día 10 de la restricción. Las imágenes fueron capturadas e impresas en papel fotográfico de 110 mm sony tipo IV (UPP-110HA) por un equipo Sony modelo UP-870MD, para posteriormente realizar las mediciones y el conteo de los folículos. Las variables de respuesta evaluadas fueron: el número total de folículos antrales (FAT;  $\geq 2$  mm) y el diámetro del folículo mayor (DFM).

### 3.4. Secreción de LH

Para determinar el patrón de secreción de LH, se utilizaron las 12 cabras ovx (n=3 por tratamiento), a las cuales se les aplicó un implante subcutáneo de Silastic con 12 mm de longitud y 1.83 mm de diámetro, el cual contenía 17- $\beta$ -estradiol empacado aproximadamente en 10 mm de longitud del tubo. Lo anterior se realizó con el propósito de mantener las concentraciones sanguíneas de estradiol en los niveles observados por otros autores en la fase lútea de un ciclo estral normal (Mori *et al.*, 1987). Antes de su inserción, los implantes fueron incubados por tres días a 37<sup>0</sup> C en

solución salina, para mantener un patrón constante de liberación a partir de su colocación en el animal y evitar el pico de liberación inicial que de lo contrario ocurriría.

Se realizaron seis ventanas de muestreo con el propósito de monitorear la secreción de LH durante la transición hacia el periodo anovulatorio (tres muestreos: 16 de febrero, 9 y 30 de marzo) y durante la salida de éste (tres muestreos: 24 agosto, 14 septiembre y 5 octubre). Lo anterior con base en la actividad ovulatoria observada en el grupo de cabras intactas. Las fechas para las ventanas de muestreo se establecieron para hacer coincidir el muestreo con el día 10 de la restricción en los subgrupos de animales CRCA. Un día antes del muestreo, se insertaron cánulas (catéter intravenoso central de poliuretano radiopaco; 18G x 30 cm, Luer Lock) en la vena yugular, 30 minutos antes del inicio que fue a las 9:00 horas en todas las ocasiones, los animales fueron alojados en jaulas individuales y las cánulas se adosaron a extensiones tubulares de polietileno para realizar el muestreo a distancia. En cada ventana de muestreo se colectaron muestras seriadas de sangre cada 15 minutos por un intervalo de 6 horas. Las muestras sanguíneas fueron transferidas a tubos vacutainer con anticoagulante (90 UI de heparina sódica, Becton Dickinson and Company) y mantenidas a 4 °C. Para la obtención del plasma, minutos más tarde los tubos fueron centrifugados a 1400 gravedades durante 15 minutos manteniendo la temperatura a 4 °C. El plasma obtenido se depositó por duplicado en viales de 2 ml y se congeló a -20 °C hasta su análisis en el laboratorio.

La LH se cuantificó usando un RIA heterólogo de doble anticuerpo, validado para LH bovina (Arreguín *et al.*, 1995). La hormona utilizada como referencia en la curva patrón fue la USDA-bLH-B5 (AFP-5,500) y para la marcación con I<sup>125</sup> fue la USDA-bLH-I-1 (AFP-6000); como primer anticuerpo se usó un suero de conejo anti-LH ovina (CSU-204, producido por GD Niswender). La sensibilidad del ensayo fue de 0.05 ng/ml y el coeficiente de variación intra e interensayo fue de 6.8 y de 16.6 % respectivamente. Las variables de respuesta evaluadas fueron: frecuencia de pulsos

de LH (pulsos/6 horas; FPLH), concentración media de LH (CMLH) y concentración basal de LH en ng/ml (CBLH). Los pulsos fueron identificados mediante el programa Pulsar, el cual fue calibrado con los valores G siguientes: G1= 99; G2= 2.6; G3= 1.92; G4=1.46; y G5= 1.13. Además se usaron cinco iteraciones, un “smoothing time” de 180 minutos y se incluyeron los parámetros cuadrático, lineal y constante ( $SD [y] = b_0 6.64 + b_1 -0.12 + b_2 0.003$ ) estimados en función de la desviación estándar del ensayo, de acuerdo a la concentración de la hormona.

### 3.5. Análisis estadístico

El IMC promedio de cada animal durante la transición hacia el periodo anovulatorio y en la salida de éste, fue considerado como variable de respuesta e incluido en el análisis estadístico. En todos los casos el análisis se llevó a cabo mediante análisis de varianza utilizando el paquete estadístico del SAS (2006). Para las variables IMC, FAO, FAOR, RAO, RAOR y ANOV, se empleó un diseño completamente al azar con IMC y CA como efectos principales en un arreglo factorial completo 2 x 2. En la FPLH, CMLH y CBLH, se aplicó un diseño de parcelas divididas en donde se incluyó al IMC y el CA como efectos de parcela grande, y el periodo de muestreo (PER) como efecto de parcela pequeña en un arreglo factorial completo. Los datos de la FPLH fueron transformados (raíz de  $y + 0.5$ ) para su análisis (Little y Hills, 1976). En el FAT y DFM, se usó un diseño completamente al azar con observaciones repetidas, donde el IMC y CA se incluyeron como efectos entre unidades experimentales y periodo de monitoreo (PER) como efecto dentro de unidades experimentales. Si en cualquiera de los periodos experimentales, algún animal dejó de ajustarse a los criterios de asignación a los grupos de IMC, sus datos no fueron incluidos en los análisis.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Actividad ovulatoria y desarrollo folicular

a) Durante la transición hacia la época anovulatoria.

En el grupo de cabras utilizadas para determinar la actividad ovulatoria y desarrollo folicular, la variable de respuesta IMC promedio sólo fue influenciada por efecto de grupo de IMC ( $P < 0.01$ ), pero no por el CA o por la interacción IMC x CA ( $P > 0.1$ ). Los resultados pueden observarse en el CUADRO 1, los cuales indican que la condición de restricción temporal en el consumo de alimento de los subgrupos correspondientes no afectó su IMC. En cuanto a las variables reproductivas evaluadas, la finalización de la actividad ovulatoria (FAO) no fue afectada por ninguno de los factores principales (IMC y CA) o por su interacción ( $P > 0.1$ ). Por otra parte la finalización de la actividad ovulatoria regular (FAOR) tampoco fue influenciada por el IMC o la interacción IMC x CA ( $P > 0.1$ ), pero si se encontraron diferencias estadísticas ( $P < 0.05$ ) por efecto del consumo de alimento. El grupo de cabras SRCA presentó una finalización de la actividad ovulatoria regular más tardía que el grupo CRCA (CUADRO 1).

**Cuadro 1.** Índice de masa corporal promedio (IMC), finalización de la actividad ovulatoria (FAO) y finalización de la actividad ovulatoria regular (FAOR) durante la transición hacia la época anovulatoria.

Variable de respuesta	Efectos principales			
	Índice de masa corporal		Consumo de alimento	
	IMCA	IMCB	SRCA	CRCA
IMC Puntos	11.3 ± 0.18 <sup>a</sup> (n=15)	8.7 ± 0.16 <sup>b</sup> (n=13)	10.0 ± 0.16 (n=15)	10.1 ± 0.18 (n=13)
FAO Días	53.6 ± 5.5 22/Feb (n=11)	58.2 ± 4.8 27/Feb (n=13)	60.9 ± 4.7 1/Mar (n=14)	51.0 ± 5.6 20/Feb (n=10)
FAOR Días	49.3 ± 5.1 18/Feb (n=11)	57.3 ± 4.7 26/Feb (n=12)	60.9 ± 4.3 <sup>c</sup> 1/Mar (n=14)	45.7 ± 5.4 <sup>d</sup> 14/Feb (n= 9)

Grupos con IMC alto (IMCA) o bajo (IMCB) y sin (SRCA) o con (CRCA) restricción temporal en el consumo de alimento. Datos presentados como medias ± el error estándar. Diferente literal entre columnas por efecto principal indica diferencias estadísticas (a b:  $P < 0.01$ ; c d:  $P < 0.05$ ). Interacción IMC x CA,  $P > 0.1$ .

En cuanto al desarrollo folicular, el diámetro del folículo mayor (DFM) fue afectado por el periodo de evaluación (PER;  $P < 0.01$ ), el IMC ( $P < 0.05$ ) y la interacción entre el IMC x PER ( $P < 0.01$ ). En el primer caso, el DFM disminuyó en cada periodo de evaluación ( $3.72 \pm 0.2^a$ ,  $2.72 \pm 0.1^b$  y  $2.29 \pm 0.04^c$  mm para el PER 1, 2 y 3). El grupo de cabras con IMCA presentó mayor DFM que el grupo con IMCB ( $3.19 \pm 0.16$  vs  $2.63 \pm 0.16$  mm). En la interacción, el DFM disminuyó a través de todos los periodos para ambos grupos de IMC; sin embargo en el PER 1 el grupo de cabras con IMCA presentó un mayor tamaño del DFM que el grupo IMCB (CUADRO 2).

**Cuadro 2.** Cambios en el diámetro del folículo mayor (DFM) por efecto de la interacción entre el índice de masa corporal (IMC) y el periodo de evaluación (PER).

GRUPOS	DFM mm		
	PER 1 (14/Feb)	PER 2 (27/Mar)	PER 3 (28/Mar)
IMCA (n=6)	$4.3 \pm 0.26^a$	$2.9 \pm 0.17^a$	$2.2 \pm 0.06^a$
IMCB (n=6)	$3.2 \pm 0.26^b$	$2.5 \pm 0.17^a$	$2.4 \pm 0.06^a$

IMC alto (IMCA) y bajo (IMCB). Datos presentados como medias  $\pm$  el error estándar. Diferente literal entre los grupos de tratamiento por periodo de evaluación indica diferencias estadísticas ( $P < 0.01$ ).

El número total de folículos antrales (FAT) fue influenciado por el periodo de evaluación ( $P < 0.01$ ) y la interacción CA x PER ( $P < 0.01$ ), además de que se observó una tendencia de efecto por IMC ( $P = 0.1$ ). Para el efecto de periodo, el FAT disminuyó a través de cada periodo de evaluación ( $13.25 \pm 1.6^a$ ,  $10.83 \pm 0.9^b$  y  $4.4 \pm 0.5^c$  folículos en el PER 1, 2 y 3). En la interacción antes mencionada, durante el PER 1 el grupo de cabras CRCA presentó un mayor número total de folículos antrales respecto al grupo SRCA; sin embargo, esta misma variable se comportó de manera similar para ambos tratamientos en los siguientes periodos (PER 2 y 3), en los cuales fue disminuida a medida que se avanzó a la época anovulatoria (CUADRO 3). En el caso de IMC, la tendencia de efecto se mostró como un mayor FAT en el grupo de IMCA comparado con el de IMCB ( $10.9 \pm 1.2$  vs  $8.2 \pm 1.2$  folículos).

**Cuadro 3.** Cambios en el número total de folículos antrales (FAT) por efecto de la interacción entre el consumo de alimento y el periodo de evaluación (PER).

GRUPOS	FAT		
	PER 1 (14/Feb)	PER 2 (7/Mar)	PER 3 (28/Mar)
SRCA (n=6)	10.2 ±1.81 <sup>a</sup>	12.2 ±1.18 <sup>a</sup>	4.7 ±0.63 <sup>a</sup>
CRCA (n=6)	16.3 ±1.81 <sup>b</sup>	9.5 ±1.18 <sup>a</sup>	4.2 ±0.63 <sup>a</sup>

Grupos con (CRCA) y sin (SRCA) restricción temporal en el consumo de alimento. Datos presentados como medias ± el error estándar. Diferente literal entre los grupos de tratamiento por periodo de evaluación indica diferencias estadísticas (P< 0.01).

b) Durante la transición hacia la época reproductiva.

Al igual que en la transición hacia la época anovulatoria y como se puede observar en el CUADRO 4, en esta transición el IMC promedio solamente fue afectado por efecto de grupo de IMC (P< 0.01). Para las variables reproductivas, el reinicio de la actividad ovulatoria regular (RAOR) no fue influenciada por ninguno de los factores de estudio (IMC y CA) o su interacción (P> 0.1). Por otra parte, el reinicio de la actividad ovulatoria (RAO) y la duración del periodo anovulatorio (ANOV) determinada por la diferencia entre FAO y RAO, tampoco fueron afectados por el IMC o la interacción IMC x CA (P> 0.1). En contraste, se encontraron diferencias significativas por efecto del consumo de alimento (P< 0.01); en este caso se observó que el grupo de cabras SRCA mostró un reinicio más temprano de la actividad ovulatoria y consecuentemente presentó una menor duración del periodo anovulatorio que el grupo CRCA (CUADRO 4).

**Cuadro 4.** Índice de masa corporal promedio (IMC), reinicio de la actividad ovulatoria (RAO), reinicio de la actividad ovulatoria regular (RAOR) y duración del periodo anovulatorio (ANOV) durante la transición hacia la época reproductiva.

Variable de respuesta	Efectos principales			
	Índice de masa corporal		Consumo de alimento	
	IMCA	IMCB	SRCA	CRCA
IMC Puntos	12.3 ± 0.22 <sup>a</sup> (n=15)	9.3 ± 0.23 <sup>b</sup> (n=13)	10.9 ± 0.22 (n=15)	10.7 ± 0.23 (n=13)
RAO Días	284.0 ± 4.4 11/Oct (n=14)	284.0 ± 4.8 11/Oct (n=13)	273.5 ± 4.4 <sup>a</sup> 30/Sep (n=14)	294.5 ± 4.8 <sup>b</sup> 21/Oct (n=13)
RAOR Días	285.3 ± 5.4 12/Oct (n=11)	297.5 ± 6.6 24/Oct (n=7)	285.3 ± 5.4 12/Oct (n=11)	297.5 ± 6.6 24/Oct (n=7)
ANOV Días	230.3 ± 7.1 (n=14)	222.9 ± 7.3 (n=12)	211.7 ± 6.7 <sup>a</sup> (n=15)	241.4 ± 7.7 <sup>b</sup> (n=11)

Grupos con IMC alto (IMCA) o bajo (IMCB) y sin (SRCA) o con (CRCA) restricción temporal en el consumo de alimento. Datos presentados como medias ± el error estándar. Diferente literal entre columnas por efecto principal indica diferencias estadísticas (a,b: P < 0.01). Interacción IMC x CA, P > 0.1.

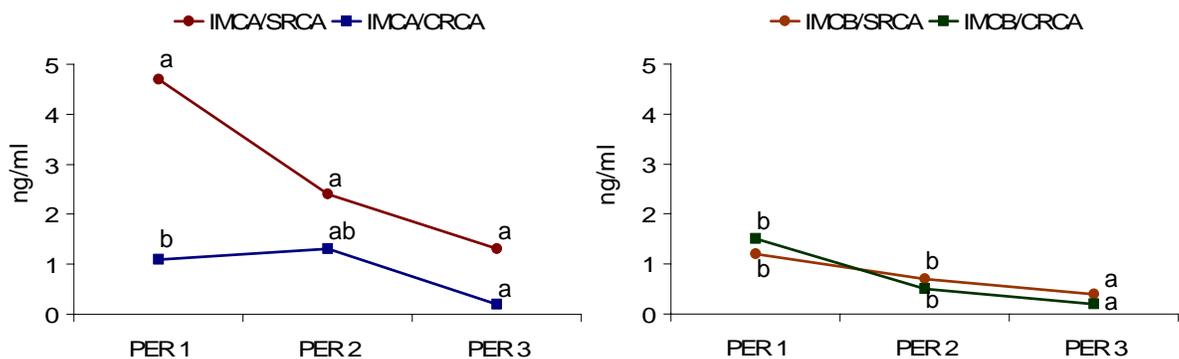
## 4.2. Secreción de LH

a) Transición hacia el periodo anovulatorio.

En las cabras utilizadas para determinar la secreción de LH, el IMC promedio sólo fue diferente entre grupos de IMC ( $11.2 \pm 0.44$  vs  $8.1 \pm 0.36$  para el grupo IMCA vs IMCB; P < 0.01), pero fue similar entre grupos de CA ( $9.6 \pm 0.41$  vs  $9.7 \pm 0.41$  para el grupo SRCA y CRCA; P > 0.1) y en la combinación IMC x CA (P > 0.1; datos no mostrados). La frecuencia de pulsos de LH sólo fue influenciada por el periodo de muestreo (P < 0.01) y por el grupo de índice de masa corporal (P < 0.05). La FPLH disminuyó de manera gradual conforme avanzó el año hacia la primavera ( $2.08^a$ ,  $1.41^{ab}$  y  $0.41^b$  pulsos/ 6 h ± 0.32 para los PER 1, 2 y 3). Por otro lado, el grupo de cabras con IMCA presentó una mayor FPLH que el grupo con IMCB, independientemente del periodo de muestreo ( $2.05$  vs  $0.55$  pulsos/ 6 h ± 0.26).

La concentración media de LH fue influenciada por el periodo de muestreo (P < 0.01) y la interacción entre los factores IMC x CA x PER (P < 0.05). Al igual que la FPLH, la CMLH disminuyó a medida que avanzó el año hacia la primavera ( $2.10^a$ ,  $1.21^b$  y  $0.51^b$  ng/ml ± 0.21 para el PER 1, 2 y 3). En el caso de la interacción entre el IMC x

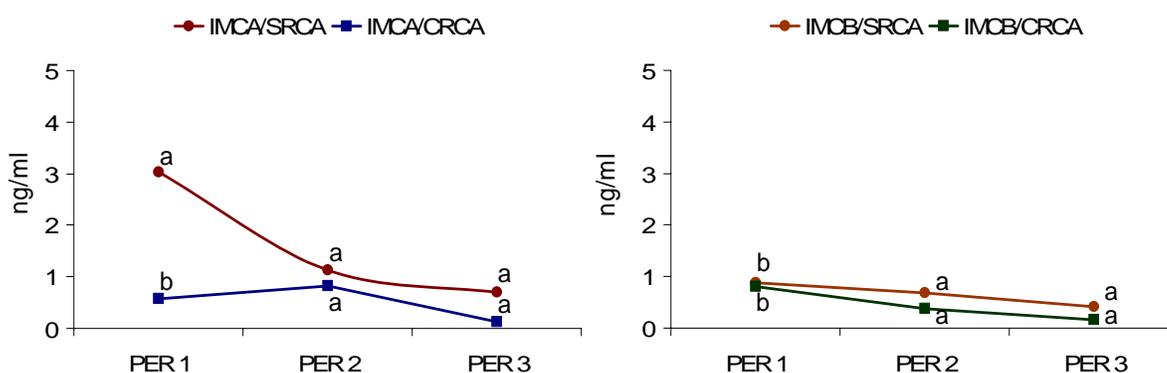
CA x PER (FIGURA 1), se puede observar que en todos los grupos de tratamiento se presentó una disminución de la CMLH a medida que avanzó el año, sin embargo, se aprecia que el perfil de disminución fue diferente en el grupo IMCA/SRCA con respecto a los demás. Al analizar la diferencia de los cuatro tratamientos dentro de cada uno de los periodos de muestreo, se observa que en el primero de estos la CMLH en el grupo IMCA/SRCA fue diferente de los grupos IMCA/CRCA, IMCB/SRCA e IMCB/CRCA; para el PER 2 solamente fue diferente a los dos últimos tratamientos mencionados; sin embargo ya en el PER 3 todos presentaron concentraciones similares.



**Figura 1.** Cambios en la concentración media de LH por efecto de la interacción entre el índice de masa corporal (IMC; alto IMCA, o bajo IMCB), el consumo de alimento (sin SRCA, y con restricción CRCA) y el periodo de muestreo (PER). PER 1, 2 y 3 = 16/Febrero, 9 y 30/Marzo respectivamente. Diferente literal entre los cuatro tratamientos dentro de cada uno de los periodos de muestreo indica diferencias estadísticas ( $P < 0.05$ ; E.E. = 0.43).

La concentración basal de LH fue influenciada por el periodo de muestreo ( $P < 0.01$ ) y la interacción entre los factores IMC x CA x PER ( $P < 0.05$ ). Asimismo, se observó una tendencia por efecto de la interacción entre el CA x PER ( $P = 0.07$ ). La CBLH mostró una disminución conforme se avanzó a la época anovulatoria ( $1.32^a$ ,  $0.76^b$  y  $0.35^b$  ng/ml  $\pm$  0.15 para el PER 1, 2 y 3). El comportamiento de la CBLH a través de los periodos evaluados y por efecto de la triple interacción (IMC x CA x PER; FIGURA 4) fue similar al ocurrido en la variable de respuesta CMLH. En cuanto a la

tendencia de efecto por la interacción CA x PER, se observó que a pesar de que en todos los casos ocurrió una disminución en la CBLH al avanzar los periodos, el perfil de disminución fue diferente entre los grupos SRCA y CRCA. El grupo SRCA vs CRCA presentó valores superiores de CBLH en el PER 1, pero ambos fueron similares en el PER 2 y 3 ( $1.95^a$ ,  $0.91^a$ ,  $0.55^a$  vs  $0.68^b$ ,  $0.60^a$ ,  $0.15^a$  ng/ml  $\pm$  0.21 para los grupos SRCA y CRCA durante los PER 1, 2 y 3).



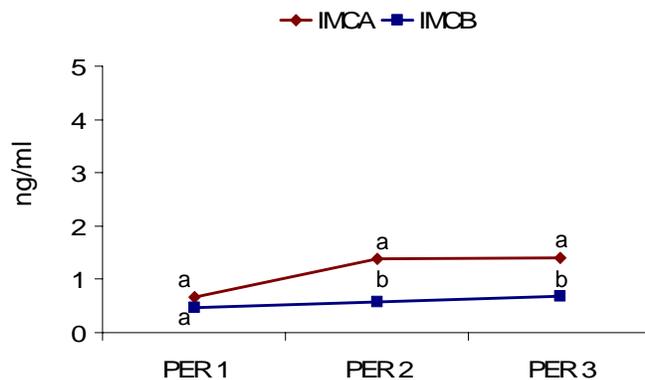
**Figura 2.** Cambios en la concentración basal de LH por efecto de la interacción entre el índice de masa corporal (IMC; alto IMCA, o bajo IMCB), el consumo de alimento (sin SRCA, y con restricción CRCA) y el periodo de muestreo (PER). PER 1, 2 y 3 = 16/Febrero, 9 y 30/Marzo respectivamente. Diferente literal entre los cuatro tratamientos dentro de cada uno de los periodos de muestreo indica diferencias estadísticas ( $P < 0.05$ ; E.E. 0,27).

#### b) Transición hacia la época reproductiva.

Al igual que en la transición hacia la época anovulatoria, en esta transición el IMC promedio solamente fue diferente entre grupos de IMC ( $12.3 \pm 0.46$  vs  $8.6 \pm 0.46$  para el grupo IMCA vs IMCB;  $P < 0.01$ ). Por otro lado, la frecuencia de pulsos de LH fue influenciada por el grupo de índice de masa corporal ( $P < 0.01$ ) y de consumo de alimento ( $P < 0.01$ ). No se encontraron diferencias ( $P > 0.1$ ) por efecto del periodo de muestreo o de las interacciones entre factores principales para esta variable. El grupo de cabras con IMCA presentó mayor FPLH que el grupo con IMCB (3.22 vs 0.88 pulsos/ 6 h). Por su parte, el grupo SRCA también mostró una mayor FPLH respecto al grupo CRCA (2.83 vs 1.27 pulsos/ 6 h).

La concentración media de LH fue influenciada por el periodo de muestreo ( $P < 0.01$ ) y el índice de masa corporal ( $P < 0.01$ ), pero además se observó una tendencia ( $P = 0.06$ ) por efecto del consumo de alimento sobre esta variable. La CMLH se incrementó a medida que avanzó el año hacia el otoño ( $1.01^b$ ,  $1.58^a$  y  $1.87^a$  ng/ml  $\pm 0.26$  para los PER 1, 2 y 3). El grupo de cabras con IMCA presentó mayor CMLH que el grupo con IMCB, independientemente del periodo de muestreo ( $2.10$  vs  $0.87$  ng/ml  $\pm 0.10$ ). En cuanto a la tendencia de efecto por el consumo de alimento, el grupo de cabras SRCA presentó mayor CMLH que el grupo CRCA ( $1.89$  vs  $1.08$  ng/ml  $\pm 0.10$ ).

La concentración basal de LH fue influenciada por el periodo de muestreo ( $P < 0.01$ ), el consumo de alimento ( $P < 0.05$ ) y por la interacción entre el IMC x PER ( $P < 0.01$ ). También se observó una tendencia de efecto por índice de masa corporal ( $P = 0.07$ ). La CBLH incrementó a medida que avanzó el año hacia el otoño ( $0.57^b$ ,  $0.98^a$  y  $1.04^a$  ng/ml  $\pm 0.06$  para los PER 1, 2 y 3). El grupo de cabras SRCA presentó mayor CBLH que el grupo CRCA, independientemente del periodo de muestreo ( $1.18$  vs  $0.55$  ng/ml  $\pm 0.10$ ). En la interacción IMC x PER (FIGURA 3), se observó que en ambos grupos la CBLH aumentó a medida que avanzaron los periodos de muestreo, sin embargo, el grupo de IMCA presentó valores superiores de CBLH dentro de los PER 2 y 3 comparado con el grupo de IMCB. En el caso de la tendencia de efecto por IMC, el grupo de cabras con IMCA presentó mayor CBLH que el grupo con IMCB ( $1.16$  vs  $0.57$  ng/ml  $\pm 0.05$ ).



**Figura 3.** Cambios en la concentración basal de LH por efecto de la interacción entre el índice de masa corporal (IMC; alto IMCA, o bajo IMCB) y el periodo de muestreo (PER). PER 1, 2 y 3 = 24/Agosto, 14/Septiembre y 5/Octubre respectivamente. Diferente literal entre grupos de tratamiento dentro de cada uno de los periodos de muestreo indica diferencias estadísticas ( $P < 0.05$ ; E.E. 0.11).

## V. DISCUSIÓN

El IMC promedio de las hembras caprinas utilizadas para evaluar la actividad ovulatoria durante la transición hacia la época de anovulación y hacia la época reproductiva (CUADROS 1 y 4), así como el observado en las cabras utilizadas para valorar la secreción de LH, indican que sí se logró el paradigma experimental deseado: disociar el efecto de reservas corporales de energía representadas por el IMC, del efecto asociado al consumo diario de alimento (efecto de grupo de IMC pero no de grupo de CA o de la interacción IMC x CA). Lo anterior como parte fundamental de la hipótesis experimental por probar. Por otra parte, los resultados encontrados en cuanto a la actividad ovulatoria, desarrollo folicular y secreción de LH, sustentan solo parcialmente dicha hipótesis, en el sentido de que no hubo un claro efecto de interacción entre los factores principales evaluados (IMC y CA), sino que más bien cada uno de ellos actuó en forma independiente.

Los cambios en la alimentación explicaron una variación de aproximadamente 30 días en la duración del período anovulatorio entre los grupos que fueron sometidos o no a restricción temporal en el consumo de alimento (CUADRO 4). Sin embargo, esta magnitud de tiempo es relativamente pequeña si se compara con la amplitud de la diferencia en duración del anestro estacional según lo encontrado por diferentes autores en cabras criollas en nuestro medio; de 2 a 6 meses (Gutiérrez, 1979; Vega *et al.*, 1983; Valencia *et al.*, 1990; Monroy *et al.*, 1991; Esquivel *et al.*, 1992; Flores *et al.*, 1996). Lo anterior pone de manifiesto que además del fotoperiodo y el estado nutricional, otros factores también pueden actuar para regular o modular la duración del periodo anovulatorio. Con respecto a ello, se ha observado que el reinicio de la actividad reproductiva, también puede ser influenciado por efecto de la temperatura ambiental (Esquivel *et al.*, 1992) y (o) la precipitación pluvial (Silva, 1995), actuando cada uno de manera independiente. Por otro lado, se ha sugerido que las señales socio-sexuales emitidas por el macho o por las mismas hembras, pueden tener una fuerte influencia sobre la expresión del anestro estacional (Martin *et al.*, 2004). La presencia constante del macho en el rebaño no evita la manifestación del anestro

estacional, sin embargo, prolonga la duración de la época reproductiva (Silva *et al.*, 1998). Así mismo, la actividad reproductiva puede ser inducida por la introducción de machos sexualmente activos (Flores *et al.*, 2000) o por hembras en estro (tratadas con estradiol; Restall *et al.*, 1995) durante la época de anestro. Independientemente de lo anterior, cabe mencionar que en el presente estudio se evaluó en forma aislada el efecto de la nutrición, por lo menos en lo que se refiere a las señales socio-sexuales emitidas por el macho.

Como ya se mencionó, la condición asociada a la restricción intermitente en el consumo de alimento, fue la que ocasionó que el periodo anovulatorio se ampliara por 30 días. El efecto del estado nutricional sobre la duración del periodo anovulatorio en hembras caprinas, hasta donde es conocimiento del autor, sólo ha sido publicado en cabras Payoya, una raza nativa de España (Zarazaga *et al.*, 2005). Ésta raza había sido caracterizada como no estacional en base a la distribución de partos en el año (González *et al.*, 2002), sin embargo, en el estudio de Zarazaga *et al.* (2005) se encontró que de acuerdo a las concentraciones séricas de progesterona durante el año, como evidencia de la actividad ovulatoria, las hembras de esta raza pueden presentar un periodo anovulatorio de alrededor de seis meses. Por otra parte, los autores antes citados observaron que el incremento del 50% en el aporte de nutrientes con respecto a los requerimientos nutricionales para mantenimiento, provocó una reducción de 33 días en la duración de dicho periodo. En otros estudios con ovejas Pelibuey (Carrillo, 2005) y de la raza Aragonesa (Forcada *et al.*, 1992; Rondon *et al.*, 1996), caracterizadas ambas como poco estacionales, se ha informado que un mayor nivel de condición corporal *per se* reduce alrededor de 50 días la duración de los periodos anovulatorio y de anestro respectivamente.

El efecto de la restricción temporal en el consumo de alimento sobre la duración del período anovulatorio observado en el presente estudio, puede ser explicado por los cambios en actividad ovulatoria durante las transiciones hacia el periodo anovulatorio y hacia la época reproductiva. En el primer caso, el grupo de cabras sometidas a la

restricción en el consumo de alimento finalizó 9 días antes la actividad ovulatoria y en el segundo retrasó por 21 días el reinicio de esta actividad (CUADROS 1 y 4). Si se considera el tiempo a finalización y reinicio de la actividad ovulatoria regular, al entrar o salir de la época anovulatoria, se obtiene a su vez un escenario similar; 27.4 días más de duración del periodo con ausencia de actividad ovulatoria regular en las cabras restringidas intermitentemente en el consumo de alimento (15.2 días a la entrada y 12.2 días a la salida de la época anovulatoria). En el estudio con cabras Payoya mencionado previamente, la sobrealimentación tuvo un efecto inverso, con un retraso en el inicio del periodo anovulatorio y reinicio más temprano de la época reproductiva, en ambos casos de pequeña magnitud (alrededor de 15 días; Zarazaga *et al.*, 2005). Para el caso de los estudios en ovejas poco estacionales (Forcada *et al.*, 1992; Rondon *et al.*, 1996; Carrillo, 2005), la reducción en la duración del periodo anovulatorio fue el resultado principalmente de que la finalización de la actividad ovulatoria se presentó más tardíamente en el grupo de animales con mejor condición corporal.

Los resultados anteriores sugieren que tanto en las cabras criollas como en ovejas poco estacionales, la duración del periodo anovulatorio puede ser reducida o incrementada debido al efecto del estado nutricional del individuo sobre la actividad ovulatoria durante los periodos de transición. Sin embargo, es importante resaltar que el comportamiento reproductivo en cuanto a la actividad ovulatoria y duración del periodo anovulatorio, parece responder de manera diferente entre especies al efecto de las reservas corporales de energía y del consumo de alimento. En la especie caprina, las señales asociadas al consumo de alimento (incremento o restricción temporal) parecen ser de mayor importancia y por el contrario, en las ovejas de razas poco estacionales como Pelibuey y Aragonesa las señales derivadas de la condición de reservas corporales de energía (condición corporal) parecen ser las determinantes. Esta diferencia podría ser artificial y quizá más bien debida a que en los estudios en ovejas antes citados, no se disociaron los efectos de reservas corporales de energía y de consumo de alimento. Sin embargo, cuando Archer *et al.*

(2002) disociaron el efecto de los citados componentes en borregos cara negra durante la época reproductiva, la secreción de LH fue influenciada por los cambios en el consumo de alimento y no por las reservas corporales de energía. No obstante, en los estudios de Carrillo (2005) y Forcada *et al.* (1992) se cubrieron los requerimientos nutricionales para mantener constante el peso y condición corporal de las ovejas de acuerdo al grupo de condición corporal correspondiente, así que no hubo fluctuaciones importantes en el consumo de alimento. Es posible entonces que la especie caprina haya desarrollado una estrategia reproductiva que le permita responder en mayor grado a los cambios agudos en la cantidad de alimento consumido, ya que ésta especie se ha desarrollado principalmente en regiones áridas o semiáridas, en donde la disponibilidad de alimento es muy errática (Silanikove, 2000). Sin embargo, tanto en ovejas como en cabras no existen otros estudios en donde se haya tratado de disociar a los componentes del estado nutricional energético para determinar su efecto, independiente o interactivo, sobre la actividad ovulatoria en los periodos de transición para entrada y salida del periodo anovulatorio.

Los resultados obtenidos en cuanto a la actividad ovulatoria en el presente estudio, pueden ser explicados en gran parte por el patrón de secreción de LH observado. Durante la transición hacia el periodo anovulatorio, la condición de restricción temporal en el consumo de alimento no afectó la frecuencia de pulsos de LH, pero interactuó con el estado de reservas corporales de energía y el periodo de muestreo reduciendo la concentración media y basal de LH (FIGURAS 1 y 2). Lo anterior, pudo haber ocasionado el cese prematuro de la actividad ovulatoria regular aunque no el cese total de ovulaciones (CUADRO 1). En la transición hacia la actividad reproductiva, la condición de restricción en el consumo de alimento disminuyó tanto la frecuencia de pulsos como la concentración media y basal de LH, situación que pudo ser responsable del retraso en el reinicio de la actividad ovulatoria (CUADRO 4). Con respecto a ello, se ha observado que la actividad ovulatoria puede ser suprimida por la restricción alimenticia, como consecuencia de su efecto de

disminución en la frecuencia de secreción y concentración media de LH (Bossis *et al.*, 1999), efecto que puede ser revertido por la realimentación (Imakawa *et al.*, 1986; Bossis *et al.*, 2000).

En cuanto al desarrollo folicular, éste solamente fue evaluado durante la transición hacia la época de anestro, debido a que era muy difícil predecir el momento de reinicio de la época reproductiva para valorar el desarrollo folicular previo a ésta. El número total de folículos antrales así como el diámetro del folículo mayor disminuyeron conforme los animales se acercaban al periodo anovulatorio. De manera similar, Bartlewski *et al.* (1998, 2000) trabajando con ovejas observaron un menor número y tamaño de los folículos antrales durante el inicio del anestro estacional. Estos resultados pueden ser explicados por la reducción en la secreción de LH, la cual juega un papel determinante en la maduración final de los folículos, pero además, por la posible disminución en la sensibilidad ovárica a ésta hormona durante el inicio del periodo anovulatorio (Bartlewski *et al.*, 1999, 2000).

En el contexto nutricional, el diámetro del folículo mayor se incrementó cuando los animales presentaron un índice de masa corporal alto, indicativo de altas reservas corporales de energía (CUADRO 2), particularmente durante el periodo de evaluación ultrasonográfica coincidente con el inicio de la transición hacia el periodo anovulatorio. Rhind y McNeilly (1986), observaron que las ovejas con mejor condición corporal presentaron folículos antrales más grandes durante el ciclo estral comparadas con las de mala condición y que el tamaño folicular no fue influenciado por el incremento en el consumo de alimento (Rhind y McNeilly, 1998). Asimismo, la pérdida de peso corporal de entre el 10 y 40% en cabras (Tanaka *et al.*, 2003) y de alrededor del 20% en vacas (Bossis *et al.*, 1999) inducida por una restricción alimenticia prolongada, ocasionaron la reducción del diámetro folicular. Los resultados del presente estudio, sugieren que durante el inicio de la transición hacia el periodo anovulatorio en la cabra criolla, el componente de reservas corporales de energía ejerce una fuerte influencia sobre el diámetro del folículo mayor. Con

respecto a ello, se ha sugerido que la glucosa, insulina, IGF-I y la leptina, pudieran funcionar como los principales señalizadores y (o) reguladores del efecto de la nutrición sobre el desarrollo folicular (Scaramuzzi *et al.*, 2006). Estos señalizadores metabólicos son encontrados en mayor concentración en los animales con altas reservas corporales de energía (Marie *et al.*, 2001; Henry *et al.*, 2004), lo cual permite pensar que algunos o varios de ellos pudieran ser los responsables de los resultados obtenidos en el presente estudio.

Algunos estudios han sustentado la participación de los señalizadores indicados anteriormente, en los cuales se ha observado que la infusión de insulina en vacas, incrementa el diámetro del folículo dominante (Simpson *et al.*, 1994) y éste a su vez se ha asociado de manera positiva con la concentración intrafolicular de IGF-1 (Spicer *et al.*, 1988). Asimismo, se sabe que las hormonas antes citadas actúan en sinergismo con la FSH estimulando la proliferación de las células de la granulosa (Gong *et al.*, 1993) e incrementando la sensibilidad a LH (Cosgrove *et al.*, 1992). Recientemente, se encontró que la leptina puede promover el desarrollo folicular a través de la regulación del sistema IGF y la reducción en la esteroidogénesis, lo que a su vez puede favorecer el incremento en las concentraciones sanguíneas de FSH (Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2005). Por otra parte, la presencia de transportadores de glucosa dependientes de insulina en las células de la granulosa y teca en ovejas (Williams *et al.*, 2001), sugiere que el efecto de insulina y glucosa sobre el desarrollo folicular puede estar asociado a la mayor absorción de glucosa en las células foliculares (Williams *et al.*, 2001; Scaramuzzi *et al.*, 2006), lo que pudiera involucrar un mecanismo sensor de energía intracelular y a la vía sintética de la hexosamina como señalizador metabólico (Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2002).

También se observó una interacción entre el periodo de muestreo y el consumo de alimento sobre el número total de folículos antrales, el cual fue mayor en el grupo con restricción temporal en el consumo de alimento en comparación de las alimentadas al 100%, pero sólo durante el primero de los tres periodos de evaluación. Cabe la

posibilidad de que este hallazgo sea consecuencia de un mayor número de folículos reclutados en los animales restringidos. En relación a ello, se ha observado que durante el período de transición hacia la época anovulatoria, la concentración sanguínea de estradiol es muy baja debido a la disminución en la secreción de LH (Bartlewski *et al.*, 1999). Lo anterior puede ocasionar un incremento en la concentración de FSH (Bartlewski *et al.*, 2000), como se ha observado en vacas sometidas a restricción nutricional (Rhodes *et al.*, 1996; Mackey *et al.*, 2000). Considerando lo anterior, es posible que la mayor cantidad de folículos antrales encontrada en el grupo restringido en consumo de alimento, haya sido consecuencia de un mayor reclutamiento asociado a la disminución de la retroalimentación negativa sobre FSH y aumento de su concentración circulante. En apoyo a lo anterior, es importante señalar que el primer periodo de evaluación ultrasonográfica se realizó el 14 de febrero, fecha que coincidió con la finalización de la actividad ovulatoria regular (CUADRO 1) y disminución en la concentración media y basal de LH (FIGURAS 1 y 2) en el grupo de cabras sujetas a restricción alimenticia.

Por otra parte, el mayor número de folículos antrales en las cabras restringidas pudiera también estar asociado a un menor desarrollo del folículo dominante, el cual se sabe que disminuye su desarrollo y persistencia por efecto de la condición de restricción nutricional (Mackey *et al.*, 2000). Se ha observado que el retiro del folículo dominante del ovario ocasiona el rápido descenso en la concentración de inhibina y estradiol e incrementa la concentración de FSH. Esta condición a su vez, puede permitir el reclutamiento de una nueva oleada de desarrollo folicular y consecuentemente, la presencia de un número mayor de folículos antrales (Evans *et al.*, 2002), lo cual no necesariamente puede reflejarse en un incremento en la tasa de ovulación. Finalmente, se ha publicado que el aumento en la secreción de FSH observado durante la transición a la época anovulatoria, posiblemente debido a la concentración disminuida de estradiol en este periodo, es regularizado días después (Bartlewsky *et al.*, 1999). Lo anterior puede explicar que en los siguientes períodos

de evaluación, ambos grupos de cabras (CRCA y SRCA) presentaron un similar número de total de folículos antrales.

En cuanto a la secreción de LH, como se ha observado en otros estudios (Martin *et al.*, 1983; Legan y Karsch, 1983), la concentración circulante de ésta hormona disminuyó durante la transición hacia el periodo anovulatorio y se incrementó en la salida de éste (FIGURAS 1, 2 y 3). Se ha discutido ampliamente que lo anterior es consecuencia del incremento y disminución en la sensibilidad a la retroalimentación negativa de los estrógenos a nivel del hipotálamo. También se han encontrado evidencias de que los cambios anuales en la secreción de LH dependen de un ritmo endógeno reproductivo anual, el cual es sincronizado por el fotoperiodo (Martin *et al.*, 1983; Legan y Karsch, 1983; Malpaux *et al.*, 1989; Lehman *et al.*, 1997; Thiery *et al.*, 2002; Rosa y Bryant, 2003).

Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que la secreción de LH en los periodos de transición puede ser modulada por el estado nutricional energético del animal. Durante la entrada al período anovulatorio, las cabras con altas reservas corporales de energía (IMCA) presentaron mayor frecuencia de pulsos de LH, sin embargo, esta condición nutricional no evitó que la concentración media y basal de esta hormona fuera disminuida por efecto de la restricción temporal en el consumo de alimento (IMCA/CRCA; FIGURAS 1 y 2). En contraste, durante el reinicio de la actividad reproductiva el IMC y el CA influenciaron la frecuencia de pulsos y concentraciones media y basal de LH, independientemente uno del otro y en magnitudes similares. De esa manera, el grupo de cabras con altas reservas corporales de energía presentó mayor frecuencia de pulsos y concentración plasmática de LH, independientemente de si fueron o no restringidas en el consumo de alimento. Por su parte el grupo de cabras no restringidas presentaron mayor frecuencia de pulsos y concentración plasmática de LH independientemente de su IMC.

En algunos estudios en ovejas se ha observado que los animales con buena condición corporal vs mala, pueden presentar mayor secreción de LH tanto en la transición de salida del periodo anovulatorio (Snyder *et al.*, 1999) como en plena época reproductiva (Rhind *et al.*, 1991; Henry *et al.*, 2004). Sin embargo, los estudios en donde la secreción de LH es disminuida debido a una breve restricción nutricional, aún en individuos con altas reservas corporales de energía, han sido encontrados sólo en especies no rumiantes, pero no en rumiantes (Schreihofner *et al.*, 1993; Cameron, 1996). La generalidad de las publicaciones en estas últimas especies indica que una disminución en la secreción de LH es provocada en circunstancias de un marcado estrés nutricional. En este sentido, se ha demostrado que solamente una prolongada restricción alimenticia en vacas (Imakawa *et al.*, 1986) y cabras (Tanaka *et al.*, 2004), con pérdidas de alrededor del 20% del peso vivo, puede disminuir la secreción de esta hormona. También existen estudios en donde el ayuno por 32 horas en ovejas (Henry *et al.*, 2004) o cinco días en vacas (Ramos *et al.*, 2003) no ocasionó ningún efecto sobre la secreción de LH. Por otra parte, la secreción de esta hormona solamente se disminuyó en cabras (Tanaka *et al.*, 2002) y ovejas (Chiliard *et al.*, 1998) con bajas reservas corporales de energía, después de que fueron ayunadas por tres días o restringidas crónicamente en 40% de sus requerimientos de energía.

No obstante, se ha observado que en borregos (Nagatani *et al.*, 2000) y vaquillas (Amstalden *et al.*, 2000) en crecimiento, el ayuno por 32 y 48 h respectivamente si puede disminuir la secreción de LH. Al parecer en los rumiantes, durante esta etapa el eje hipotálamo-hipófisis es muy sensible a los cambios agudos en el estado metabólico energético, tal vez ocasionado por una baja disponibilidad en las reservas de energía debido a que es utilizada en el desarrollo somático. Sin embargo éste escenario difiere del de las cabras del presente estudio, donde se utilizaron animales adultos.

Es posible que durante los periodos de transición en la cabra criolla, el sistema neuronal regulador de la secreción de LH, sea más sensible a las señales asociadas al consumo diario de alimento, aunque también responda a las relacionadas con las reservas corporales de energía. Como ya se mencionó, la especie caprina se ha desarrollado principalmente en regiones áridas o semiáridas en donde la disponibilidad de alimento no es constante (Silanikove, 2000). En este sentido, se ha propuesto que la habilidad del eje hipotálamo-hipófisis para responder rápidamente a los cambios en la alimentación (incremento o deficiencia), puede ser una estrategia para la sobrevivencia y perpetuación de las especies (Cameron, 1996).

Cabe señalar que algunas razas de ovejas localizadas en regiones donde la disponibilidad de alimento es muy fluctuante, han desarrollado estrategias reproductivas de tipo oportunista, de tal manera que la actividad reproductiva de éstas es inducida rápidamente por incrementos en el consumo de alimento aún durante la época de anestro, lo cual indica que en este caso, el efecto nutricional puede imponerse al del fotoperiodo (Martin *et al.*, 2002). Por otra parte, los resultados de estudios recientes en borregos, evidencian que a nivel hipotalámico se puede hacer una interpretación diferencial de las señales provenientes de las reservas corporales de energía y del consumo de alimento, lo que causa una respuesta diferencial a estos dos grupos de señales (Archer *et al.*, 2002). Al parecer, el sistema hipotalámico de neuronas endocrinas GnRH puede responder en mayor grado a las señales generadas por los cambios agudos en el consumo de alimento (Archer *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2005), los cuales pueden estar reflejando la situación energética actualizada del individuo (Altmann *et al.*, 2006).

En las cabras, es posible que durante ambos periodos de transición la condición de restricción temporal en el consumo de alimento logre intensificar el efecto de retroalimentación negativa de los estrógenos sobre la secreción de GnRH/LH, el cual en principio se ve incrementado por el ritmo endógeno reproductivo anual. Al final, este efecto podría reflejarse en la expresión de la actividad ovulatoria

correspondiente, adelantando o retrasando la entrada y salida del periodo anovulatorio. En relación a ello, se ha demostrado que una alimentación subóptima ocasiona un aumento en la sensibilidad a la retroalimentación negativa de los estrógenos (Imakawa *et al.*, 1986; Beckett *et al.*, 1997), situación que ocurre de manera inversa bajo adecuada nutrición o sobrealimentación (Rhind *et al.*, 1991).

Sin embargo, si la secreción de LH también es afectada por un bajo estado de reservas corporales de energía como ocurrió en el presente estudio, una pregunta es ¿Porqué este efecto no se vio reflejado en la actividad ovulatoria? Estos resultados sugieren que la expresión de la actividad ovulatoria podría estar siendo regulada en parte a nivel ovárico. Aunque en el presente estudio se evaluaron algunas respuestas relacionadas con el efecto del estado nutricional energético sobre el desarrollo folicular, el diseño empleado no permite responder a la interrogante planteada. Es posible que el mecanismo de regulación de la actividad ovulatoria, involucre a la expresión de receptores para gonadotropinas en células foliculares y/o a la expresión de receptores para los principales señalizadores del estado nutricional energético (glucosa, insulina, IGF-1 y leptina) en estas mismas células. La posibilidad de la participación de dichos señalizadores, a su vez la sugiere el hecho de que su concentración circulante puede estar disminuida tanto en animales con bajas reservas de energía como en los sometidos a restricción en el consumo de alimento (Marie *et al.*, 2001; Archer *et al.*, 2002; Henry *et al.*, 2004).

Por otro lado, la disminución de la secreción de LH en las cabras restringidas de manera temporal en el consumo de alimento y (o) con bajas reservas de energía, pudo involucrar a una disminución en las concentraciones circulantes de glucosa, insulina y (o) leptina. Aunque éstas no fueron determinadas en el presente estudio, se ha demostrado que cualquiera de las mencionadas condiciones nutricionales puede ocasionar reducción en las concentraciones sanguíneas de dicho metabolito y hormonas metabólicas (Marie *et al.*, 2001; Archer *et al.*, 2002; Henry *et al.*, 2004). Se ha sugerido que tanto la glucosa como insulina y leptina, son determinantes

importantes en la regulación de la secreción de GnRH/LH (Blache *et al.*, 2000, 2006). Con respecto a ello, se ha observado que la administración de un antagonista competitivo de la glucosa suprime la secreción de LH en ovejas (Ohkura *et al.*, 2000) y que la infusión de insulina a nivel central incrementa la secreción de LH en ovejas diabéticas (Tanaka *et al.*, 2000). Así mismo, la aplicación intracerebroventricular de leptina previene la disminución en secreción de LH ocasionada por el ayuno de 78 h en borregos (Nagatani *et al.*, 2000) y en ovejas restringidas en el consumo de alimento, la infusión i.v. de solución glucosada indujo un aumento en la concentración sanguínea de glucosa, insulina y leptina al mismo tiempo que de LH, lo cual fue asociado con el incremento en la expresión del ARNm para proopiomelanocortina (POMC) y la reducción del ARNm para neuropéptido Y (NPY) y péptido relacionado a agutí (AGRP) en el núcleo arcuato hipotalámico (Archer *et al.*, 2005). Estos neurotransmisores han sido implicados en la regulación de la secreción de GnRH, la cual puede ser estimulada por POMC e inhibida por el NPY y AGRP (Schneider, 2004; Blache *et al.*, 2006). Así mismo, vías neurales que utilizan hormona liberadora de corticotropina como neuromediador podrían estar involucradas, pues su tono de actividad es influenciado por señales provenientes del área postrema la cual se ha sugerido que actúa como un sensor de la disponibilidad de glucosa sanguínea, que a su vez es modulado por las concentraciones circulantes de insulina y leptina (Schneider, 2004; Wade y Jones, 2004).

## **VI. CONCLUSIONES**

En la cabra criolla la duración del periodo anovulatorio es modulada por el estado nutricional energético del animal.

De los componentes del estado nutricional energético, el asociado al consumo de alimento presenta un efecto determinante, en donde la restricción temporal en el consumo diario de alimento afecta la actividad ovulatoria tanto en la transición hacia la época reproductiva como hacia la época anovulatoria y por consecuencia provoca el incremento de la duración del periodo anovulatorio.

Durante ambos periodos de transición, la secreción de LH es modulada por los dos componentes del estado nutricional energético, sin embargo en la transición a la época anovulatoria, el efecto de la restricción temporal en el consumo diario de alimento, puede imponerse disminuyendo la secreción de esta hormona, aún en animales con altas reservas corporales de energía.

En la transición a la época anovulatoria, las altas reservas corporales de energía inducen mayor desarrollo folicular, mientras que la restricción temporal en el consumo diario de alimento incrementa temporalmente el número de folículos antrales totales ( $\geq 2$  mm).

## VII. LITERATURA CITADA

- Abecia, J.A., Forcada, F., Zarazaga, L., and Lozano, J.M., 1993. Effect of plane of protein after weaning on resumption of reproductive activity in Raza Aragonesa ewes lambing in late spring. *Theriogenology*. 39:463-473.
- Adams, G.P., Matteri, R.L., Kastelic, J.P., Ko, J.C.H., Ginther, O.J., 1992. Association between surges of follicle stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 94:177-188.
- Adam, C.L., Findlay, P.A., Moore, H.A., 1997. Effects of insulin-like growth factors -I on luteinizing hormone secretion in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 50:45-56.
- Adams, G.P., 1999. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 54:17-32.
- Adams, V.L., Goodman, R.L., Salm, A.K., Coolen, L.M., Karsch, F.J., Lehman, M.N., 2006. Morphological plasticity in the neural circuitry responsible for seasonal breeding in the ewe. *Endocrinology*. 147:24-32.
- Advis, J.P., Kulgis, R.O., Dey, G.S., 1985. Distribution of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) content and total LHRH-degrading activity (LHRH-DA) in the hypothalamus of the ewe. *Endocrinology*. 116:2410.
- Alila-Johansson, A., Ericsson, L., Soveri, T., Laakso, M.L., 2001. Seasonal variation in endogenous serum melatonin profiles in goats: A difference between spring and fall? *J. Biological Rhythms*. 16(2):254-263.
- Almog, B., Gold, R., Tajima, K., Dantes, A., Salim, K., Rubinstein, M., Barkan, D., Homburgh, R., Lessing, J.B., Nevo, N., Gentler, A., Amsterdam, A., 2001. Leptin attenuates follicular apoptosis and accelerates the onset of puberty in immature rats. *Mol. Cell. Endocrinol.* 183:179-191.
- Altmann, M., Sauerwein, H., von Borell, E., 2006. The relationships between leptin concentrations and body fat reserves in lambs are reduced by short-term fasting. *J. Anim. Phys. Anim. Nutr.* 90:407-413.
- Amstalden, M., Garcia, M.R., Williams, S.W., Stanko, R.L., Nizielski, S.E., Morrison, C.D., Keisler, D.H., Williams, G.L., 2000. Leptin gene expression, circulating leptin, and luteinizing hormone pulsatility are acutely responsive to short-term fasting in prepubertal heifers: relationship to circulating insulin and insulin-like growth factor - I. *Biol Reprod.* 63:127.

- Anderson, G.M., Connors, J.M., Hardy, S.L., Valent, M., Goodman, R.L., 2001. Oestradiol microimplants in the ventromedial preoptic area inhibit secretion of luteinizing hormone via dopaminergic neurons in anoestrus ewes. *J. Neuroendocrinol.* 13:1051-1058
- Anderson, G.M., Hardy, S.L., Valent, M., Billings, H.J., Connors, J.M., Goodman, R.L., 2003. Evidence that thyroid hormones act in the ventromedial preoptic area and the premammillary region of the brain to allow the termination of the breeding season in the ewe. *Endocrinology.* 147:2892-2901.
- Anderson, L.L., Jeftinija, S., Scanes, C.G., Stromer, M.A., Lee, J.S., Jeftinija, K., Glavaski-Joksimovic, A., 2005. Physiology of ghrelin and related peptides. *Dom. Anim. Endocrinol.* 29:111-144.
- Archer, Z.A., Rhind, S.M., Findlay, P.A., Kyle, C.E., Thomas, L., Marie, M., Adam, C.L., 2002. Contrasting effects of different levels of food intake and adiposity on LH secretion and hypothalamic gene expression in sheep. *J. Endocrinol.* 175:383-393.
- Archer, Z.A., Rhind, S.M., Findlay, P.A., Kyle, C.E., Barber, M.C., Adam, C.L., 2005. Hypothalamic responses to peripheral glucose infusion in food-restricted sheep are influenced by photoperiod. *J. Endocrinol.* 184:515-525.
- Arreguín, A.J.A., Villa, G.A., Montaña, B.M., Villagómez, A.M.E., Román, P.H., Cárdenas L.M. 1995. Interacción de la naloxona con la progesterone y el estradiol, durante el anestro posparto en las vacas cebú. *Tec. Pec. Mex.* Vol. 33. No.2. 53-65.
- Bao, B., Garverick, H.A., Smith, G.W., Smith, M.E., Salfen, B.E., Youngquist, R.S., 1997. Expression of messenger RNA encoding, 3 $\beta$ -hidroxy steroid dehidrogenase /  $\Delta^5 - \Delta^4$  isomerase during recruitment and selection of bovine ovarian follicles: identification of dominant follicles by expression of 3 $\beta$ -HSD mRNA within the granulosa cell layer. *Biol. Reprod.* 56:1466-1473.
- Bao, S.W., Garverick, H.A., 1998. Expression of steroidogenic enzymes and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. *J. Anim. Sci.* 76:1903-1921.
- Barb, A.R., Kraeling, R.R., 2004. Role of leptin in the regulation of gonadotropin secretion in farm animals. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83:155-167.
- Bartlewski, P.M., Vanderpol, J., Beard, A.P., Cook, S.J., Rawlings, N.C., 1998. Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. *J. Reprod. Fertil.* 113:275-85.

- Bartlewski, P.M., Beard, A.P., Rawlings, N.C., 1999. Ovarian function in ewes during the transition from breeding season to anoestrus. *Anim. Reprod. Sci.* 57:51-66.
- Bartlewski, P.M., Vanderpol, J., Beard, A.P., Cook, S.J., Rawlings, N.C., 2000. Ovarian antral follicular dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotropins and ovarian steroids in anoestrous Finnish Landrace ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 15:58(3-4):273-291.
- Beam, S.W., Butler, W.R., 1997. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol. Reprod.* 56:133-142.
- Beam, S.W., Butler, W.R., 1999. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fertil. (Suppl.)* 54:411-424.
- Beckett, J.L., Sakurai, H., Famula, T.R., Adams, T.E., 1997. Negative Feedback potency of estradiol is increased in orchidectomized sheep during chronic nutrient restriction. *Biol. Reprod.* 57:408-414.
- Berne, R.M., Levy, M.N., Koeppen, B.M., Stanton, B.A., 2004. *Physiology*. Fifth edition. 819-839.
- Blache, D., Chagas, L.M., Blackberry, M.A., Vercoe, P.E., Martin, B.G., 2000. Metabolic factors affecting the reproductive axis in male sheep. *J. Reprod. Fertil.* 120:1-11.
- Blache, D., Zhang, S., Martin, G.B., 2006. Dynamic and integrative aspects of the regulation of reproduction by metabolic status in male sheep. *Reprod. Nutr. Dev.* 46:279-390.
- Bossis, I., Wettemann, R.P., Welty, S.D., Vizcarra, J., Spicer, L.J., Diskin, M.G., 1999. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function preceding cessation of ovulation. *J. Anim. Sci.* 77:1536-1546.
- Bossis, I., Wettemann, R.P., Welty, S.D., Vizcarra, J., Spicer, L.J., 2000. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: Ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. *Biol. Reprod.* 62:1436-1444.
- Burcelin, R., Thorens, B., Glauser, M., Gaillard, R.C., Pralong, F.P., 2003. Gonadotropin-releasing hormone secretion from hypothalamic neurons: stimulation by insulin and potentiation by leptin. *Endocrinology.* 144:4484-4491.

- Boukhliq, R., Martin, G.B., 1997. Administration of fatty acids and gonadotrophin secretion in the mature ram. *Anim. Reprod. Sci.* 49:143-159.
- Bousfield, G.R., 1998. LH (Luteinizing hormone). *Encyclopedia of reproduction*. Vol 2. Edited by Knobil E, and Neill JD. Academic Press. 1034-1054p.
- Caldani, M., Batailler, M., Thiery, J.C., Dubois, M.P., 1988. LHRH-immunoreactive structures in the sheep brain. *Histochemistry*. 89:129-139.
- Cameron, J.L., 1996. Regulation of reproductive hormone secretion in primates by short-term changes in nutrition. *Rev. Reprod.* 1:117-126.
- Camp, J.C., Wiltd, D.E., Howard, P.K., Stuart, L.D., Chakraborty, P.K., 1983. Ovarian activity during normal and abnormal length estrous cycles in the goats. *Biol. Reprod.* 28:673-681.
- Campbell, B.K., Scaramuzzi, R.J., Webb, R., 1995. Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. *J. Reprod. Fétil. Suppl.* 49:335-350.
- Campbell, B.K., Telfer, E.E., Webb, R., Baird, D.T., 2000. Ovarian autografts in sheep as a model for studying folliculogenesis. *Mol. Cell. Endocrinol.* 163: 137-139.
- Campbell, B.K., Telfer, E.E., Webb, R., Baird, D.T., 2004. Evidence of a role for follicle-stimulating hormone in controlling the rate of preantral follicle development in sheep. *Endocrinology*. 145:1870-1879.
- Caraty, A., Skinner, D.C., 1999. Dynamics of steroid regulation of GnRH secretion during the oestrus cycle of the ewe. *Ann. Endocrinology*. 60:68-78.
- Carrillo, P.G., Porras, A.A., Heredia, A.M., Velásquez, M.P., Vera, A.H., 2004. Efecto de la condición corporal en la actividad reproductiva de la oveja pelibuey en el trópico. XL Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, Mérida, Yuc.
- Carrillo, P.G., 2005. Efecto de la condición corporal en la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey en el trópico. Tesis: Maestría en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal, UNAM.
- Chemineau, P., Martin, G.B., Saumande, J., Normant, E., 1988. Seasonal and hormonal control of pulsatile LH secretion in the dairy goat (*Capra hircus*). *J. Reprod. Fertil.* 83:91-98.
- Childs, G.V., 1998. Gonadotropes. *Encyclopedia of reproduction*. Vol 2. Edited by Knobil E, and Neill JD. Academic Press. 498-520p.

- Chilliard, Y., Bocquier, F., Doreau, M., 1998. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition and consequences on reproduction. *Reprod. Nutr. Dev.* 38:131-152.
- Chilliard, Y., Delavaud, C., Bonnet, M., 2005. Leptin expression in ruminants: Nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism. *Dom. Anim. Endocrinol.* 29:3-22.
- Clarke, I.J., Horton, R.J.E., Doughton, B.W., 1990. Investigation of the mechanism by which insulin-induced hypoglycemia decreases luteinizing hormone secretion in ovariectomized ewes. *Endocrinology.* 127:1470-1476.
- Clarke, I.J., Henry, B.A., 1999. Leptin and reproduction. *Rev. Reprod.* 4:48-55.
- Clarke, I.J., Pompolo, S., 2005. Synthesis and secretion of GnRH. *Anim. Reprod. Sci.* 88:29-55.
- Confederación Nacional de Organizaciones Ganaderas. 2002. Información Económica Pecuaria No. 11. 31-39 p.
- Core, A.C., Roberts, J.L., 1995. Regulation of gonadotropin-releasing hormone gene expression in the rats during the luteinizing hormone surge. *Endocrinology.* 136: 889-896.
- Cosgrove, J.R., Milton, J.E., Hunter, M.G., Foxcroft, G.R., 1992. Gonadotropin-independent mechanisms participate in ovarian responses to refeeding in feed-restricted prepubertal gilts. *Biol. Reprod.* 47:736-745.
- Cunningham, M.J., Clifton, D.K., Steiner, R.A., 1999. Leptin's Actions on the reproductive axis: Perspectives and mechanisms. *Biol. Reprod.* 60:216-222.
- De Castro, T., Rubianes, E., Menchaca, A. Rivero, A., 1999. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology.* 52:399-411.
- Delgadillo, J.A., Leboeuf, B., Chemineau, P., 1991. Decrease in the seasonality of sexual behaviour and sperm production in bucks by exposure to short photoperiodic cycles. *Theriogenology.* 36:755-770.
- Delgadillo, J. A., Leboeuf, B., Chemineau, P., 1992. Abolition of seasonal variations in semen quality and maintenance of sperm fertilizing ability by short photoperiodic cycles in goat bucks. *Small Rumin. Res.* 9, 47-59.

- Delgadillo, J.A., Canedo, G.A., Chemineau, P., Guillaume, D., Malpoux, B., 1999. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male creole goats in subtropical northern Mexico. *Theriogenology*.52:727-737.
- Delgadillo, J.A., Cortez, M.E., Duarte, G., Chemineau, P., Malpoux, B., 2004. Evidence that the photoperiod controls the annual changes in testosterone secretion, testicular and body weight in subtropical male goats. *Reprod. Nutr. Dev.* 44(3):183-93.
- Delgadillo, J.A., Fitz-Rodriguez, G., Duarte, G., Veliz, F.G., Carrillo, E., Flores, J.A., Vielma, J., Hernandez, H., Malpoux, B., 2004. Management of photoperiod to control caprine reproduction in the subtropics. *Reprod Fertil Dev.* 16(4):471-478.
- DiGregorio, G.B., Nett, T.M., 1995. Estradiol and progesterone influence the synthesis of gonadotropins in the absence of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. *Biol. Reprod.* 53:166-172.
- Diskin, M.G., Mackey, D.R., Roche, J.F., Sreenan, J.M., 2003. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 78:345-370.
- Downing, J.A., Scaramuzzi, R.J., 1991. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 43:209.
- Downing, J.A., Joss, J., Scaramuzzi, R.J., 1995. Ovulation rate and concentrations of gonadotrophins and metabolic hormones in sheep infused with glucose during the late luteal phase of the oestrous cycle. *J. Endocrinol.* 147:403-410.
- Driancourt, M.A., 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farms animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology.* 55:1211-1239.
- Duarte, G., Flores, J.A., Nava, M.P., Delgadillo, J.A., 1999. Is photoperiod involved in timing seasonal reproduction of goats adapted to a subtropical environment? 8<sup>th</sup> Meeting Pineal Society. July 3-7. Tours, France. 31 p.
- Dubois, P., 1993. The hypothalamic-pituitary axis. Embryological, morphological and functional aspects. *Reproduction in Mammals and Man.* Edited by Thibault, M. C. Levasseur, R. H. F. Hunter. Ellipses, Paris.
- Dufour, J.J., Chahill, L.P., Mauleon, P., 1979. Short and long term effects of hypophysectomy and unilateral ovariectomy on ovarian follicular populations in sheep. *J. Reprod. Fertil.* 57:301-309.

- Dunn, T.G., Moss, G.E., 1992. Effects of nutrient deficiencies and excesses on reproductive efficiency of livestock. *J. Anim. Sci.* 70:1580.
- Esquivel, M.H., Torres, A.F., Montes, P.R., 1992. Estacionalidad reproductiva de las cabras bajo condiciones del trópico subhúmedo. Memoria: Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Chihuahua, México. 246 p.
- Evans, A.C.O., Flynn, J.D., Duffy, P., Knight, P.G., Boland, M.P., 2002. Effects of ovarian follicle ablation on FSH, estradiol and inhibin A concentrations and growth of other follicles in sheep. *Reproduction.* 123:59-66.
- Flores, J.A., Duarte, G., Malpaux, B., Delgadillo, J.A., 1996. Variaciones estacionales de la actividad reproductiva de las cabras criollas en la región lagunera. XI Reunión Nacional sobre Caprinocultura. Chapingo, México. 48-52 p.
- Flores, J.A., Véliz, E.G., Pérez-Villanueva, J.A., Martínez de la Escalera, G., Chemineau, P., Poindron, P., Malpaux, B., Delgadillo, J.A., 2000. Male reproductive condition is the limiting factor of efficiency in the male effect during seasonal anestrus in female goats. *Biol. Reprod.* 62:1409-1414.
- Forcada, F., Abecia, J.A., Sierra, I., 1992. Seasonal changes in oestrus activity and ovulation rate in Rasa Aragonesa ewes maintained at two different body condition levels. *Small. Rum. Res.* 8:313-324.
- Forcada, F., Lozano, J.M., Abecia, J.A., Zarazaga, L., 1997. Control of luteinizing hormone secretion in ewes by endogenous opioids and the dopaminergic system during short seasonal anoestrus: role of plane of nutrition. *Anim. Sci.* 65:217-224.
- Forcada, F., Zúñiga, O., Abecia, J.A., 2002. The role of nutrition in the regulation of LH secretion during anestrus by the serotonergic and dopaminergic systems in Mediterranean ewes treated with melatonin. *Theriogenology.* 58:1303.
- Forcada, F., Abecia, J.A., 2006. The effect of nutrition on the seasonality of reproduction in ewes. *Reprod. Nutr. Dev.* 46:355-365.
- Foster, D.L., Nagatini, S., 1999. Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. *Biol. Reprod.* 60:205-215.
- Gallegos-Sanchez, J., Delaleu, B., Caraty, A., Malpaux, B., Thiery, J.C., 1997. Estradiol acts locally within the retroquiasmatic area to inhibit pulsatile luteinizing hormone release in the female sheep during anestrus. *Biol. Reprod.* 56:1544-1549.

- Gallegos, S.J., Pérez, H.P., 2001. Neuroendocrinología del posparto en vacas con becerro. Memorias del 2do. Curso Internacional de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes. Colegio de Posgraduados, 18-19 de Septiembre. 21-36p.
- Galoway, S.M., McNatty, K.P., Cambridge, L.M., Leitinen, M.P.E., Juengel, J.L., Jokiranta, T.S., McLaren, R.S., Luiro, K., Dodds, K.G., Montgomery, G.W., Beattie, A.E., Davis, G.H., Rivito, O., 2000. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP 15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage sensitive manner. *Nature Genetics*. 25:279-283.
- Garverick, H.A., Baxter, G., Gong, J., Armstrong, D.G., Campbell, B.K., Gutierrez, C.G., Webb, R., 2002. Regulation of expression of ovarian mRNA encoding steroidogenic enzymes and gonadotrophin receptor by FSH and GH in hypogonadotrophic cattle. *Reproduction*. 123:651-661.
- Ginther, O.J., Kot, K., 1994. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology*. 42: 987-1001.
- Ginther, O.J., Wiltbank, M.C., Fricke, P.M., Gibbons, J.R., Kot, K., 1996. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod*. 55:1187-1194.
- Gong, J.G., McBride, D., Bramley, T.A., Webb, R., 1993. Effects of recombinant bovine somatotrophin, insulin-like growth factor - I and insulin on the proliferation of bovine granulosa cells *in vitro*. *J. Endocrinol*. 139:67-75.
- González, O., Pastor, J.M., Castel, J.M., Delgado, M., 2002. Características de la cabra Payoya. *El Arca* 5. 151-152.
- Gonzalez-Bulnes, A., Santiago-Moreno, J., Garcia-Garcia, R.M., Souza, C.J.H., Lopez-Sebastian, A., McNelly, A.S., 2004. Effect of GnRH antagonists treatment on gonadotrophin secretion, follicular development and inhibin A secretion in goats. *Theriogenology*. 61:977-985.
- Gore, A.C., Roberts, J.L., 1995. Regulation of gonadotropin-releasing hormone gene expression in the rat during the luteinizing hormone surge. *Endocrinology*. 136:889.
- Greenwald, S.G., Roy, K.S., 1994. Follicular development and its control. *The Physiology of Reproduction*. Second Edition. Chapter 12. E. Knobil and J. D Nelly.
- Grill, H.J., Kaplan, J.M., 2002. The neuroanatomical axis for control of energy balance. *Frontiers Neuroendocrinology*. 20:2-40

- Grill, H.J., Schwartz, M.W., Kaplan, J.M., Breininger, F.J., Baskin, D.G., 2002. Evidence that the caudal brainstem, is a target for the inhibitory effect of leptin on food intake. *Endocrinology*. 143(1):239-246.
- Gross, P.M., Wainman, D.S., Shaver, S.W., Wall, K.M., Ferguson, A.V., 1990. Metabolic activation of efferent pathways from the rat area postrema. *Am. J. Physiol.* 258:R788-R797.
- Gruenewald, D.A., Matsumoto, A.M., 1993. Reduced gonadotropin-releasing hormone gene expression with fasting in the male rat brain. *Endocrinology*. 143:480.
- Gutiérrez, J., 1979. Comportamiento y eficiencia reproductiva en cabras en la región central del estado de Chihuahua. Boletín No. 17. Centro de Investigación y Fomento Pecuario. Facultad de Zootecnia. UACH. Chihuahua, México.
- Gutiérrez, G.C., Oldham, J., Bramley, A.T., Gong, J.G., Campbell, K.B., Webb, R., 1997a. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. *J. Anim. Sci.* 1876-1884.
- Gutiérrez, G.C., Campbell, K.B., Webb, R., 1997b. Development of a long term bovine granulosa cell culture system: Induction and maintenance of estradiol production, response to FSH and morphological characteristics. *Biol. Reprod.* 56:608-616.
- Gutierrez, G.C., Ralph, J.H., Telfer, E.E., Wilmut, I., Webb, R., 2000. Growth and antrum formation of bovine antral follicles in long-term culture in vitro. *Biol. Reprod.* 62:1322-1328.
- Haisenleder, D.J., Dalkin, A.C., Marshall, J.C., 1994. Regulation of gonadotropin gene expression. Chapter 31. *The physiology of reproduction*. Second Edition. Edited by Knobil E, and Neill JD. Raven press, Ltd. New York. 1793-1813p.
- Hardy, S.J., Anderson, G.M., Valent, M., Connors, J.M., Goodman, R.L., 2003. Evidence that estrogen receptor alpha, but not beta, mediates seasonal changes in the response of the ovine retrochiasmatic area to estradiol. *Biol. Reprod.* 68:846-852.
- Hashizume, T., Kumahara, A., Fujino, M., Okada, K., 2002. Insulin-like growth factor I enhances gonadotropin-releasing hormone-stimulated luteinizing hormone release from bovine anterior pituitary cells. *Anim. Reprod. Sci.* 70:13-21.

- Henry, B.A., Goding, J.W., Tilbrook, A.J., Dunshea, F.R., Blache, D., Clarke, I.J., 2004. Leptin-mediated effects of undernutrition or fasting on luteinizing hormone and growth hormone secretion in ovariectomized ewes depend on the duration of metabolic perturbation. *J. Neuroendocrinol.* 16:244-255.
- Herbison, A.E., 1998. Multimodal influence of estrogen upon gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrine Reviews.* 19 (3):302-330.
- Herbison, A.E., Pape, J.R., 2001. New evidence for estrogen receptor in gonadotropin-releasing hormone neurons. *Front. Neuroendocrinology.* 22:292-308.
- Herrera, H.J.G., 1999. Memoria: La cabra criolla en México. Generalidades y Propuesta de un Programa de Selección. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Texcoco, México. 1-15p.
- Hileman, S.M., Kuehl, D.E., Jackson, G.L., 1998. Photoperiod affects the ability of testosterone to alter propiomelanocortin mRNA, but not luteinizing hormone-releasing hormone mRNA, levels in male sheep. *J. Neuroendocrinol.* 10:587-592.
- Honhold, N., Petit, H., Halliwell, R.W., 1991. A condition scoring scheme for the small east African goats in Zimbabwe. *Trop. Anim. Health. Prod.* 21: 121-127.
- Hoyos, F.E.G., 1993. Un modelo de programación lineal para el sistema de producción de pastoreo extensivo en la comarca lagunera. Reporte del Proyecto de Sistemas de Producción Caprino en la Comarca Lagunera y Zacatecas. INIFAP-CIID. Publicación Especial No. 10. 18-26 p.
- Hötzel, M.J., Walkden-Brown, S.W., Fisher, J.S., Martin, G.B., 2003. Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Suffolk sheep: responses to a nutritional stimulus in the breeding and non-breeding seasons. *Reprod. Fertil. Dev.* 15(1-2):1-9.
- Houseknecht, K.L., Portocarrero, C.P., 1998. Leptin and its receptors: regulators of whole-body energy homeostasis. *Dom. Anim. Endocrinol.* 15 (6):457-475.
- Hrabovszky, E., Steinhauser, A., Barabás, K., Shughrue, P.J., Petersen, S.L., Merchenthaler, I., Liposits, Z., 2001. Estrogen receptor- $\beta$  immunoreactivity in luteinizing hormone-releasing hormone neurons of the rat brain. *Endocrinology.* Vol. 142:3261–3264.

- Imakawa, K., Day, M.L., Garcia-Winder, M., Zelesky, D.D., Kittok, R.J., Schanbacher, B.D. Kinder, J.E., 1986. Endocrine changes during restoration of estrous cycles following induction of anestrus by restricted nutrient intake in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 63:565-571.
- Jansen, H.T., Christopher, C., Hardy, S., Lehman, M.N., Goodman, R.L., 2003. Seasonal plasticity within the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) system of the ewe: Changes in identified GnRH inputs and glial association. *Endocrinology.* 144(8):3663-3676.
- Karsh, F.J., Bittman, E.L., Foster, D.L., Goodman, R.L., Legan, S.L., Robinson, J.E., 1984. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent. Prog. Horm. Res.* 40:185-232.
- Kawate, N., Morita, N., Tsuji, M., Tamada, H., Inaba, T., Sawada, T., 2000. Roles of pulsatile release of LH in the development and maintenance of corpus luteum function in the goat. *Theriogenology.* 54:1133-1143.
- Kendall, N.R., Gutierrez, C.G., Scaramuzzi, R.J., Baird, D.T., Webb, R., Campbell, B.K., 2004. Direct *in vivo* effects of leptin on ovarian steroidogenesis in sheep. *Reproduction.* 128:757-765.
- Kierszenbaum, L.A., 1994. Mammalian spermatogenesis *in vitro* and *in vivo*: a partnership of spermatogenic and somatic cell lineages. *Endocrine Reviews.* 15(1):116-134.
- Kirby, C.J., Thatcher, W.W., Collier, R.J., Simmen, F.A., Lucy, M.C., 1996. Effects of growth hormone and pregnancy on expression of growth hormone receptor, insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-2 and -3 genes in bovine uterus, ovary and oviduct. *Biol. Reprod.* 55:996-1002.
- Kiyama, Z., Alexander, B.M., Van Kirk, E.A., Murdoch, W.J., Hallford, D.M., Moss, G.E., 2004. Effects of feed restriction on reproductive and metabolic hormones in ewes. *J. Anim. Sci.* 82:2548-2557.
- Knight, P.G., Glister, C., 2001. Potential local regulatory functions of inhibins, activins and follistatins in the ovary. *Reproduction.* 121: 503-512.
- Landau, S., Molle, G., 1997. Nutrition effects on fertility in small ruminants with an emphasis on Mediterranean sheep breeding systems. En Lindberg J.E. (ed.), Gonda H.L. (ed.), Ledin I. (ed.) *Recent advances in small ruminant nutrition* Zaragoza : CIHEAM-IAMZ, 1997 (Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 34).

- Laws, S.C., Webster, J.C., Miller, W.L., 1990. Estradiol alters the effectiveness of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in ovine pituitary cultures: GnRH receptors versus responsiveness to GnRH. *Endocrinology*. 127:381-386.
- Legan, S.L., Winans, S.S., 1981. The photoneuroendocrine control of seasonal breeding in the ewe. *Gen. Comp. Endocrinol.* 45:317-328.
- Legan, S.J., Karsch, F.J., 1983. Importance of retinal photoreceptors to the photoperiodic control of seasonal breeding in the ewe. *Biol. Reprod.* 29: 316-325.
- Lehman, M.N., Karsch, F.J., 1993. Do gonadotropin-releasing hormone, tyrosine hydroxylase, and  $\beta$ -endorphin-immunoreactive neurons contain estrogen receptors? A double-label immunocytochemical study in Suffolk ewe. *Endocrinology*. 133:887-895.
- Lehman, M.N., Durham, D.M., Jansen, H.T., Adrian, B., Goodman, R.L., 1996. Dopaminergic 14/15 neurons are activated during estradiol negative feedback in anestrous, but not breeding season, ewes. *Endocrinology*. 137(10): 4443-4450.
- Lehman, M.N., Goodman, R.L., Karsch, F.J., Jackson, G.L., Berriman, S.J., Jansen, H.T., 1997. The GnRH system of seasonal breeders: Anatomy and Plasticity. *Brain Research Bulletin*. Vol. 44, No. 4:445-457.
- Leloup, C., Arluison, M., Kassis, N., Lepetit, N., Cartier, N., Ferre, P., Penicaut, L., 1996. Discrete brain areas express the insulin-responsive glucose transporter GLUT4. *Mol. Brain. Res.* 38:45-53.
- Levine, J.E., 2003. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH). *Enciclopedia of hormones*. Eds. Henry HL, and Norman AW. Vol 2. 157-165.
- Leyva-Ocariz, H., Munro, C., Stabenfeldt, G.H., 1995. Serum LH, FSH, estradiol-17 $\beta$  and progesterone profiles of native and crossbred goats in a tropical semiarid zone of Venezuela during the oestrus cycle. *Anim. Reprod. Sci.* 39:49-58.
- Li, R., Norman, R.J., Armstrong, D.T., Gilchrist, R.B., 2000. Oocyte - secreted factor(s) determine functional differences between bovine mural granulosa cells and cumulus cells. *Biol Reprod.* 63:839-845.
- Lincoln, G.A., 1992. Photoperiod-pineal-hypothalamic relay in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 28: 203-217.

- Llewelyn, C.A., Perrie, J., Luckins, A.G., Munro, C.D., 1993. Oestrus in the british white goat: timing of plasma luteinizing hormone surge and changes in behavioural and vaginal traits in relationship to onset of oestrus. *Br. Vet. J.* 149(2):171-182.
- Lubbers, L.S., Greco, B., Hileman, S.M., Schwartz, P.E., Blaustein, B.D., 1999. Localization of tyrosine hydroxylase (TH) and estrogen receptor (ER)  $\beta$  in the retroquiamatic region of the hypothalamus of female sheep. *Society for Neuroscience.* 25:1452 (abstrac 582.6).
- Lucy, M.C., Boyd, C.K., Koenigsfeld, A.T., Okamura, C.S., 1998. Expression of somatotropin receptor messenger ribonucleic acid in bovine tissues. *J. Dairy Sci.* 81:1889-1895.
- Lucy, M.C., 2000. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *J. Dairy Sci.* 83:1635-1647.
- Lucy, M.C., Liu, J., Boyd, C.K., Bracken, C.J., 2001. Ovarian follicular growth in sows. *Reprod. Suppl.* 58:31-45.
- Maciel, M.N., Zieba, D.A., Amstalden, M., Keisler, D.H., Neves, J.P., Williams, G.L., 2004. Leptin prevents fasting mediated reductions in pulsatile secretion of luteinizing hormone and enhances its gonadotropin releasing hormone mediated release in heifers. *Biol. Reprod.* 70:229-235.
- Mackey, D.R., Sreenan, J.M., Roche, J.F., Diskin, M.G., 1999. The effect of acute nutritional restriction on incidence of anovulation and periovulatory estradiol and gonadotropin concentrations in beef heifers. *Biol. Reprod.* 61:1601-1607.
- Mackey, D.R., Wylie, A.R.G., Sreenan, J.M., Roche, J.F., Diskin, M.G., 2000. The effect of acute nutritional change on follicle wave turnover, gonadotropin steroid concentration in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 78:429-442.
- Mani, A.U., McKelvey, W.A.C., Watson, E.D., 1992. The effect of low level of feeding on response to synchronization of oestrus, ovulation rate and embryo loss in goats. *Theriogenology.* 38:1013.
- Malpaux, B., Moenter, S.M., Wayne, N.L., Woodfill, C.J.I., Karsch, F.J., 1988. Reproductive refractoriness of the ewe to inhibitory photoperiod is not caused by alteration of the circadian secretion of melatonin. *Neuroendocrinology.* 48:264-270.

- Malpaux, B., Robinson, J.E., Wayne, N.L., Karsch, F.J., 1989. Regulation of the onset of the breeding season of the ewe: importance of long days and of an endogenous reproductive rhythm. *J. Endocrinol.* 122: 269-278.
- Malpaux, B., Daveau, A., Maurice, F., Gayrard, V., Thiery, J.C., (1993) Short-day effects of melatonin on luteinizing hormone secretion in the ewe: evidence for central sites of action in the mediobasal hypothalamus *Biol. Reprod.* 48 752-760
- Malpaux, B., Skinner, D.C., Maurice, F., (1995) The ovine pars tuberalis does not appear to be targeted by melatonin to modulate luteinizing hormone secretion, but may be important for prolactin release. *J. Neuroendocrinol.* 7:199-206
- Malpaux, B., Viguié, C., Skinner, D.C., Thiery, J.C., Piletier, 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., Thiery, J.C., Chemineau, P., 1997. Control of the circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. *Brain Res. Bull.* 44:431-438.
- Malpaux, B., Wayne, N.L., Karsch, F.J., 1998. Termination of breeding season in the suffolk ewe: Involvement of an endogenous rhythm of reproduction. *Biol. Reprod.* 39:254-263.
- Marie, M., Findlay, P.A., Thomas, L., Adam, C.L., 2001. Daily patterns of plasma leptin in sheep: effects of photoperiod and food intake. *J. Endocrinol.* 170:277-286.
- Martin, G.B., Scaramuzzi, R.J., Hendtridge, J.D., 1983. Effects of estradiol, progesterone and androstenedione on the pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized ewes during spring and autumn. *J. Endocrinol.* 96:181-193.
- Martin, G.B., Tjondronegoro, S., Boukhliq, R., Blackberry, M.A., Briegel, J.R., Blache, D., Fisher, J.A., Adams, N.R., 1999. Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Suffolk sheep: modification of endogenous rhythms by photoperiod. *Reprod. Fertil. Dev.* 11(6):355-66.
- Martin, G.B., Hötzel, M.J., Blache, D., Walkden-Brown, S.W., Blackberry, M.A., Boukhliq, R.C., 2002. Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male merino and suffolk sheep: modification of responses to photoperiod by an annual cycle in food supply. *Reprod. Fertil. Dev.* 14(3-4):165-75.
- Martin, G.B., Rodger, J., Blache, D., 2004. Nutricional and enviromental effects on reproduction in small ruminants. *Reprod. Fertil. Dev.* 16:491-501.

- Matsuyama, S., Ohkura, S., Ichimaru, T., Sakurai, K., Tsukamura, H., Maeda, K., Okamura, H., 2004, Simultaneous observation of the GnRH pulse generator activity and plasma concentrations of metabolites and insulin during fasting and subsequent refeeding periods in shiba goats. *J. Reprod. Dev.* 50:697-704.
- McGee, A.E., Hsueh, J.W.A., 2000. Inicial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr. Rev.* 21(2): 200-214.
- McNatty, K.P., Heath, D.A., Lindy, F., Fidler, A.E., Quirke, L., O'Connell, A., Smith, P., Groome, N., Tisdall, D.J., 1999. Control of early ovarian follicular development. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 54:3-16.
- McShane, T.M., Petersen, S.L., McCrone, S., Keisler, D.H., 1993. Influence of food restriction on neuropeptide Y, propiomelanocortin, and luteinizing hormone-releasing hormone gene expression in sheep hypothalamic. *Biol. Reprod.* 49:831-839.
- Medan, S.M., Watanabe, G., Sasaki, K., Sharawy, S., Groome, P.N., Taya, K., 2003. Ovarian dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotropins, ovarian steroids and Inhibin during the estrous cycle in goats. *Biol. Reprod.* 69:57-63.
- Meléndez, S.R.M., 2001. Efectos de la subnutrición sobre la función adrenal en la especie caprina y su relación con la función ovárica durante el ciclo estral. Tesis de Maestría, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM, México.
- Menchaca, A., Ribianes, E., 2001. Effect of high progesterone concentrations during the early luteal phase on the length of the ovulatory cycle of goats. *Anim. Reprod. Sci.* 68:69-76.
- Menchaca, A., Pinczak, A., Rubianes, E., 2002. Follicular recruitment and ovulatory response to FSH treatment initiated on day 0 or day 3 postovulation in goats. *Theriogenology.* 58:1713-1721.
- Meza, H.C.A., Chávez, P.J.G., Valencia, C.C.M., Castañeda, V.V., López, A.D., Hernandez, L.M.E., Granados, G.J., 2000. Análisis ultrasonográfico de la actividad ovárica en cabras del norte de México. XV Reunión Nacional sobre Caprinocultura. Merida, Yucatán, México. 78-81p.
- Miller, D.W., Blache, D., Boukhliq, R., Curlew, J.D., Martin, G.D., 1998. Central metabolic messengers and the effects of diet on gonadotrophin secretion in sheep. *J. Reprod. Fertil.* 112:347-356.
- Mohammad, W.A., Grossman, M., Vatthauer, J.L., 1984. Seasonal breeding in United States dairy goats. *J. Dairy Sci.* 67:1813.

- Monget, P., Mazerbourg, S., Delpuech, T., Maurel, M.C., Maniere, S., Zapf, J., Lalmanach, G., Oxvig, C., Overgaard, M.T., 2003. Pregnancy-associated plasma protein A is involved in insulin-like growth factor binding protein-II (IGFBP-II) proteolytic degradation in bovine and porcine preovulatory follicles: identification of cleavage site and characterization of IGFBP-2 degradation. *Biol. Reprod.* 68:77-86.
- Monroy, A., Espinosa, J.L., Cepeda, R., Carrillo, M., 1991. Estacionalidad de la actividad sexual de cabras cruzadas en el municipio de La Paz, Baja California Sur. VII Reunión Nacional sobre Caprinocultura. Monterrey, NL. México. 99 p.
- Mori, Y., Takedomi, T., Mizamoto, Y., Hocino, K., 1987. Induction of preovulatory endocrine events by programmed administration of progesterone and estradiol in ovariectomized goats. *Jpn. J. Anim. Reprod.* 33:36-40.
- Muñoz-Gutiérrez, M., Blache, D., Martin, G.B. Scaramuzzi, R.J., 2002. Folliculogenesis and ovarian expression of mRNA encoding aromatase in anoestrus sheep after 5 day of glucose or glucosamine infusion or supplementary lupin feeding. *Reproduction* 124:721-731.
- Muñoz-Gutiérrez, M., Findlay, P.A., Adam, C.L., Wax, G., Campbell, B.K., Kendall, N.R., Khalid, M., Forsberg, M., Scaramuzzi, R.J., 2005. The ovarian expression of mRNAs for aromatase, IGF-I receptor, IGF-binding protein-2, -4 and -5, leptin and leptin receptor in cycling ewes after three days of leptin infusion. *Reproduction.* 130(5):869-881.
- Murahashi, K., Bucholtz, D.C., Nagatani, S., Tsukahara, S., Tsukamura, H., Foster, D.L., 1996. Suppression of luteinizing hormone pulses by restriction of glucose availability is mediated by sensors in the brain stem. *Endocrinology.* 137:1171.
- Nagatani, S., Zeng, Y., Keisler, D.H., Foster, D.L., Jaffe, C.A., 2000. Leptin regulates pulsatile luteinizing hormone and growth hormone secretion in the sheep. *Endocrinology.* 141(11):3965-3975.
- Nicholas, B., Scougall, R.K., Armstrong, D.G., Webb, R., 2002. Changes in insulin-like growth factor binding protein (IGFBP-2) protease activity in bovine theca cell conditioned media. *J. Reprod. Fertil. Abstr. Ser.* 25:52.
- Niswender, D.G., Juengel, L.J., Silva, J.P., Rollyson, K.M., McIntush, W.E., 2000, Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol. Rev.* 80:1-29.

- Niswender, Schwartz ., 2003. Insulin and leptin revisited: adiposity signals with overlapping physiological and intracellular signaling capabilities. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 24:1-10.
- Nutrient Requeriments of Domestic Animals. Number 15. 1981. Nutrient Requeriments of Goats. Angora, Dairy, and Meat Goats in Temperate and Tropical Countries National Academy Press. Washington D. C.
- Ohkura, S., Tanaka, T., Nagatani, S., Bucholtz, D.C., Tsukamura, H., Maeda, K.I., Foster, D.L., 2000. Central, but not peripheral, glucose-sensing mechanisms mediate glucoprivic suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion in the sheep. *Endocrinology*. 141:4472-4480.
- Ohkura, S., Ichimaru, T., Itoh, F., Matsuyama, S., Okamura, H., 2004. Further evidence for the role of glucose as a metabolic regulator of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity in goats. *Endocrinology*. 145(7):3239-3246.
- Orita, J., Tanaka, T., Kamomae, H., Kaneda, Y., 2000. Ultrasonographic observation of follicular and luteal dynamics during the estrous cycle in shiba goats. *J. Reprod. and Dev.* 46 (1): 31-37.
- Padmanabhan, V., McNelly, A.S., 2001. Is there an FSH-releasing factor? *Reproduction*. 121:21-30.
- Picazo, R.A., Lopez-Sebastian, A., 1995. Desarrollo follicular en el ovario de la especie ovina. *Invest. Agr: Prod.Sanid. Anim.* Vol. 10. 1:77-93.
- Pinczak, A., Menchaca, A., Rubianes, E., 2001. Seguimiento ultrasonográfico ovárico y uterino durante la gestación temprana de la cabra (Ovarian and uterine scanning during the early pregnancy in goats). In: *Proceedings of the IV International Symposium on Animal Reproduction*. Córdoba Argentina, p. 298 (Abstract).
- Ramos, A., Kane, K.K., Hawkins, D.E., Bryant, W.D., Hallford, D.M., Moss, G.E., Kelling, R.S., 2003. Effects of short-term fasting on reproductive function in beef cows. *Proceeding, Western Section American Society of Animal Science*. Vol. 54.

- Rhind, S.M., McNeilly, A.S., 1986. Follicle populations, ovulation rates and plasma profiles of LH, FSH and prolactin in Scottish Blackface ewes in high and low levels of body condition. *Anim. Reprod. Sci.* 10:105-115.
- Rhind, S.M., McMillen, S., McKelvey, W.A.C., 1991. Effects of level of food intake and body condition on the sensitivity of the hypothalamus and pituitary to ovarian-steroid feedback in ovariectomized ewes. *Anim. Prod.* 52:115-125.
- Rhind, S.M., McNeilly, A.S., 1998. Effects of level of food intake on ovarian follicle number, size and steroidogenic capacity in the ewe. *Anim. Reprod. Sci.* 52:131-138.
- Rhodes, F.M., Entwistle, K.W., Kinder, J.E., 1996. Changes in ovarian function and gonadotropin secretion preceding the onset of nutritionally induced anestrus in *Bos indicus* heifer. *Biol. Reprod.* 55:1437-1443.
- Rivera, G.M., Alanis, G.A., Chaves, M.A., Ferrero, S.B., Morillo, H.H., 2003. Seasonality of estrus and ovulation in creole goats of Argentina. *Small Rum. Res.* 48:109-117.
- Robinson, J.J., 1996. Nutrition and reproduction. *Anim. Reprod. Sci.* 42:25.
- Romero, P.J., 2004. Programa de Investigación e Innovación Tecnológica de la Cadena Alimentaria de Carne y Leche de Caprinos. Memoria: XIX Reunión Nacional Sobre Caprinocultura. Acapulco, Gro, México. 78-89p.
- Rondon, Z., Forcada, F., Zarazaga, L., Abecia, J.A., Lozano, J.M., 1996. Oestrus activity, ovulation rate and plasma melatonin concentrations in Rasa Aragonesa ewes maintained at two different and constant body condition score levels and implanted or reimplanted with melatonin. *Anim. Reprod. Sci.* 41:225.
- Rosa, H.J.D., Bryant, M.J., 2003. Seasonality of reproduction in sheep. *Small Rum. Res.* 48:155-171.
- Rosales, C.A., Urrutia, M.J., Gamez, V.H., Díaz, G.M.O., Ramírez, A.B.M., 2006. Influencia del nivel de la alimentación en la actividad reproductiva de cabras criollas durante la estación reproductiva. *Tec. Pec. Mex.* 44(3):399-406.
- Rubianes, E., Menchaca, A., 2003. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Anim. Reprod. Sci.* 78:271-287.
- Salinas, G.H., Ávila, J.L., Falcón, R.J.A., Flores, R.R.T., 1991. Factores Limitantes en el Sistema de Producción de Caprinos en Zacatecas, México. Turrialba. Vol. 41. No. 1. 48-52 p.

- Scaramuzzi, R.J., Adams, N.R., Baird, D.T., Campbell, B.K., Downing, J.A., Findlay, J.K., 1993. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in ewes. *Reprod. Fertil. Dev.* 5:459-78.
- Scaramuzzi, R.J., Campbell, B.K., Downing, J.A., Kendall, N.R., Khalid, M., Muñoz-Gutierrez, M., Somchit, A., 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reprod. Nutr. Dev.* 46:339-354.
- Schillo, K.K., 1992. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *J. Anim. Sci.* 70:1271-1282.
- Schneider, J.E., Zhu, Y., 1994. Caudal brain stem play a role in metabolic control of estrous cycles in Syrian hamsters. *Brain Res.* 661:70-74.
- Schneider, J.E., Goldman, M.D., Tang, S., Bean, B., Ji, H., Friedman, M.I., 1998. Leptin indirectly affects estrous cycles by increasing metabolic fuel oxidation. *Horm. Behav.* 33:217.
- Schneider, J.E., 2004. Energy balance and reproduction. *Physiol. Behav.* 81:289-317.
- Schreihöfer, D.A., Parfitt, D.B., Cameron, J.L., 1993. Suppression of luteinizing hormone secretion during short-term fasting male rhesus monkeys: the role of metabolic versus stress signals. *Endocrinology.* 132(5): 1890-1897.
- Schwartz, M.W., Seeley, R.J., Campfield, L.A., Burn, P., Baskin, G., 1996. Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J. Clinical Invest.* 98:5:1101-1106.
- Schwarz, T., Wierzechos, E., 2000. Relationship between FSH and ovarian follicular dynamics in goats during the estrous cycle. *Theriogenology.* 53:381(Abstract).
- Shelton, M., 1978. *Reproduction and Breeding of Goats.* J. Dairy Sci. 61:994-1010.
- Shelton, M., 1991. Management of reproduction in the goat. VII Reunion nacional sobre caprinocultura. Monterrey N. L. México. 168-184.
- Shupnik, M.A., 2003. Luteinizing hormone (LH). *Encyclopedia of hormones.* Eds. Henry HL, and Norman AW. Vol. 2. 601-612p.

- Silva, P.E., 1995. Caracterización de la reproducción de las cabras lecheras en empadre continuo e inducción o sincronización del estro con progestagenos en diferentes épocas, servidas con monta natural o inseminación artificial. Tesis de Maestría. Universidad de Colima. Colima, México.
- Silva, E., Galina, M.A., Palma, J.M., Valencia, J., 1998. Reproductive performance of alpine dairy goats in a semi-arid environment of Mexico under a continuous breeding system. *Small Rum. Res.* 27:79-84.
- Silva, V.R.J., van den Hurí, R., Costa, F.H.S., Andrade, R.E., Nuñes, A.P.A., Ferreira, A.V.F., Lobo, B.N.R., Figueiredo, R.J., 2004. Survival and growth of goat primordial follicles after *in vitro* culture of ovarian cortical slices in media containing coconut water. *Anim. Reprod. Sci.* 81:273-286.
- Silverman, A.J., Livne, I., Witkin, J.W., 1994. The gonadotropin-releasing hormone neuronal systems: immunocytochemistry and *in situ* hybridization. In *The Physiology of Reproduction*. Knobil E, and Nelly JD. Raven press, Ltd, New York. 1683-1709.
- Silanikove, N., 2000. The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments. *Small. Rum. Res.* 35:181-193.
- Simoës, J., Almeida, J.C., Valentin, R., Baril, G., Azevedo, J., Fontes, P., Mascarenhas, R., 2006. Follicular dynamics in Serrana goats. *Anim. Reprod. Sci.* 95:16-26.
- Simpson, R.B., Chase, C.C., Spicer, J.L., Vernon, R.K., Hammond, A.C., Rae, D.O., 1994. Effect of exogenous insulin on plasma and follicular insulin-like growth factor- I, insulin-like growth factor binding protein affinity, follicular oestradiol and progesterone, and follicular growth in superovulated Angus and Brahman cows. *J. Reprod. Fertil.* 102:483.
- Sivits, W.I., Walsh, S.A., Morgan, D.A., Thomas, M.J., Haynes, WG., 1997. Effects of leptin on insulin sensitivity in normal rats. *Endocrinology.* 138:3395-3401.
- Skinner, D.C., Caraty, A., Allingham, R., 2001. Unmasking the progesterone receptor in the preoptic area and hypothalamus of the ewe: no colocalization with gonadotropin-releasing neurons. *Endocrinology.* 142:573-579.
- Smith, M., Jennes, L., 2001. Neural signals that regulate GnRH neurones directly during the oestrous cycle. *Reproduction.* 122:1-10.

- Snyder, J.L., Clapper, J.A., Roberts, A.J., Sanson, D.W., Hamernik, D.L., Moss, G.E., 1999. Insulin-like growth factor -I, insulin-like growth factor-binding proteins, and gonadotropins in the hypothalamic-pituitary axis and serum of nutrient-restricted ewes. *Biol. Reprod.* 61:219-224.
- Soyal, S.M., Amleh, A., Dean, I., 2000. FIG $\alpha$  a germ cell-specific transcription factor required for ovarian follicle formation. *Development.* 127:4645-4654.
- Spicer, L.J., Echterkamp, S.E., Canning, S.F., Hamond, J.M., 1988. Relationship between concentration of immunoreactive insulin-like growth factor -I in follicular fluid and various biochemical markers of differentiation in bovine antral follicles. *Biol. Reprod.* 39:573.
- Spicer, J.L., Francisco, C.C., 1997. The adipose obese gene product leptin: evidence of a direct inhibitory role in ovarian function. *Endocrinology.* 138:3374-3379.
- Spicer, L.J., 2001. Leptin: a possible metabolic signal affecting reproduction. *Dom. Anim. Endocrinol.* 21:251-270.
- Spicer, L.J., Chamberlain, C.S., Maciel, S.M., 2002. Influence of gonadotropins on insulin- and insulin - like growth factor-I (IGF-I)- induced steroid production by bovine granulosa cells. *Dom. Anim. Endocrinol.* 22:237-254.
- Suzuki, M., Nishihara, M., Takahashi, M., 1995. Hypothalamic gonadotropin-releasing hormone gene expression during rat estrous cycle. *J. Endocrinol.* 42:789-796.
- Tanaka, T., Oazawa, T., Hocino, K., Mori, Y., 1995. Changes in the gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity during the estrous cycle in the goats. *Neuroendocrinology.* 62:553-561.
- Tanaka, T., Nagatani, S., Bucholtz, D.C., Occurra, S., Tsukamura, H., Maeda, K., Foster, D.L., 2000. Central action of insulin regulates pulsatile luteinizing hormone secretion in the diabetic sheep model. *Biol. Reprod.* 62:1256-1261.
- Tanaka, T., Akaboshi, N., Inoue, Y., Kamomae, H., Kaneda, Y., 2002. Fasting-induced suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion is related to body energy status in ovariectomized goats. *Anim. Reprod. Sci.* 72:185-196.

- Tanaka, T., Yamaguchi, T., Kamomae, H., Kaneda, H., 2003. Nutritionally induced weight body loss and ovarian quiescence in shiba goats. *J. Reprod. Dev.* 49(1):113-119.
- Tanaka, T., Fujiwara, K.I., Kim, S., Kamomae, H., Kaneda, H., 2004. Ovarian and hormonal responses to a progesterone-releasing controlled internal drug releasing treatment in dietary-restricted goats. *Anim. Reprod. Sci.* 84:135-146.
- Terasawa, E., Fernandez, D.L., 2001. Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates. *Endocr. Rev.* 22(1):111-151.
- Thiéry, J.C., Chemineau, P., Hernandez, X., Migaud, M., Malpoux, B., 2002. Neuroendocrine interactions and seasonality. *Dom. Anim. Endocrinol.* 23:87-100.
- Thomas, G.B., Scott, C.J., Cummins, J.T., Clarke, I.J., 1994. Adrenergic regulation of growth hormone secretion in the ewe. *Dom. Anim. Endocrinol.* 11:187-195.
- Tricoire, H., Moller, M., Chemineau, P., Malpoux, B., 2003. Origin of cerebrospinal fluid melatonin and possible function in the integration of photoperiod. *Reproduction Suppl.* 61:311-21.
- Tsukamura, H., Nagatani, S., Cagampang, F.R.A., Kawakami, S., Maeda, K.I., 1994. Corticotropin-releasing hormone mediates suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion induced by activation of  $\alpha$ -adrenergic receptors in the paraventricular nucleus in female rats. *Endocrinology.* 134: 1460-1466.
- Turzillo, A.M., Clapper, J.A., Moss, G.E., Nett, T.M., 1998. Regulation of ovine GnRH receptor gene expression by progesterone and oestradiol. *J. Reprod. Fertil.* 113:251-256.
- Urrutia, M.J., 2002. Efecto del nivel nutricional sobre la actividad reproductiva y la respuesta al efecto macho de razas cruzadas de nubia durante la estación de anestro. Tesis Doctoral. FMVZ. UAZ. Zacatecas, México.
- Van Der Walt, J.G., Linington, M.J., 1989. A review of energy metabolism in producing ruminants. 1. Metabolism of energy substrates. *Journal of the South African Veterinary Association.* 60(4):223-227.
- Van Houten, M., Posner, B.I., 1981. Specific binding and internalization of blood-borne [ $^{125}$ I] iodoinsulin by neurons of the rat area postrema. *Endocrinol.* 109:853-859.

- Valencia, J., Zarco, L., Ducoing, A., Murcia, C., Nevarro, H., 1990. Breeding season of criollo and granadina goats under constant nutritional level in the mexican highlands. *Livestock Reprod. In Latinoamerica. Intern. Atomic Energy Agency, Vienna.* 321-333. Food and Agric. Organization.
- Vega, J.R., Ramírez, G.A., Ríos, J.G., Benavides, G.J., Espinoza, F.Ch., 1983. Comportamiento reproductivo de un rebaño caprino en la parte central del estado de Chihuahua. Facultad de Zootecnia. UACH. AMPA. Aguascalientes, México. 58 p.
- Viguié, C., Caraty, A., Locatelli, A., Malpoux, B., 1995. Regulation of LHRH secretion by melatonin in the ewe I. Simultaneous delayed increase in LHRH and LH pulsatile secretion. *Biol. Reprod.* 52:1114-1120.
- Viñoles, C., Forsberg, M., Martin, G.B., Cajarville, C., Repetto, J., Meikle, A., 2005. Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction.* 129:299-309.
- Wade, G.N., Jones, J.E., 2004. Neuroendocrinology of nutritional infertility. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp Physiol.* 287:1277-1296.
- Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Norton, B.W., Scaramuzzi, R.J., Martin, G.B., 1994. Effect of nutrition on seasonal patterns of LH, FSH and testosterone concentration, testicular mass, sebaceous gland volume and odour in Australian Cashmere goats. *Reprod. Fertil. Nov;*102(2):351-60.
- Wassarman, M.P., Albertini, F.D., 1994. The mammalian ovum. *The Physiology of Reproduction. Second Edition. Chapter 3. E. Knobil and J. D Nelly.*
- Watanobe, H., 2002. Leptin directly acts within the hypothalamus to stimulate gonadotropin-releasing hormona secretion in vivo in rats. *J. Physiol.* 545:255-268.
- Webb, R., Campbell, B.K., Garverick, H.A., Gong, J.G., Gutierrez, C.G., Armstrong, D.G., 1999a. Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 54:33-48.
- Webb, R., Gosden, R.G., Telfer, E.E., Moor, R.M., 1999b. Factors affecting folliculogenesis in ruminants. *Anim. Sci.* 68:257-284.
- Webb, R., Garnsworthy, P.C., Gong, J.G., Armstrong, D.G., 2004. Control of follicular grownt: Local interactions and nutritional influences. *J. Anim. Sci.* 82:63-74.

- Williams, H.L.L., 1984. The effects of the physical and social environments on reproduction in adult sheep and goats. X Congress International on Animal Reproduction and Artificial Insemination. University of Illinois at Urbana-Champaign, USA. Vol. VII. 32-38p.
- Williams, S.A., Blache, D., Martin, G.B., Foot, R., Blackberry, M.A., Scaramuzzi, R.J., 2001. Effect of nutritional supplementation on quantities of glucose transporters 1 and 4 in sheep granulosa and theca cells. *Reproduction*. 122:947-956.
- Xiong, J.J., Karsch, F.J., Lehman, M.N., 1997. Evidence for seasonal plasticity in the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) system of the ewe: changes in synaptic inputs onto GnRH neurons. *Endocrinology*. 138:1240-1250.
- Xu, Z.Z., Garverick, H.A., Smith, G.W., Smith, M.F., Hamilton, S.A., Youngquist, R.S., 1995a. Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. *Biol. Reprod.* 53:951-957.
- Xu, Z.Z., Garverick, H.A., Smith, G.W., Smith, M.F., Hamilton, S.A., Youngquist, R.S., 1995b. Expression of messenger RNA encoding cytochrome P450 side chain cleavage, cytochrome P450 17 $\alpha$ -Hydroxylase and cytochrome P450 aromatase in bovine follicles during the first follicular wave. *Endocrinology*. 136:981-989.
- Xu, Y., Traystman, R.J., Hurn, P.D., Wang, M.M., 2004. Membrane restraint of estrogen receptor alpha enhances estrogen-dependent nuclear localization and genomic function. *Mol. Endocrinology*. Jan;18(1):86-96.
- Zarazaga, L.A., Guzmán, J.L., Domínguez, C., Pérez, M.C., Prieto, R., 2005. Effect of plane of nutrition on seasonality of reproduction in Spanish Payoya goats. *Anim. Reprod. Sci.* 87(3-4): 253-257.
- Zhang, S., Blache, D., Blackberry, M.A., Martin, G.B., 2005. Body reserves affect the reproductive endocrine responses to an acute change in nutrition in mature male sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 88:257-269.
- Zieba, D.A., Amstalden, M., Williams, G.L., 2005. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: A comparative review. *Dom. Anim. Endocrinol.* 29:166-185.
- Zulu, V.C., Nakao, T., Sawamukai, Y., 2002. Insulin-like growth factor-I as a possible hormonal mediator of nutritional regulation of reproduction in cattle. *J. Vet. Med. Sci.* 64(8):657-665.

## VIII. APÉNDICE

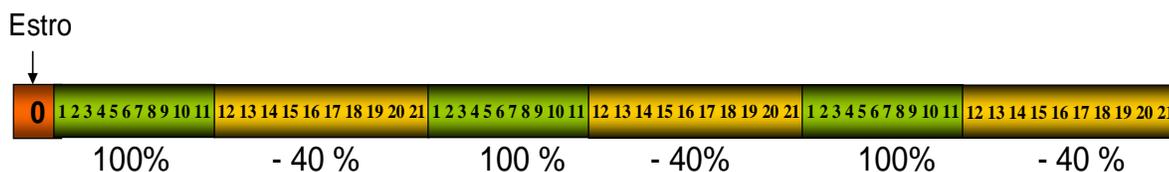
**Apéndice 1.** Materia prima, proporción y contenido de energía y proteína de la dieta utilizada.

INGREDIENTES		BASE HÚMEDA
Sorgo en grano	(%)	32.03
Pasta de soya	(%)	8.81
Heno de alfalfa	(%)	10.01
Pata de sorgo	(%)	38.81
Melaza	(%)	9.15
Sales minerales	(%)	0.88
Sal común	(%)	0.31
Total	(%)	100
Mcal de EM /kg de alimento		2.02
Proteína Cruda	(%)	9.76

**Apéndice 2.** Esquema de alimentación en los grupos con (CRCA) y sin (SRCA) restricción temporal en el consumo de alimento durante todo el estudio.



Oferta constante del 100 % de la ración (SRCA).



Oferta de alimento con restricción temporal del 40 % de la ración (CRCA).