

01684

1  
2ij



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA Y  
RESPUESTA AL FOTOPERÍODO ARTIFICIAL  
EN LA OVEJA PELIBUEY**

**T E S I S**

PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS  
(*Reproduccion Animal*)

PRESENTADA POR

**CORPUS HILDEBRANDO CERNA CABRERA**

ASESORES: DR. JAVIER VALENCIA MÉNDEZ  
DR. LUIS ZARCO QUINTERO



MÉXICO, D.F.

1999

271887

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



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.

## SEASONALITY OF REPRODUCTION AND RESPONSE TO THE ARTIFICIAL PHOTOPERIOD IN PELIBUEY EWE.

Two experiments were designed to study the effect of the artificial photoperiod on the reproductive activity of the Pelibuey ewe. In the first experiment were used 16 pregnant ewes from Martínez de la Torre, Veracruz, distributed in three groups, one of those which (reference group, n=8) remained in Martínez de la Torre (tropical climate), under normal forragins conditions. The other two groups were moved to Topilejo, D.F. (temperate climate), the first of they (treated group, n=4) was exposed to an inverse photoperiod, while the other (control group, n=4) remained under natural photoperiod. Blood samples were obtained from all the animals twice a week during 130 days postpartum. The interval between lambing and the resumption of ovulation, measured by concentrations of progesterone, was shorter ( $P<0.01$ ) for the treated group, compared with the control group and with the reference group (73, 101 and 104 days, respectively). In the second experiment, to study the variations in the ovarica activity were used 30 ewes distributed in three principal groups: group I (without previous history of artificial photoperiod, n=14), group II (with previous history of artificial photoperiod, n=7) and group III (without previous history of artificial photoperiod but with antecedent of lambing to the beginning of the experiment, n=9). Each principal group was split into two subgroups, one of those which was exposed to an inverse photoperiod (treated subgroup) while the other remained under natural photoperiod (control subgroup). Blood samples were obtained twice a week during two consecutive years and were measured the concentrations of progesterone. The beginning and the end of the ovarica activity occurred earlier in all the treated subgroups with respect to the controls ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), except in the group II. To study the secretory rhythm of melatonin and of prolactin were used 10 ewes distributed in two groups, one of those which was exposed to an inverse photoperiod (treated group, n=5), and the other remained under natural photoperiod (control group, n=5). Blood samples were obtained in each solstice and in each equinox during 25 consecutive hours (for melatonin), and twice a week during two years (for prolactin). The mean nocturnal concentration of melatonin did not vary ( $P>0.05$ ) between seasons neither between groups. The duration of the melatonin elevation showed seasonal variations ( $P<0.01$ ), while the amplitude did not vary ( $P>0.05$ ) between seasons neither between groups. Significant monthly and seasonal variations ( $P<0.01$ ) in the level means of prolactin were observed in both groups. It is concluded that the photoperiod affects directly the reproductive activity of the Pelibuey ewe and that this effect is mediated by the nocturnal secretion of melatonin.

## ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA Y RESPUESTA AL FOTOPERÍODO ARTIFICIAL EN LA OVEJA PELIBUEY.

Se realizaron dos experimentos para estudiar el efecto del fotoperíodo artificial sobre la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey. En el primer experimento se utilizaron 16 ovejas gestantes provenientes de Martínez de la Torre, Veracruz, distribuidas en tres grupos, uno de los cuales (grupo referencial, n=8) permaneció en Martínez de la Torre (clima tropical), bajo condiciones normales de pastoreo. Los otros dos grupos fueron trasladados a Topilejo, D.F. (clima templado), el primero de ellos (grupo tratado, n=4) fue expuesto a fotoperíodo inverso, mientras que el otro (grupo testigo, n=4) permaneció en fotoperíodo natural. Se obtuvieron muestras sanguíneas dos veces por semana durante 130 días posparto. El intervalo entre el parto y el reinicio de la actividad ovárica, medida por concentraciones de progesterona, fue menor ( $P<0.01$ ) para el grupo tratado, comparado con el testigo y con el referencial (73, 101 y 104 días, respectivamente). En el segundo experimento, para estudiar las variaciones en la actividad ovárica se utilizaron 30 ovejas distribuidas en tres grupos principales: grupo I (sin historia de fotoperíodo artificial, n=14), grupo II (con historia de fotoperíodo artificial, n=7) y grupo III (sin historia de fotoperíodo artificial pero con antecedente de parto al inicio del experimento, n=9). Cada grupo principal fue dividido en dos subgrupos, uno de los cuales se expuso a fotoperíodo inverso (subgrupo tratado), mientras que el otro permaneció en fotoperíodo natural (subgrupo testigo). Se tomaron muestras sanguíneas dos veces por semana durante dos años consecutivos y se midieron las concentraciones de progesterona. El inicio y el final de la actividad ovárica ocurrieron más temprano ( $P<0.05$  ó  $P<0.01$ ) en todos los subgrupos tratados con respecto a los testigos, excepto en el grupo II. Para estudiar el ritmo de secreción de melatonina y de prolactina se utilizaron 10 ovejas distribuidas en dos grupos, uno de los cuales se expuso a fotoperíodo inverso (grupo tratado, n=5) y el otro permaneció en fotoperíodo natural (grupo testigo, n=5). Se tomaron muestras de sangre en cada solsticio y en cada equinoccio durante 25 horas consecutivas (para melatonina), y dos veces por semana durante dos años (para prolactina). La concentración nocturna media de melatonina no varió ( $P>0.05$ ) entre estaciones ni entre grupos. La duración de la elevación de melatonina mostró variaciones estacionales ( $P<0.01$ ), mientras que la amplitud no varió ( $P>0.05$ ) entre estaciones ni entre grupos. Se observaron variaciones estacionales y mensuales ( $P<0.01$ ) en los niveles medios de prolactina en ambos grupos. Se concluye que el fotoperíodo afecta directamente la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey y que este efecto es mediado por la secreción nocturna de melatonina.

## **DEDICATORIA**

*Siempre he recibido de ustedes:*

*infinito amor,*

*constantemente cuidados y*

*atenciones plenas.*

*Permítanme dedicarles este modesto trabajo*

*como muestra de mi cariño sincero:*

*A la memoria de mi padre **Sergio Cerna.***

*A mi madre **Eva Cabrera.***

*A mi esposa **Haydeé Pajares** y  
a nuestros hijos: **Cinthy y Cristian.***

*A todos **mis hermanos.***

## AGRADECIMIENTO

A la Fundación W.K. KELLOGG por todo el apoyo económico otorgado para la realización del presente trabajo y de mis estudios de doctorado.

A los Doctores: Luis Zarco Quintero y Javier Valencia Méndez por su dirección, apoyo y amistad.

Al Dr. Benoit Malpaux por su asesoramiento y amistad.

A los integrantes de mi Comité Tutorial:

- Dr. Carlos Galina Hidalgo
- Dr. José Delgadillo Sánchez
- Dr. Carlos García Bojalil
- Dr. Rodolfo Rodríguez Maltos
- Dr. Jorge Álvarez León
- Dr. Javier Valencia Méndez
- Dr. Luis Zarco Quintero

Al personal del Laboratorio de Endocrinología de la FMVZ por el apoyo brindado en las determinaciones hormonales.

Al personal del Centro de Enseñanza, Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA) por su apoyo en el trabajo de campo.

A todos los colegas y amigos del Departamento de Reproducción y de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la FMVZ-UNAM por haberme permitido compartir su amistad.

A los Proyectos PAEP (N° 009302) y PAPIIT (N° 222798) por el apoyo económico para la culminación del presente trabajo.

## CONTENIDO

### CAPÍTULO

<b>I. INTRODUCCIÓN GENERAL</b>	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>4</b>
Literatura citada	37
<b>III. EFECTO DEL FOTOPERÍODO ARTIFICIAL SOBRE EL REINICIO DE LA ACTIVIDAD OVÁRICA POSPARTO EN LA OVEJA PELIBUEY.</b>	<b>52</b>
Resumen	52
Introducción	53
Material y Métodos	54
Resultados	56
Discusión	59
Literatura citada	60
<b>IV. ACTIVIDAD OVÁRICA Y VARIACIONES ESTACIONALES EN EL PERFIL DE SECRECIÓN DE MELATONINA Y DE PROLACTINA PLASMÁTICAS EN LA OVEJA PELIBUEY EXPUESTA A FOTOPERÍODO INVERSO.</b>	<b>63</b>
Resumen	63
Introducción	65
Material y Métodos	66
Resultados	71
Discusión	94
Literatura citada	101
<b>V. DISCUSIÓN GENERAL</b>	<b>106</b>
Literatura citada	110

## RESUMEN

**CORPUS HILDEBRANDO CERNA CABRERA. ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA Y RESPUESTA AL FOTOPERÍODO ARTIFICIAL EN LA OVEJA PELIBUEY (DIRECTORES DE TESIS: DR. JAVIER VALENCIA MÉNDEZ Y DR. LUIS ZARCO QUINTERO).**

Se realizaron dos experimentos para estudiar el efecto del fotoperíodo artificial sobre la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey. En el primer experimento se evaluó el efecto del fotoperíodo artificial inverso sobre el reinicio de la actividad ovárica posparto. Se utilizaron 16 ovejas gestantes provenientes de Martínez de la Torre, Veracruz, distribuidas al azar en 3 grupos. El primero (grupo referencial, n=8) permaneció en Martínez de la Torre en condiciones naturales de pastoreo. Los otros dos grupos fueron trasladados a Topilejo, D.F., el primero de los cuales (grupo tratado, n=4) fue expuesto a fotoperíodo inverso, a partir del 21 de marzo de 1997, mientras que el otro (grupo testigo, n=4) permaneció en fotoperíodo natural. Todas las ovejas parieron en promedio entre el 24 y 27 de abril de 1997, lo cual corresponde a la época de anestro en la oveja Pelibuey. Se tomaron muestras de sangre de todos los animales dos veces por semana por 130 días después del parto, y se midieron las concentraciones plasmáticas de progesterona por radioinmunoanálisis. El intervalo entre el parto y el reinicio de la actividad ovárica fue significativamente menor ( $P < 0.01$ ) para el grupo tratado ( $73.2 \pm 4.6$  días), comparado con el grupo testigo ( $101 \pm 6.9$  días) y con el grupo referencial ( $104 \pm 2.8$  días). Se concluye que la exposición de ovejas Pelibuey, paridas en primavera, a un fotoperíodo típico del otoño acelera el reinicio de la actividad ovárica posparto. El segundo experimento se realizó con la finalidad de evaluar las variaciones estacionales en la actividad ovárica y en la secreción de melatonina y de prolactina en la oveja Pelibuey expuesta a fotoperíodo artificial inverso. Este experimento se llevó a cabo en tres etapas. En la primera etapa se utilizaron 30 ovejas distribuidas en 3 grupos principales. Grupo I: animales sin historia previa de fotoperíodo artificial (n=14). Grupo II: animales con historia previa de fotoperíodo artificial (n=7). Grupo III: animales sin historia previa de fotoperíodo artificial, pero con antecedente de gestación y parto al inicio del experimento (n=9). Cada grupo principal, a su vez, fue dividido en dos subgrupos, uno de los cuales se expuso a fotoperíodo inverso (subgrupo tratado) y el otro permaneció en fotoperíodo natural (subgrupo testigo). Se obtuvieron muestras sanguíneas de todos los animales dos veces por semana durante dos años consecutivos (1997-1998), y se midieron las concentraciones plasmáticas de progesterona por radioinmunoanálisis. En los grupos I y III, el inicio y término de la actividad ovárica del primer año, así como el inicio de la actividad ovárica del segundo año ocurrieron significativamente más temprano ( $P < 0.01$  o  $P < 0.05$ ) en los subgrupos en fotoperíodo inverso con respecto a los testigos. En el grupo II, el inicio de la actividad ovárica del primer año no mostró diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre el subgrupo tratado y el testigo, mientras que el final de la actividad ovárica el primer año y el inicio de la misma el segundo año ocurrieron significativamente más temprano ( $P < 0.01$ ) en el subgrupo mantenido en fotoperíodo artificial con respecto al testigo. En el grupo I, no se

observaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en la duración del período de actividad ovárica ni en el período de anestro entre el subgrupo tratado y el testigo. En el grupo II, tampoco se observó diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) en la duración del período de actividad ovárica entre el subgrupo tratado y el testigo, en tanto que la duración del anestro fue significativamente menor ( $P < 0.05$ ) para el subgrupo tratado con respecto al testigo. En el grupo III, el período de actividad ovárica fue significativamente menor ( $P < 0.05$ ) en el subgrupo tratado con respecto al testigo, mientras que la duración del anestro no mostró diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre estos dos subgrupos. En la segunda etapa de este experimento se utilizaron 10 ovejas distribuidas en dos grupos, a uno de los cuales se expuso a fotoperíodo inverso (grupo tratado,  $n=5$ ), mientras que el otro permaneció en fotoperíodo natural (grupo testigo,  $n=5$ ). Se tomaron muestras de sangre de todas las ovejas en cada solsticio y en cada equinoccio durante 25 horas consecutivas, y se midieron las concentraciones plasmáticas de melatonina por radioinmunoanálisis. No se observó un efecto significativo ( $P > 0.05$ ) de la época de muestreo sobre la concentración nocturna de melatonina, pero sí un efecto significativo ( $P < 0.01$ ) del momento del día sobre dicha variable. Tampoco se observó un efecto significativo ( $P > 0.05$ ) del grupo sobre la duración de la elevación nocturna de melatonina, pero sí un efecto significativo ( $P < 0.01$ ) de la estación sobre la mencionada variable. La amplitud de la elevación de melatonina no varió a través del tiempo ( $P > 0.05$ ). En la última etapa de este experimento se utilizaron 10 ovejas distribuidas en dos grupos. El primero (grupo tratado,  $n=5$ ) se expuso a fotoperíodo inverso, mientras que el segundo (grupo testigo,  $n=5$ ) permaneció en fotoperíodo natural. Se tomaron muestras de sangre de todos los animales dos veces por semana durante dos años consecutivos, y se midieron las concentraciones plasmáticas de prolactina por radioinmunoanálisis. Los resultados revelaron un efecto significativo ( $P < 0.01$ ) de la estación y también del mes sobre las concentraciones medias de prolactina, tanto en el grupo tratado como en el testigo. Similarmente, se observó un incremento significativo ( $P < 0.01$ ) en las concentraciones medias de prolactina del primero al segundo año en el grupo testigo. Se concluye que la exposición de la oveja Pelibuey a fotoperíodo artificial inverso desplaza su actividad ovárica, lo cual sugiere la participación del fotoperíodo como factor regulador de su actividad reproductiva. Similarmente, el fotoperíodo inverso modifica la duración de la elevación nocturna de melatonina, lo cual sugiere que la duración de la elevación de melatonina es el parámetro crítico que media la respuesta reproductiva en la oveja Pelibuey, tal como se ha postulado para la oveja de clima templado. Finalmente, la exposición de ovejas Pelibuey a fotoperíodo inverso modifica el patrón de secreción de prolactina, lo cual sugiere que el fotoperíodo es el factor que regula la secreción de esta hormona en la oveja Pelibuey.

## I. INTRODUCCIÓN GENERAL

La estacionalidad reproductiva es un fenómeno fisiológico adaptativo utilizado por muchos animales silvestres para enfrentar los cambios estacionales en las condiciones climáticas y en la disponibilidad de alimentos. La domesticación ha conducido a una pérdida casi completa de esta adaptación en bovinos y porcinos, pero ha sido retenida en muchas razas de ovinos, caprinos y equinos originarios de climas templados (Malpaux et al., 1996).

Todas las razas de ovinos y caprinos originarios de latitudes altas o medias, en las que las variaciones anuales en la longitud del fotoperíodo son grandes, muestran marcadas variaciones en la actividad reproductiva (Ortavant et al, 1985). Generalmente, en las ovejas, la estación reproductiva se inicia a finales del verano o principios del otoño, cuando el fotoperíodo se está acortando, y termina durante el invierno, cuando el fotoperíodo se está alargando (Hafez, 1952). Sin embargo, hay grandes variaciones entre razas, con algunas que inician su actividad sexual cerca del solsticio de verano y otras después del equinoccio de otoño (Robinson y Karsch, 1984). También hay variaciones entre individuos de una misma raza, y en la mayoría de las razas se pueden encontrar individuos con periodos de anestro cortos o inclusive ausentes (Thimonier y Mauléon, 1969).

Diversos estudios han demostrado que en latitudes medias o altas, el fotoperíodo es el principal factor ambiental que determina el inicio y la duración de la estación reproductiva en la oveja (Yeates, 1949; Hafez, 1952; Thwaites, 1965; Karsch et al., 1984). La información fotoperiódica es transmitida al eje reproductivo por medio de la glándula pineal, a través de su secreción nocturna de melatonina (Bittman et al., 1983 a; Bittman y Karsch, 1984). Los efectos de la melatonina sobre la reproducción son mediados por cambios en la secreción pulsátil de LHRH a nivel hipotalámico (Viguié et al., 1995 a), los cuales inducen, a su vez, variaciones en la secreción de LH a nivel hipofisiario (Bittman et al., 1985). Estas variaciones son responsables de la ciclicidad o del anestro en las ovejas intactas (Karsch et al., 1984; Malpaux et al., 1993 a).

El fotoperíodo también induce cambios en el patrón de secreción de prolactina. En el ovino en condiciones naturales se observa un fuerte ritmo circanual en las concentraciones plasmáticas de prolactina (Pelletier, 1973; Jackson y Jansen, 1991). Sin embargo, estos cambios en la secreción de prolactina no parecen tener ningún papel en la estacionalidad de la actividad reproductiva (Worthy et al., 1985; Curlewis et al., 1992).

Todo el conocimiento sobre el fenómeno de la estacionalidad reproductiva está basado en estudios realizados en ovinos de climas templados, donde las variaciones fotoperiódicas anuales son grandes; sin embargo, no se han realizado trabajos concluyentes relacionados con el efecto del fotoperíodo artificial o de la latitud sobre la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey originaria de latitudes tropicales, donde las variaciones en el ciclo fotoperiódico anual son mínimas.

En estudios iniciales realizados en México, se sugirió que la oveja Pelibuey no presentaba estacionalidad reproductiva, siendo capaz de reproducirse en cualquier época del año (Ruiz, 1966; Castillo et al., 1972; Berruecos et al., 1975; Valencia et al., 1975). Aunque después se introdujo el concepto de actividad estral reducida en la oveja Pelibuey, ésta se asoció a otros factores ambientales diferentes al fotoperíodo, tales como la disponibilidad de alimentos (Valencia et al., 1990; González-Reyna et al., 1991; Cruz et al., 1994) o los cambios de temperatura o humedad (González et al., 1992). Sin embargo, hoy existen evidencias que indican que el efecto de la época del año sobre la actividad reproductiva y sobre el reinicio de la actividad ovárica posparto en la oveja Pelibuey, es independiente de condiciones nutricionales (Valencia et al., 1981; Heredia et al., 1991 a; 1991 b; Cortés, 1993; Cortés y Zarco, 1994; Martínez, 1998).

Recientemente, Porrás y col. (1996) han demostrado que la exposición de las ovejas Pelibuey a cambios en el fotoperíodo artificial produce efectos correspondientes en la actividad ovárica. Sin embargo, es importante mencionar que esta respuesta se produjo con cambios abruptos en la duración del fotoperíodo artificial, y con una diferencia de 8 horas entre días largos y días cortos, lo cual no sucede en la realidad en esta latitud, donde la diferencia máxima entre el día más largo y el día más corto del año es tan sólo de 2 horas y 12 minutos (Muhlia y Chávez, 1980); por lo que no es posible afirmar que esta misma respuesta en la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey, se pueda producir en respuesta a los cambios naturales en la duración del fotoperíodo. Por esta razón, en el presente trabajo se utilizó un fotoperíodo artificial inverso como tratamiento experimental. En este tratamiento la duración del período de obscuridad en cada día del año era igual a la duración natural del día en esa misma fecha.

El primer experimento del presente trabajo se realizó con el objetivo de comprobar si el fotoperíodo artificial inverso afecta el reinicio de la actividad ovárica posparto en la oveja Pelibuey.

El objetivo del segundo experimento fue evaluar el efecto del fotoperíodo artificial inverso sobre la actividad ovárica y sobre la secreción de melatonina y de prolactina plasmáticas en la oveja Pelibuey.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. CONTROL FOTOPERIÓDICO DE LA REPRODUCCIÓN EN LA OVEJA.

#### 2.1.1. Estacionalidad reproductiva.

Los mamíferos provenientes de climas fríos y templados, incluyendo muchas especies domésticas, utilizan el ciclo fotoperiódico anual para sincronizar los cambios en la reproducción, y otras características como la muda y la hibernación (Lincoln, 1992). El ovino es una especie en la cual el efecto del fotoperíodo sobre la actividad reproductiva ha sido establecido desde hace muchos años (Yeates, 1949; Hafez, 1952; Thwaites, 1965).

Todas las razas de ovinos y caprinos originarios de latitudes altas o medias ( $> 40^\circ$ ), en las que las variaciones anuales en la longitud del día son grandes, muestran marcadas variaciones en la actividad reproductiva (Ortavant et al., 1985). En la oveja, se alternan una estación reproductiva caracterizada por la sucesión de ciclos estrales cada 16-18 días si la preñez no ocurre, y una estación de anestro caracterizada por el cese de la actividad sexual (Thimonier y Mauléon, 1969). En general, la época reproductiva en esta especie comienza a finales del verano o principios del otoño, cuando el fotoperíodo se acorta, y termina durante el invierno, cuando la longitud del día comienza a incrementarse (Hafez, 1952). Sin embargo, hay grandes variaciones entre razas, con algunas que son muy estacionales (Blackface, Suffolk, Texel entre otras) y con otras que son menos estacionales (Prealpes, Dorset Horn) (Robinson y Karsch, 1984). Aun la oveja Merino, la cual se considera como poco estacional, muestra variaciones ováricas estacionales (Fletcher y Geytenbeek, 1970). En cabras de origen nórdico se observa un patrón similar al de las ovejas, con una estación reproductiva que comienza en septiembre y termina en febrero (Chemineau et al., 1992 a).

Generalmente se acepta que la estacionalidad de la actividad reproductiva está fuertemente reducida tanto en las cabras como en las ovejas originarias de latitudes tropicales o subtropicales. Algunos autores consideran que en este tipo de animales la estacionalidad que se observa en la frecuencia de distribución de partos podría deberse a cambios en la disponibilidad de alimentos (Chemineau et al., 1995).

Las variaciones estacionales en la actividad gonadal no están ligadas al sexo, aunque son menos pronunciadas en los machos que en las hembras (Ortavant et al., 1988). En los machos la producción espermática varía grandemente a lo largo del año. Así, en moruecos de la raza Ile-de-France, el peso testicular es usualmente mínimo en la primavera y máximo en el otoño (Dacheux et al., 1981). De manera similar, el peso testicular en el macho caprino varía de 100 g entre mayo y junio a un máximo de 150 g entre octubre y noviembre (Delgadillo et al., 1991). Un estudio detallado de estas variaciones estacionales muestra que la actividad gonadal generalmente se activa 1 a 1.5 meses más temprano en los machos que en las hembras. Esto ha sido demostrado en el ovino Ile-de-France, en el cual el peso testicular aumenta en junio, mientras que el primer estro de las hembras ocurre a finales de julio o comienzos de agosto (Thimonier y Mauléon, 1969).

Así como existen variaciones de la estacionalidad reproductiva entre razas de ovinos, también las hay entre individuos dentro de una misma raza; algunas ovejas presentan solamente pequeños períodos de anestro, mientras que otras no presentan ninguno (Thimonier y Mauléon, 1969).

### 2.1.2. Control fotoperiódico de la actividad reproductiva.

Como se mencionó anteriormente, el fotoperíodo es el principal factor ambiental que controla la estacionalidad reproductiva en el ovino (Yeates, 1949; Karsch et al., 1984; Ortavant, 1985). Los cambios en la longitud del día son el factor externo más repetible de un año a otro, por lo que son usados por los animales para predecir los cambios de otros factores ambientales (temperatura, disponibilidad de alimentos) y, consecuentemente, para sincronizar su actividad sexual con una precisión relativamente alta (Chemineau et al., 1995). La repetibilidad de las fechas de inicio y término de la estación reproductiva en ovinos y caprinos es medianamente alta ( $r > 0.3$ ) (Chemineau et al., 1992 a).

El papel del fotoperíodo en el control de la reproducción ha sido claramente demostrado en numerosos experimentos en los cuales se han manipulado los ciclos de luz-obscuridad (Chemineau et al., 1992 b; Ortavant et al., 1988). La inversión del ciclo fotoperiódico anual, sin ningún cambio en otros factores ambientales, provoca un desplazamiento de 6 meses en la actividad reproductiva, medida por estro y/o actividad ovulatoria en la oveja (Yeates, 1949; Thwaites, 1965).

Cuando se colocan ovejas en cámaras fotoperiódicas en las que se reproducen en 6 meses las variaciones anuales en la longitud del día, las borregas presentan dos estaciones sexuales por año (Mauléon y Rougeot, 1962). En los machos tratados de la misma forma se presentan dos períodos de crecimiento testicular y dos de regresión por año (Lindsay et al., 1984).

La alternancia de períodos de días largos y días cortos, por ejemplo períodos de 90 días largos (16 h luz y 8 h oscuridad; 16L:8D) y 90 días cortos (8 h luz y 16 h oscuridad; 8L:16D), induce alternancia de descanso y actividad sexuales (Legan y Karsch, 1980; Porras et al., 1996). En ovinos, la exposición a días cortos es seguida por un inicio de la actividad ovulatoria en las hembras y de crecimiento testicular en los machos. Sin embargo, la actividad ovulatoria sólo comienza después de 40 a 60 días de exposición a los días cortos (Karsch et al., 1984), mientras que el crecimiento testicular empieza después de 30 a 40 días de exposición a este fotoperíodo estimulador (D'Occhio et al., 1984). En ambos casos, la exposición a días largos es seguida 20 a 30 días después por una inhibición de la actividad reproductiva (Karsch et al., 1984; D'Occhio et al., 1984; Lincoln, 1979).

Todos estos experimentos ilustran la fuerza del fotoperíodo como un agente sincronizante de la actividad reproductiva en el ovino, y que los machos reaccionan más temprano que las hembras (Ortavant et al., 1985).

### 2.1.3. Fotorefractariedad e historia fotoperiódica.

Tradicionalmente, las ovejas han sido clasificadas como animales de "días cortos", porque su estación reproductiva comienza a finales del verano o principios del otoño, que es cuando la longitud del día disminuye, y además porque su exposición a días cortos artificiales estimula su actividad reproductiva (Legan y Karsch, 1980). Hoy se sabe que el ciclo reproductivo anual de los ovinos es más complicado que una estación reproductiva resultante de efectos estimuladores de días cortos y una estación de anestro causada por efectos inhibitorios de días largos (Malpoux et al., 1993 a). Muchos estudios en condiciones naturales sugieren que el inicio de la estación reproductiva no se debe directamente a la reducción en la longitud del día que ocurre después del solsticio de verano (Robinson et al., 1985 a; Worthy et al., 1985). Por el contrario, la época reproductiva comienza espontáneamente en concordancia con una pérdida de respuesta a los efectos inhibitorios de los días largos del verano (Malpoux et al., 1989). Así, en

machos mantenidos en condiciones naturales, el crecimiento testicular empieza poco antes del solsticio de verano, es decir, antes de que los animales puedan percibir algún acortamiento en la longitud del día (Pelletier y Ortavant, 1967). Además, en ovejas mantenidas bajo días largos constantes a partir del solsticio de verano, la estación reproductiva, o la activación estacional de la secreción de LH, comienza al mismo tiempo que en las ovejas testigo mantenidas en fotoperíodo natural (Robinson et al., 1985 a; Worthy et al., 1985). De esta manera, la disminución en la longitud del día que ocurre después del solsticio de verano no parece ser determinante para el inicio de la estación reproductiva. En ese momento del año, los animales parecen haberse vuelto refractarios a los efectos inhibitorios de los días largos (Malpaux et al., 1993 a). Lo mismo sucede en las ovejas expuestas a un aumento continuo en la longitud del día a partir del equinoccio de primavera, e incluso después del solsticio de verano (Malpaux et al., 1989). La misma conclusión puede aplicarse para el cese de la actividad reproductiva. Cuando los animales son mantenidos en días cortos constantes después del solsticio de invierno, o son expuestos a un fotoperíodo continuamente decreciente a partir del equinoccio de otoño, cesan su actividad sexual de manera simultánea con las ovejas testigo (Worthy y Haresign, 1983; Robinson y Karsch, 1984; Malpaux et al., 1988 a). Se dice entonces que los animales se han vuelto refractarios a los efectos estimulatorios de los días cortos (Malpaux et al., 1993 a).

Estos hallazgos sugieren que el inicio y el final de la estación reproductiva son procesos obligatorios, que no pueden ser evitados, pero sí acelerados, por modificaciones en el fotoperíodo ambiental. Esta aparente refractariedad podría ser la expresión de un ritmo endógeno de reproducción (Malpaux et al., 1989). La existencia de este ritmo ha sido demostrada tanto en ovinos como en otras especies. Así, en animales mantenidos en condiciones fotoperiódicas constantes se continúan presentando períodos alternados de reposo y actividad sexuales (Ducker et al., 1973; Howles et al., 1982; Karsch et al., 1989). Por ejemplo, en ovejas Suffolk expuestas a días cortos constantes (8 h luz y 16 h oscuridad, 8L:16D) durante cuatro años, se presentaron variaciones en la secreción de LH que no estaban sincronizadas entre los animales. El ciclo de dichas variaciones se caracterizó por tener una duración diferente a un año (Karsch et al., 1989). Como resultado de todo lo anterior se ha establecido la hipótesis de que la función del fotoperíodo en condiciones naturales es la de sincronizar el ritmo endógeno de la reproducción, ajustándolo a una duración de un año (Malpaux et al., 1997 a).

El fenómeno de refractariedad no solamente puede ser inducido por fotoperíodos artificiales, sino que es de gran importancia fisiológica en condiciones naturales. Ahora existe evidencia de que en estas condiciones, el desarrollo de refractariedad causa la transición entre la época reproductiva y la de anestro (Chemineau et al., 1992 b). En febrero, al final de la estación reproductiva, la oveja se vuelve insensible a los días cortos, ya que la exposición a ellos no puede retardar más la transición al anestro (Worthy y Haresign, 1983; Robinson y Karsch, 1984). Es la pérdida de respuesta al fotoperíodo estimulador, más que la inhibición provocada por el pequeño incremento en la longitud del día después del solsticio de invierno, la que causa la terminación de la actividad reproductiva (Chemineau et al., 1992 b). El desarrollo de refractariedad a días largos (inhibitorios) durante el inicio de la época reproductiva a finales del verano, está, igualmente, bien documentado (Robinson et al., 1985 a; Worthy et al., 1985).

Malpaux et al. (1989) han formulado la hipótesis de que el ritmo endógeno de reproducción provee una guía importante al ciclo reproductivo anual. El principal papel del fotoperíodo es sincronizar ese ritmo. El incremento en la longitud del día que ocurre después del solsticio de invierno sincroniza un proceso interno que finalmente conduce al inicio obligatorio de la estación reproductiva. Sin embargo, el papel de los días largos no solamente se limita a sincronizar este proceso interno, sino que también suprime activamente la función reproductiva alrededor del solsticio de verano. Posteriormente, los días cortos actuarían para mantener la actividad reproductiva, una vez que esta se ha iniciado (Malpaux et al., 1989; 1990).

Experimentos posteriores han sugerido que no todos los segmentos del ciclo fotoperiódico anual son capaces de sincronizar el ritmo endógeno de reproducción (Wayne et al., 1990). Los resultados de varios experimentos en la oveja (Malpaux et al., 1989; Malpaux y Karsch, 1990; Wayne et al., 1990; Woodfill et al., 1991), sugieren que los días largos de primavera son los más importantes en el control del ritmo endógeno de reproducción y, particularmente, en el inicio de la estación sexual al final del verano. Sin embargo, este modelo propuesto está diseñado a partir de resultados obtenidos en una sola raza de ovejas (Suffolk), por lo que su validez debería probarse en otras razas (Malpaux et al., 1993 a).

Estudios recientes en el ovino y en roedores fotoperiódicos, sugieren que es la dirección del cambio en la longitud del día (historia fotoperiódica) y no la longitud total del día, la que determina la respuesta a una señal fotoperiódica dada (Robinson y Karsch, 1987). Por ejemplo, cuando las ovejas son cambiadas de un fotoperíodo largo a uno intermedio

muestran una respuesta inductiva, mientras que aquellas cambiadas de un fotoperíodo corto a uno intermedio, muestran una respuesta inhibitoria (Robinson y Karsch, 1987). Por lo tanto, la información fotoperiódica que ocurre en el pasado de los animales es crucial para sincronizar la estación reproductiva.

El desarrollo de refractariedad puede ser controlado por manipulación del fotoperíodo. Una vez que la fotorefractariedad se ha establecido, ésta puede ser terminada por exposición de los animales a fotoperíodos alternos (Chemineau et al., 1992 b). Así por ejemplo, si las ovejas Suffolk son expuestas a un período de 60 días largos a partir del solsticio de invierno, cuando son refractarias a días cortos, ellas luego pueden responder a días cortos, iniciando su actividad reproductiva en abril-mayo, mientras que los animales mantenidos en días cortos a partir del solsticio de invierno, no empiezan su actividad reproductiva sino hasta fines de junio (Jackson et al., 1988). De manera similar, la refractariedad a días largos puede ser terminada por exposición de los animales a días cortos por 30 a 60 días después del solsticio de verano (Jackson et al., 1988). El desarrollo de refractariedad también puede ser prevenido por exposición de los animales a cambios rápidos entre días cortos y largos (Chemineau et al., 1992 b). Las hembras y los machos expuestos a una alternancia entre días cortos y días largos (cada 60 a 90 días) son siempre sensibles al fotoperíodo prevalente, es decir, la transferencia a días cortos y largos es seguida por estimulación e inhibición de la actividad sexual, respectivamente (Legan y Karsch, 1980; Pelletier y Almeida, 1987).

## 2.2. MECANISMO NEUROENDÓCRINO QUE CONTROLA LA ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA

Como se ha mencionado anteriormente, la reproducción en muchas razas de ovinos está bajo la influencia del fotoperíodo. La información fotoperiódica es transmitida al eje reproductivo por medio de la glándula pineal, a través de su secreción nocturna de melatonina (Bittman et al., 1983 a; Bittman y Karsch, 1984; Arendt, 1986). Las variaciones en la longitud del día se traducen en cambios en la duración de la secreción de melatonina, lo cual conduce a cambios en la frecuencia de pulsos de LH (Karsch et al., 1984; Bittman et al., 1985). La melatonina induce cambios en la secreción de LH como resultado, a su vez, de cambios en la regulación central de la secreción de LHRH (Barrell et al., 1992; Karsch et al., 1993; Viguíé et al., 1995 a).

Las ovejas ovariectomizadas y tratadas con un implante de estradiol expuestas a días largos, se caracterizan por una baja frecuencia de descarga de LHRH (aproximadamente 1 pulso cada 6 horas). Sin embargo, cuando son tratadas con un implante de melatonina, lo cual imita el efecto de días cortos (O'Callaghan et al., 1991), la frecuencia de los pulsos de LHRH se incrementa aproximadamente a 10 pulsos cada 6 horas (Viguié et al., 1995 a). Esta descarga en la secreción pulsátil de LHRH induce, a su vez, variaciones en la secreción de LH (Bittman et al., 1985; Barell et al., 1992; Karsch et al., 1993). Los cambios en la secreción de LH son responsables de la alternancia de actividad y descanso sexuales en las ovejas intactas (Karsch et al., 1984; Malpaux et al., 1993 b).

Existen diferencias en la actividad de la LH en presencia y en ausencia de esteroides gonadales (Robinson et al., 1985 b). Esto sugiere que el fotoperíodo regula la secreción de LH por medio de dos mecanismos complementarios; uno dependiente de esteroides gonadales, el otro independiente de estas hormonas (Malpaux et al., 1993 a). En la oveja bajo condiciones ambientales naturales, hay una dramática variación estacional en el efecto de retroalimentación negativa del estradiol sobre la secreción de LH (Legan et al., 1977). Durante el anestro, el estradiol es un potente inhibidor de la secreción de LH, mientras que en la estación reproductiva es mucho menos efectivo en ese sentido (Legan y Karsch, 1980). Estas fluctuaciones en respuesta al estradiol coinciden con las transiciones entre las estaciones reproductiva y de anestro en la oveja intacta (Legan et al., 1977; Legan y Karsch, 1979; Karsch et al., 1984).

En ovejas y machos castrados, la secreción pulsátil de LH es menor durante el anestro que durante la estación reproductiva (1 contra 2 pulsos por hora en ovejas ovariectomizadas) (Karsch et al., 1984; Montgomery et al., 1985; Robinson et al., 1985 b). Esta diferencia en la secreción de LH entre estaciones es mucho más marcada en presencia de estradiol en la hembra o de testosterona en el macho (Karsch et al., 1984; Pelletier, 1986). Así, en las ovejas ovariectomizadas tratadas con un implante de estradiol, se observa un pulso de LH cada 12 a 24 horas durante la estación de descanso sexual, frente a 1 pulso cada 30 minutos durante la estación reproductiva (Karsch et al., 1984). Por lo tanto, los cambios en la sensibilidad del eje hipotálamo-hipófisis al efecto de retroalimentación negativa del estradiol en la hembra y de la testosterona en el macho, constituyen el mecanismo principal para la regulación fotoperiódica de la estacionalidad reproductiva (Malpaux et al., 1993 a). De esta manera, la acción de la melatonina sobre el eje reproductivo es mediado por un paso neural hipotalámico, el cual modula la secreción

de LHRH, a través de un cambio en la retroalimentación negativa del estradiol (Malpaux et al., 1997 b).

En forma paralela a sus efectos sobre la secreción de LH, el fotoperíodo también controla la secreción de prolactina, cuyos niveles son elevados durante los días largos y bajos durante los días cortos (Pelletier, 1973; Curlewis, 1992). Estos cambios en la secreción de prolactina son frecuentemente usados como un indicador de la respuesta al fotoperíodo por los animales, ya que ocurren muy rápido después de los cambios fotoperiódicos (Malpaux et al., 1993 a). Sin embargo, las variaciones en la secreción de prolactina no están involucradas en los mecanismos responsables de la actividad reproductiva estacional del ovino (Worthy y Haresign, 1983; Worthy et al., 1985).

## 2.3. TRADUCCIÓN DEL MENSAJE FOTOPERIÓDICO

### 2.3.1. Glándula pineal.

Actualmente no hay duda de que la glándula pineal es el órgano encargado de traducir la información fotoperiódica a través de la secreción de una de sus principales hormonas, la melatonina (Arendt, 1986). En muchas especies, el papel principal de la glándula pineal es la medición de la longitud del día o fotoperíodo (Turek y Campbell, 1979; Reiter, 1980; Karsch et al., 1984).

La glándula pineal es un órgano de notable historia evolutiva. En vertebrados inferiores, la pineal yace cercana a la piel y es directamente fotosensitiva, por lo que ha sido denominada como el “tercer ojo”; sin embargo, no tiene una conexión directa con el sistema visual (Sack, 1998). En los mamíferos, la glándula es de naturaleza enteramente secretoria. Típicamente consiste de pinealocitos, los cuales son células fotoreceptoras modificadas. Los pinealocitos se caracterizan por poseer vesículas granulosas (Arendt, 1986). Con relación al peso corporal, la pineal es muy pequeña (50 a 150 mg en el hombre, 1 mg en la rata y 80 a 120 mg en el ovino) (Arendt, 1986); sin embargo, su flujo sanguíneo por mg de tejido es solamente menor al del riñón.

En los mamíferos, la glándula pineal está inervada por fibras nerviosas simpáticas provenientes de los ganglios cervicales superiores (Kappers, 1960). La inervación simpática pineal es esencial para su función con relación a la percepción del ciclo de luz/obscuridad, vía la secreción de melatonina (Arendt, 1986).

### 2.3.2. Transducción de la información fotoperiódica.

La información fotoperiódica es recibida por la retina y transmitida a la glándula pineal en varias etapas (Malpaux et al., 1997 a). La importancia de los receptores retinales en el control fotoperiódico de la reproducción ha sido demostrada en el hamster (Hoffman y Reiter, 1965), en el hurón (Herbert et al., 1978) y en la oveja (Legan y Karsch, 1983). La enucleación hace a las ovejas insensibles a la acción del fotoperíodo sobre la secreción de LH. Esto permite sugerir que los mamíferos necesitan de la visión para transmitir la información fotoperiódica del ambiente al sistema reproductivo, y que la vía de transmisión en la oveja –especie de reproducción en días cortos–, es esencialmente similar a aquella del hamster, un animal de reproducción en días largos (Legan y Karsch, 1983).

De la retina, la información es transferida al núcleo supraquiasmático (NSC) a través de la vía monosináptica retino-hipotalámica (Herbert et al., 1978). En el NSC probablemente se encuentra el oscilador circadiano maestro, el cual controla el ritmo circadiano endógeno de la secreción de melatonina y la transmisión del estímulo luminoso a los núcleos paraventriculares, luego al ganglio cervical superior, y de allí a la glándula pineal a través de neuronas simpáticas posganglionares (Lincoln, 1979; Turek y Campbell, 1979; Tessonnaud et al., 1995). La estimulación nerviosa es recibida por receptores adrenérgicos localizados en la membrana celular de los pinealocitos, y luego transformada en un mensaje endocrino: la secreción de melatonina (Chemineau et al., 1995). La glándula pineal carece de proyecciones nerviosas, por lo que su influencia fisiológica la ejerce a través de su principal hormona secretada, que es la melatonina, traduciendo los efectos del fotoperíodo en la función reproductiva (Malpaux et al., 1997 a). De esta manera, la glándula pineal es el punto final de una vía nerviosa proveniente de los ojos, y el punto inicial de la transformación de la información fotoperiódica en un mensaje hormonal (Malpaux et al., 1993 a).

La importancia funcional de estas vías fotoneuroendócrinas ha sido demostrada experimentalmente en la rata, especulándose que estas son similares en el resto de los mamíferos (Malpaux et al., 1997 a). En los ovinos también se ha demostrado igualmente, la existencia del tracto retinohipotalámico (Legan y Winans, 1981). La importancia funcional de los ganglios cervicales superiores y de los núcleos supraquiasmáticos se estableció al demostrar que la lesión de estas estructuras modificaba la respuesta al fotoperíodo (Lincoln, 1979; Domanski et al., 1980; Legan y Karsch, 1983). Así por

ejemplo, la ganglionectomía cervical superior evita las variaciones estacionales en el peso testicular de moruecos de la raza Soay (Lincoln, 1979).

### 2.3.3. Papel de la glándula pineal en la actividad reproductiva.

Existen buenas evidencias para indicar que la glándula pineal media el efecto del fotoperíodo sobre la reproducción estacional en muchas especies de mamíferos. La pinealectomía realizada en hamster, hurón, rata y yegua - animales de reproducción en días largos- tiene efectos dramáticos sobre las respuestas al fotoperíodo (Thorpe y Herbert, 1976; Sharp et al., 1979).

Sin embargo, en el ovino los primeros intentos por demostrar el papel de la glándula pineal en la reproducción estacional no tuvieron éxito. Así por ejemplo, la pinealectomía realizada en la estación reproductiva o de anestro en ovejas Suffolk mantenidas en condiciones naturales junto con machos vasectomizados no afectó la alternancia de actividad y descanso sexuales, ni el momento de la transición entre estas dos épocas (Roche et al., 1970). De manera similar, Kennaway et al. (1984) reportaron poco efecto de la pinealectomía sobre la estacionalidad reproductiva de ovejas Saxon Merino X Border Leicester mantenidas en condiciones de campo por dos años después de la cirugía.

Estos hallazgos condujeron a la conclusión de que la glándula pineal no era indispensable para la manifestación de la estacionalidad reproductiva en la oveja. Sin embargo, en la actualidad pueden entenderse mejor las causas por las que estos experimentos fallaron en mostrar los efectos dramáticos de la pinealectomía en ovinos que permanecieron en condiciones naturales, en compañía de otros animales, después de la cirugía. Primero, hoy se sabe que existe un ritmo endógeno de reproducción, el mismo que no requiere del estímulo fotoperiódico, y que es capaz de persistir aún cuando la señal externa haya sido removida (Legan y Karsch, 1983; Bittman et al., 1983 a). Segundo, en ausencia de la glándula pineal, otros indicadores estacionales pueden ser importantes, destacando dentro de ellos los factores sociales. La información fotoperiódica puede llegar indirectamente a estos animales a través de los machos o las hembras con pineal intacta (Legan y Karsch, 1983; Wayne et al., 1989).

Lincoln (1979) fue el primero en demostrar la participación de la glándula pineal en la percepción de la longitud del fotoperíodo en el morueco Soay. Este autor demostró que la denervación de la glándula pineal, por remoción del ganglio cervical superior, destruye la habilidad para responder a los cambios en el fotoperíodo artificial. Los animales

ganglionectomizados expuestos a períodos alternos de días largos y días cortos de 16 semanas, fallaron en mostrar los ciclos sincronizados de crecimiento y regresión testiculares que sí fueron observados en los animales intactos que sirvieron de testigo, mostrando en su lugar un alto y constante peso testicular a través del experimento. Por otra parte, Bittman et al. (1983 a) demostraron que la pinealectomía realizada en ovejas Suffolk, ovariectomizadas y tratadas con un implante de estradiol las hace incapaces de mostrar los cambios dramáticos en la concentración de LH que se observan en los animales con pineal intacta después de cada cambio en el fotoperíodo (Legan et al., 1977). Aunque los niveles de LH en los animales pinealectomizados permanecen fluctuantes, los cambios no están sincronizados entre los animales, ni con los cambios en el ciclo fotoperiódico.

La pinealectomía o la denervación de la glándula, por remoción del ganglio cervical superior, retrasa la pubertad en la cordera prepúber, lo cual constituye otra evidencia del papel de la glándula pineal en la transferencia de la información fotoperiódica al eje reproductivo (Kennaway et al., 1985; Yellon y Foster, 1986).

Todas estas evidencias permiten concluir que la glándula pineal es esencial para la respuesta reproductiva al fotoperíodo. La persistencia de la ciclicidad estacional en animales pinealectomizados se debe, probablemente, a un ritmo endógeno anual, el mismo que es probablemente estimulado por indicadores alternativos (Arendt, 1986).

## 2.4. MELATONINA

### 2.4.1. Síntesis y liberación de melatonina.

La melatonina es una hormona secretada por la glándula pineal con un ritmo día-noche bien definido (Rollag y Niswender, 1976; Arendt, 1986; Chemineau et al., 1992 b). En ovinos y caprinos, los niveles plasmáticos diurnos son mínimos, generalmente indetectables (< 5 pg/ml), mientras que los niveles nocturnos son elevados, y varían de 100 a 500 pg/ml en los ovinos y de 50 a 150 pg/ml en los caprinos (Malpoux et al., 1987; Delgadillo y Chemineau, 1992). Este ritmo de secreción de melatonina es endógeno, ya que cuando los animales son mantenidos en obscuridad constante la secreción de melatonina sigue siendo rítmica, pero la duración del ciclo es diferente de 24 horas y no está sincronizado entre los animales (Ebling et al., 1988). Por lo tanto, la función de la luz sería la de ajustar este ritmo a un período de 24 horas, siendo los núcleos

supraquiasmáticos el reloj endógeno que controla la secreción de melatonina (Malpaux et al., 1997 a).

La duración de la secreción de niveles elevados de melatonina está determinada por la duración de la obscuridad sobre un período definido, dependiente de la especie (Chemineau et al., 1992 b; Lincoln, 1992; Arendt, 1998). En el ovino de latitudes altas (>40°), la duración de la secreción de melatonina se extiende aproximadamente 16 horas en un día corto (8 h luz y 16 h obscuridad, 8L: 16D), pero no va más allá en un período de obscuridad permanente, y se retrae a 8 horas en un día largo (16 h luz y 8 h obscuridad, 16L: 8D) (Arendt, 1986).

Es una característica del ovino exhibir un incremento en la secreción de melatonina tan pronto como las luces se apagan (dentro de 10 minutos), para animales mantenidos en cámaras de fotoperíodo artificial, y poco después de la puesta del sol para aquellos mantenidos en condiciones naturales (Malpaux et al., 1988 a). Los niveles nocturnos de melatonina varían ampliamente dependiendo de la especie. Así por ejemplo, el rango va de 100 a 500 pg/ml en el ovino, de 20 a 30 pg/ml en el cerdo y de 50 a 100 pg/ml en el hombre (Broadway et al., 1987; Paterson y Foldes, 1994). Así mismo se presentan diferencias en el transcurso de la noche, lo cual sugiere que esta hormona se secreta de manera pulsátil (Malpaux et al., 1987; 1988 b).

A pesar de la alta variabilidad en las concentraciones nocturnas de melatonina y de grandes diferencias en el nivel medio de melatonina entre animales (de 50 a 300 pg/ml), los coeficientes de repetibilidad de la amplitud y de la duración de la elevación nocturna de melatonina son medianamente altos (Chemineau et al., 1995).

La melatonina es sintetizada dentro de la glándula pineal, en la retina y, probablemente, en algunos otros sitios. En los mamíferos, prácticamente la totalidad de la melatonina que alcanza la circulación periférica proviene de la glándula pineal, y la pinealectomía conduce a una gran reducción, en muchos casos a concentraciones indetectables, de melatonina circulante (Arendt, 1998).

La secuencia de síntesis de melatonina en los pinealocitos incluye sucesivamente al triptofano, hidroxilación por la 5 hidroxilasa triptofano a 5-hidroxitriptofano, descarboxilación por la descarboxilasa a 5-hidroxitriptamina (serotonina), acetilación por la N- acetil transferasa a N-acetil serotonina (NAT) y metilación por la hidroxindol-o-metil transferasa a melatonina (Sugden, 1989). La transformación de triptofano en 5-hidroxitriptofano por la enzima hidroxilasa triptofano es una etapa limitante en la síntesis de melatonina, pero la regulación circadiana de la secreción de la hormona se realiza,

probablemente, a través de la enzima N-acetiltransferasa (NAT), que cataliza la transformación de serotonina en N-acetil serotonina (Malpaux et al., 1997 a). La actividad de la NAT se incrementa de 30 a 70 veces en la noche y, en muchas circunstancias, es la etapa limitante en la síntesis de melatonina (Klein et al., 1997).

El inicio de la oscuridad es seguido, a nivel pineal, por un rápido incremento en la liberación de noradrenalina proveniente de las terminaciones nerviosas que se originan en el ganglio cervical superior. La noradrenalina se une a los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$  y  $\beta_1$  del pinealocito, lo cual estimula un incremento del AMPc (Klein, 1985). El AMPc activa una proteína kinasa que estimula la actividad de la enzima N-acetil transferasa. En ovinos, trabajos recientes sugieren la existencia de un mecanismo de regulación de la secreción de melatonina independiente de la NAT, pero dependiente del calcio (Van Camp et al., 1991).

La melatonina llega a la circulación periférica a través de la vena de galiano que drena la glándula pineal. En el líquido cefalorraquídeo se encuentra en concentraciones 2 a 10 veces más elevadas que en la circulación periférica (Kanematsu et al., 1989; Shaw et al., 1989). Dado que el volumen del líquido cefalorraquídeo es bajo, la cantidad de melatonina liberada en este último representa solamente el 0.1 % del liberado en la sangre, aunque la importancia funcional de estos niveles altos es aún desconocida (Malpaux et al., 1997 a). El metabolismo de la melatonina se realiza en el hígado y en los riñones, donde se transforma en 6-hidroxi-melatonina, la cual es eliminada a través de la orina en forma de sulfato o glucuronato. La melatonina también es metabolizada en el cerebro a N-acetil-5-metoxikenurenamina (Hirata et al., 1974; Yu et al., 1993).

#### 2.4.2. Ontogenia de la liberación de melatonina.

Durante los últimos años se ha convenido que el feto está expuesto a un número de factores externos que le proveen información acerca del momento del día y de la duración del fotoperíodo. Existe evidencia de que el ritmo diario de melatonina materna es uno de estos factores, y que esta señal materna puede generar y estimular los ritmos circadianos fetales (Mc Millen et al., 1995). Varios estudios han puesto en evidencia la presencia de un ritmo de melatonina en la sangre del feto ovino, pero éste resulta de la secreción de melatonina materna, ya que la pinealectomía en la oveja preñada anula el ritmo de melatonina fetal (Yellon y Longo, 1988; Zemdegs et al., 1988).

Aunque parece que la melatonina materna no genera ni estimula el ritmo diario de las concentraciones de prolactina fetal, se ha demostrado que los cambios en la duración del fotoperíodo ambiental están asociados con cambios en las concentraciones de prolactina fetal (Bassett et al., 1988; Seron-Ferre et al., 1989). Las concentraciones de prolactina se incrementan después de la pinealectomía en la oveja preñada (Mc Millen et al., 1991). Por otra parte, cuando se aplica una infusión de melatonina durante el verano a borregas intactas preñadas, con la finalidad de inducir una duración invernal en las concentraciones de melatonina nocturna, se produce una reducción en las concentraciones plasmáticas de prolactina fetal y maternal (Bassett et al., 1989). Es claro entonces que hay una relación entre la duración del fotoperíodo externo, la duración de la secreción elevada de melatonina y las concentraciones circulantes de prolactina antes del nacimiento, pero es probable que la melatonina pueda actuar en un lugar extrahipotalámico, tal vez en la pars tuberalis, para controlar el ritmo estacional en la secreción de prolactina antes y después del nacimiento (Seron-Ferre et al., 1989; Ebling et al., 1989). Después del nacimiento se encuentra melatonina plasmática presente en la sangre (Kennaway et al., 1977; Claypool et al., 1989), pero el ritmo de liberación de acuerdo con el ciclo de luz-obscuridad no se establece sino hasta las 3 ó 4 semanas de edad (Nowak et al., 1990).

#### 2.4.3. Ciclo de luz-obscuridad y liberación de melatonina.

Muchos estudios en el ovino han demostrado que hay una estrecha relación entre la concentración de melatonina en la circulación periférica y el fotoperíodo prevalente. Los niveles de melatonina son bajos durante el día y altos en la noche y el período de secreción varía con la duración de la noche, por lo que la duración de la secreción difiere entre días largos y días cortos (Lincoln, 1992). Esto significa que el ritmo diurno de liberación de melatonina es la expresión de un ritmo circadiano que es sincronizado por el ciclo de luz-obscuridad (Malpaux et al., 1993 a). La explicación más simple para el control de la secreción de melatonina bajo un ciclo normal de luz-obscuridad (de 24 horas), es que la luz suprime la producción de melatonina y la confina al período de obscuridad (Lincoln, 1992).

Sin embargo, el fenómeno es mucho más complejo, tanto que se han usado hasta 3 diseños experimentales para explicar el control de la secreción de melatonina por el ciclo de luz-obscuridad: la exposición a luz u obscuridad constantes, cambio en la fase del ciclo de luz-obscuridad e interrupción de la noche por un pulso de luz (Malpaux et al., 1993 a).

La exposición de moruecos y ovejas a luz constante anula el ritmo de liberación de melatonina y la secreción ocurre esporádicamente; mientras que los animales expuestos a oscuridad constante continúan exhibiendo un patrón rítmico en la liberación de melatonina (Rollag y Niswender, 1976; Ebling et al., 1988; Ravault y Thimonier, 1988). Bajo oscuridad constante, el ritmo en la secreción de melatonina persiste por al menos 10 días dentro de un período que es menor de 24 horas, pero después de varias semanas se observa una gran variabilidad en el período del ritmo (Buttle, 1977; Ravault et al., 1989).

Estos resultados sugieren que el ritmo de secreción de melatonina es generado endógenamente por un oscilador que al parecer no está localizado en la glándula pineal en el ovino, sino más bien en el núcleo supraquiasmático (NSC). El efecto de exposición a un ciclo de luz-oscuridad de 24 horas es para ajustar ese ritmo endógeno a un período de 24 horas y para que el pico en la secreción de melatonina coincida con el período de oscuridad (Lincoln y Ebling, 1985; Malpoux et al., 1993 a). Sin embargo, en animales sometidos a períodos de luz-oscuridad más cortos o más largos que 24 horas, la liberación de melatonina es capaz de ajustarse a la duración de la noche después de cambios relativamente importantes en el ciclo de luz-oscuridad, entre 22 y 28 horas (English et al., 1988; Ravault et al., 1989). Es importante señalar que el ajuste de la liberación de melatonina a la noche de un ciclo de luz-oscuridad diferente de 24 horas, es mejor cuando los ciclos son mayores a 24 horas. Contrariamente, el adelanto o retardo son más aparentes cuando los ciclos de luz-oscuridad son menores a 24 horas (Malpoux et al., 1993 a). Así, la liberación de melatonina en ovejas expuestas a ciclos de 16 h luz y 16 h oscuridad (16L:16D) se ajusta totalmente a la oscuridad, mientras que en animales expuestos a 6 horas luz y 16 horas oscuridad (6L:16D), se observa un retardo de varias horas en el inicio de la liberación de melatonina (English et al., 1988).

Por otra parte, la luz de duración e intensidad suficientes suprime la producción de melatonina. La cantidad de luz requerida depende de la especie y del fotoperíodo ambiental. La exposición a luz extra o la interrupción de la noche por un pulso de luz ha sido un método adoptado para desfasar el ritmo circadiano de liberación de melatonina y para definir el papel del amanecer y del anochecer (Malpoux et al., 1993 a). El retardo del anochecer por 4 horas en ovejas expuestas inmediatamente después a oscuridad constante provoca un retardo similar en el momento de la reducción de la liberación de melatonina, lo cual sugiere un papel de la oscuridad para establecer el ritmo (Earl et al., 1990). Similarmente, la supresión del amanecer, por ejemplo el primer día cuando los

animales son transferidos a obscuridad constante, conduce a un retardo en la baja de la secreción de melatonina. Esto sugiere que la luz al amanecer inhibe directamente la liberación de melatonina (efecto de enmascaramiento), la cual podría restablecerse más tarde en armonía con el ritmo endógeno (Lincoln et al., 1985). Dependiendo del momento en que es colocado el pulso de luz en la noche, la liberación de melatonina puede restablecerse o no (Maeda et al., 1984; Earl et al., 1990). Así por ejemplo, los pulsos tempranos provocan un retardo en el inicio de la liberación de melatonina, mientras que los pulsos tardíos, cuando la liberación de melatonina no se restablece a pesar del retorno a la obscuridad, producen un adelanto del ritmo (Maeda y Lincoln, 1990). Sin embargo, se desconoce si en el ovino existen o no dos osciladores responsables del inicio y término de la liberación de la melatonina, como se ha postulado para el caso de la rata (Ilnerova y Vanecek, 1988).

#### 2.4.4. Participación de la melatonina en la estacionalidad reproductiva.

Está bien establecido que en un número de especies fotoperiódicas, incluyendo al ovino, la glándula pineal juega un papel importante en la transducción de la información fotoperiódica (Lincoln, 1979; Bittman et al., 1983 a). La duración de la secreción de melatonina es el parámetro crítico que codifica la longitud del día para la organización de los ritmos estacionales (Arendt, 1998).

Sin embargo, los pocos experimentos de inmunización contra melatonina en ovinos expuestos a condiciones naturales han dado resultados conflictivos en comparación con aquellos realizados en animales pinealectomizados tratados con melatonina. Bajo condiciones naturales, la inmunización contra melatonina en ovejas (Arendt et al., 1981) y en moruecos (Lincoln y Almeida, 1981) no produjo cambios manifiestos en la estacionalidad reproductiva. Las condiciones fotoperiódicas bajo las cuales se desarrollaron estos experimentos, son, probablemente, responsables de las discrepancias entre resultados. Bajo condiciones de fotoperiodo natural, la falta de una respuesta a la inmunización contra melatonina podría ser atribuida al hecho de que, en ausencia de percepción de cambios fotoperiódicos, otros factores ambientales (temperatura, factores sociales), podrían sincronizar la estación reproductiva (Daveau et al., 1994). Además, como se mencionó anteriormente, el ritmo endógeno anual de actividad reproductiva puede persistir aún cuando se realiza la pinealectomía o se suprime la información fotoperiódica (Legan y Karsch, 1983; Bittman et al., 1983 a).

La importancia de la participación de la melatonina en la mediación de la información fotoperiódica se demostró claramente mediante la administración exógena de la hormona, con lo cual fue posible reproducir los efectos de los días cortos en ovejas expuestas a días largos, así como los efectos del fotoperíodo en ovejas y cabras pinealectomizadas o ganglionectomizadas (Malpaux et al., 1993 a). En un ciclo de 16 horas luz y 8 horas oscuridad (16L:8D), la melatonina se secreta por un corto período, esto es 8 horas. Cuando se administra melatonina exógena, por vía oral o por inyección intramuscular, a la mitad de la fase de luz, se logra mantener elevados los niveles de melatonina hasta el inicio de la oscuridad, lo cual imita el perfil de día corto (mayor tiempo de secreción de melatonina) (Rollag et al., 1978; Kennaway y Seamark, 1980; Arendt et al., 1981). Este tratamiento aplicado por varias semanas cuando los animales están en días largos (durante el verano) induce una estimulación de la actividad reproductiva, esto es, un efecto de días cortos, tanto en ovejas (Kennaway et al., 1982/83; Arendt et al., 1983; English et al., 1986; Poulton et al., 1987) como en cabras (Chemineau et al., 1986). El mismo efecto puede lograrse por aplicación de melatonina exógena de liberación constante (implantes subcutáneos o dispositivos intravaginales o intraruminales), lo cual también resulta en una estimulación de la actividad reproductiva cuando se aplica a los animales durante días largos (Lincoln y Ebling, 1985; English et al., 1986; Poulton et al., 1987). Los tratamientos fotoperiódicos de días cortos pueden, de esta manera, ser reemplazados por tratamientos con melatonina, ya que el mantenimiento de niveles altos de melatonina imita el efecto de día corto (Chemineau et al., 1992 b). Sin embargo, para que estos tratamientos tengan éxito, es necesario que los animales hayan tenido la experiencia previa de un período de días largos antes del tratamiento con melatonina exógena (Arendt, 1998).

En borregas pinealectomizadas, en las cuales la melatonina endógena ha sido removida, la restauración de un perfil de melatonina característico de día corto por medio de infusiones diarias, puede inducir un incremento en la actividad de LH 40 a 50 días después de haberse iniciado el tratamiento. Contrariamente, la restauración de un patrón de melatonina característico de día largo inhibe la actividad de LH, aproximadamente 20 días después del inicio de las infusiones (Bittman et al., 1983 b; 1984). Estos efectos son independientes del régimen de luz al cual están sujetos los animales pinealectomizados. De esta manera, la melatonina sola provee un esquema apropiado, que es capaz de imitar los efectos del fotoperíodo sobre la actividad gonadotrópica de las ovejas

pinealectomizadas, ovariectomizadas y tratadas con un implante de estradiol (Chemineau et al., 1995).

La melatonina también está involucrada en el inicio de la pubertad. Así, en corderas que recibieron un implante de melatonina a una edad temprana (6 semanas), la pubertad se retrasa (Kennaway y Gilmore, 1984). En corderas expuestas a días cortos, excepto entre las 17 y 22 semanas, cuando se expusieron a días largos, la pubertad se presentó aproximadamente a las 35 semanas de edad. Cuando las corderas son ganglionectomizadas antes de la exposición a días largos, la pubertad se retrasa mucho más. Si la melatonina se infunde por 9 horas cada día durante 5 semanas y luego por 15 horas diarias, la pubertad se presenta aproximadamente a las 35 semanas de edad (Yellon y Foster, 1986).

#### 2.4.5. Parámetro crítico de la señal de melatonina.

¿Cómo codifica la melatonina la longitud del día?. Se han postulado 3 hipótesis sobre la característica del ritmo de secreción de melatonina que transmite la información fotoperiódica al eje reproductivo: La amplitud (diferencia entre los niveles nocturnos y diurnos), la fase (presencia de melatonina en un momento dado del día que coincida con un período de sensibilidad) o la duración de la secreción (tiempo con niveles elevados de melatonina) (Malpaux et al., 1987).

La hipótesis amplitud no ha recibido mucha consideración en el ovino por 2 razones. Primero, la elevación nocturna de melatonina es siempre obvia y bien definida, y los niveles medios nocturnos de melatonina no difieren entre días largos y cortos. Segundo, la amplitud es una característica altamente variable entre animales y, de este modo, no podría constituir una señal confiable (Malpaux et al., 1987).

La segunda hipótesis propone la existencia de una fase sensible a la melatonina, la cual es sincronizada por el ciclo de luz-obscuridad (Deveson et al., 1992). Un experimento con ovinos sugiere que la fase de secreción podría ser una característica importante del perfil de secreción de melatonina. En este estudio, las ovejas fueron expuestas a días cortos, en los cuales cada noche fue interrumpida por 1 hora de luz en la mitad del período de obscuridad, esto es 8 horas luz, 7 horas de obscuridad, 1 hora de luz y finalmente 8 horas de obscuridad (8L:7D:1L:8D). Todos los animales mostraron un respuesta de día largo (estimulación de la secreción de prolactina e inhibición de la actividad ovulatoria). Sin embargo, en estos animales el perfil de secreción de melatonina fue, ya sea monofásico

(7 horas durante la primera fase de la noche) o bifásico (7 u 8 horas durante ambas partes de la noche). Este segundo tipo de perfil es interesante con relación a la característica fase/duración, debido a que la única diferencia entre perfil de día corto y este segundo tipo de perfil, es la ausencia de melatonina durante 1 hora en la mitad de la noche (Ravault y Thimonier, 1988). Se necesita probar si esto podría ser una fase sensitiva durante la cual la presencia de melatonina induce una respuesta de día corto (Malpoux et al. 1993 a).

En otro estudio, las ovejas con pineal intacta fueron expuestas a ciclos de luz-obscuridad de 22 horas (16L:6D) o de 24 horas (18L:6D). Los dos ciclos de luz tuvieron la misma respuesta inhibitoria de la actividad reproductiva (English et al., 1988). La duración de la secreción de melatonina fue idéntica en ambos casos (aproximadamente 6 horas), mientras que su fase relativa al ritmo de sensibilidad pudo haber variado entre tratamientos (Malpoux et al., 1993 a). Estos datos sugieren que es la duración y no la coincidencia con una fase sensitiva, el parámetro crítico para la codificación de la señal de melatonina (English et al., 1988).

Rollag et al. (1978) analizaron las características del perfil diario de liberación de melatonina en ovinos bajo condiciones naturales en diferentes épocas del año. Ellos observaron un cambio estacional significativo en la duración del pico nocturno de melatonina, el cual está inversamente correlacionado con el cambio en la longitud del día y concluyeron que la duración del período de secreción de melatonina es el parámetro crítico que transmite los efectos del fotoperíodo para influenciar los sistemas neuroendocrinos (Lincoln, 1992).

Otros resultados obtenidos en el ovino son más compatibles con la hipótesis de duración de la secreción de melatonina. La principal diferencia entre un perfil de melatonina de día corto y uno de día largo, radica en la duración de la secreción, siendo la duración de la secreción de cantidades elevadas de la hormona proporcional a la longitud de la noche (Malpoux et al., 1987). Karsch et al. (1984) han demostrado el papel crítico de la duración de la secreción de melatonina en las respuestas reproductivas. En estos experimentos, las ovejas pinealectomizadas (sin melatonina endógena) fueron tratadas con infusiones de melatonina por diferentes períodos cada día para imitar el patrón fisiológico de secreción. Los animales también fueron ovariectomizados e implantados con estradiol para eliminar cambios en los ejes gonadales. Estos estudios han mostrado que las infusiones de melatonina de corta duración (8 horas) aplicadas diariamente por varias semanas, suprimen la secreción de LH como ocurre en los animales control en días

largos (Bittman et al., 1983 b; Bittman y Karsch, 1984), mientras que las infusiones de larga duración (16 horas) tienen el efecto inverso (Yellon et al., 1985). Por otra parte, Wayne et al. (1988) han demostrado que el momento del día cuando la melatonina es administrada no afecta la respuesta biológica. El período de exposición continua a melatonina es el parámetro crítico (Lincoln, 1992).

De esta manera, la mayoría de los resultados disponibles en ovinos sugieren que un ritmo de sensibilidad a melatonina sincronizado por el ciclo de luz-obscuridad, no es un componente esencial de la respuesta fotoperiódica. Por lo tanto, parece razonable asumir que la duración es la característica crítica del ritmo de secreción de melatonina (Malpaux et al., 1993 a).

#### 2.4.6. Melatonina y fotorefractariedad.

Ya sea que la característica crítica del perfil de secreción de melatonina sea su fase o su duración, esto no es absoluto. Se ha demostrado en varias situaciones fisiológicas que los perfiles de melatonina de la misma duración y de la misma fase, pueden estar relacionados con diferentes respuestas reproductivas (Malpaux et al., 1993 a). Steinlecher y Niklowitz (1992) han sugerido que la hipótesis de duración y la hipótesis de coincidencia no son mutuamente excluyentes. Un incremento en la duración de la secreción de melatonina aumenta la probabilidad de que este pico se traslade para coincidir con una fase sensitiva.

Por otro lado, el ovino expuesto a un fotoperíodo dado por un tiempo prolongado pierde su capacidad de respuesta reproductiva, una condición conocida como fotorefractariedad (Malpaux et al., 1987). Se han planteado dos hipótesis con relación a la participación de la melatonina en el desarrollo de fotorefractariedad: La primera hipótesis postula que la pérdida de respuesta a un fotoperíodo dado podría ser causado por un cambio en la generación de la señal de melatonina, de tal modo que su relación con el ciclo de luz-obscuridad es diferente de aquél en el ovino fotosensible (Malpaux et al., 1987). Los datos relativos a esta hipótesis son contradictorios. Almeida y Lincoln (1984) observaron una alteración en el patrón secretorio de melatonina en el ovino fotorefractario, mientras que otros autores no encontraron ninguna modificación (Karsch et al., 1986; Malpaux et al., 1987). La ausencia de un cambio en el patrón secretorio de melatonina a medida que las ovejas pierden su capacidad de respuesta al fotoperíodo, es consistente con observaciones anteriores que sugieren que la causa de la fotorefractariedad radica en el

procesamiento pospineal del mensaje fotoperiódico (Malpaux et al., 1987), y soportan la segunda hipótesis sobre el origen de la fotorefractariedad.

Esta segunda hipótesis postula que la fotorefractariedad puede ser causada por un cambio en la respuesta a una señal de melatonina que permanece inalterable (Malpaux et al., 1987). La segunda hipótesis es apoyada en el ovino, por los siguientes hallazgos: Primero, no existe evidencia de modificación en el patrón de secreción de melatonina cuando la oveja se vuelve refractaria a días cortos o a días largos (Malpaux et al., 1987). Los resultados de estos autores mostraron que la duración de la secreción de melatonina fue cercana a 8 horas en días largos (16 h luz y 8 h oscuridad, 16L:8D) y a 15 horas en días cortos (8 h luz y 16 h de oscuridad; 8L:16D), y la fase relativa al ciclo luz-oscuridad no cambió, ya sea que las borregas fueran fotosensibles o fotorefractarias (Malpaux et al., 1987; 1988 b). Segundo, las ovejas tratadas con melatonina para imitar un perfil de día corto muestran una respuesta típica a día corto después de 50 días y luego una disminución en la concentración de LH después de 120 a 150 días, característica típica del desarrollo de refractariedad a días cortos (Malpaux et al., 1987). De esta manera, la refractariedad a un perfil artificial de melatonina de día corto se desarrolla en la misma forma que la refractariedad a un fotoperíodo de día corto, y este es un fenómeno que no implica cambios en el patrón de secreción de melatonina (Malpaux et al., 1987). Esto sugiere que los mecanismos responsables de la refractariedad son de origen nervioso (Malpaux et al., 1997 b). Esto tiene dos implicaciones: Primero, como la refractariedad en la oveja es probablemente la expresión de fases particulares de un ritmo endógeno, la glándula pineal y su secreción de melatonina no pueden ser parte de ese reloj anual. Segundo, la interpretación de un perfil de melatonina puede cambiar en el tiempo (Malpaux et al., 1993 a). Así, Karsch et al. (1986) demostraron que la infusión prolongada de un patrón inductivo de melatonina en ovejas pinealectomizadas se vuelve inefectivo en el tiempo para mantener la función reproductiva.

Esto también ha sido demostrado en estudios realizados tanto en el hamster como en el ovino, en los que la misma señal de melatonina fue capaz de desencadenar respuestas diferentes, en función de la naturaleza de la exposición previa a melatonina. Así por ejemplo, la transferencia de hamsteres de un fotoperíodo corto (8 h luz y 16 h oscuridad, 8L:16D) a uno intermedio (12 h luz y 12 h oscuridad, 12L:12D) conduce a la percepción del fotoperíodo intermedio como un día largo; mientras que la transferencia de un fotoperíodo largo (16 h luz y 8 h oscuridad, 16L:8D) a uno intermedio (12L:12D) conduce a la percepción de este último como un día corto (Hastings et al., 1989). Similarmente, en

ovejas ovariectomizadas y tratadas con estradiol, mantenidas inicialmente en 16 horas luz y 8 horas oscuridad (16L:8D) y luego transferidas a 13 horas luz y 11 horas oscuridad (13L:11D) se observa una estimulación de la actividad gonadotrópica. Contrariamente, en ovejas mantenidas inicialmente en 10 horas luz y 14 horas oscuridad (10L:14D) y luego transferidas a 13 horas luz y 11 oscuridad (13L:11D), se observa una inhibición de la actividad gonadotrópica (Robinson y Karsch, 1987). Por consiguiente, la misma señal fotoperiódica (13L:11D) puede ser inhibitoria o estimuladora dependiendo del fotoperíodo previo al cual los animales estuvieron expuestos.

Se concluye que la historia fotoperiódica es importante en la interpretación de la señal de duración de la secreción de melatonina (Arendt, 1998). No es la duración absoluta, sino más bien el cambio relativo en la duración de la secreción de melatonina nocturna, el responsable de la transmisión de la información fotoperiódica al eje reproductivo (Deveson et al. 1992).

#### 2.4.7. Sitios de acción de la melatonina.

Aunque la melatonina actúa en diferentes niveles del eje reproductivo, su principal acción involucra eventos dentro del sistema nervioso central, y específicamente dentro del hipotálamo (Malpoux et al., 1996). En todas las especies estudiadas hasta hoy (fotoperiódicas y no fotoperiódicas) se ha reportado una alta densidad de receptores a melatonina en la pars tuberalis (PT) de la adenohipófisis (de Reviers et al., 1989; Morgan et al., 1989; Bittman y Weaver, 1990; Bittman, 1993). Estas observaciones habían sugerido que el principal sitio de acción de la melatonina era la pars tuberalis; sin embargo, la inserción de microimplantes de melatonina en el complejo hipotálamo-hipófisis en ovejas ovariectomizadas y tratadas con un implante de estradiol, demostró que la pars tuberalis no era el "órgano blanco" para la acción reproductiva de la melatonina. Así por ejemplo, los microimplantes de melatonina colocados inicialmente en las áreas hipotalámicas y perihipotalámicas específicas demostraron que es sólo en el hipotálamo mediobasal donde la melatonina es eficiente para inducir una modificación de la secreción pulsátil de LH. Contradictoriamente, en este lugar se ha reportado una baja densidad de receptores a melatonina (Bittman y Weaver, 1990; Chabot et al., 1994). Lincoln y Maeda (1992) colocaron microimplantes en el área preóptica y en el hipotálamo mediobasal de machos Soay mantenidos en días largos inhibitorios (16 h luz y 8 h oscuridad). Todos los animales con implantes en el hipotálamo mediobasal respondieron

con un incremento en la secreción de FSH y con un adelanto en el crecimiento testicular. Por su parte, Malpoux et al. (1993 b), trabajando con ovejas ovariectomizadas y tratadas con estradiol mantenidas en fotoperíodo largo (16 h luz y 8 h oscuridad), encontraron que los microimplantes colocados en el área preóptica o en el hipotálamo anterior no tuvieron efecto sobre la secreción plasmática de LH; mientras que 7 de 12 animales con implantes en el hipotálamo mediobasal respondieron con un incremento en la secreción de LH, aproximadamente después de 40 días.

Por otro lado, ni la liberación directa de melatonina en la pars tuberalis, ni la colocación de microimplantes directamente contra la cara anterior de la pars tuberalis o en la pars tuberalis misma modificó la secreción de LH en ovejas (Malpoux et al., 1994; 1995).

Estos estudios han sugerido que el hipotálamo mediobasal, y no la pars tuberalis, es el sitio más importante de acción de la melatonina para traducir los efectos de esta hormona sobre el eje reproductivo (Malpoux et al., 1997 b). Sin embargo, es importante resaltar que los microimplantes ubicados en el hipotálamo mediobasal producen una estimulación de la secreción de LH en sólo el 50 % de la borregas, lo cual sugiere que en el ovino los sitios fisiológicos de acción de la melatonina pueden no estar localizados en el hipotálamo mediobasal, sino más probablemente en un área circundante a él, que es alcanzada por la difusión de melatonina proveniente de los microimplantes del hipotálamo mediobasal (Malpoux et al., 1993 b; 1995).

Recientemente, Malpoux et al. (1998) han encontrado evidencias de que la melatonina actúa en el área hipotalámica premamilar para controlar la reproducción en la oveja. Los mencionados autores han llegado a dos conclusiones referente a los sitios de acción de la melatonina. Primero, la densidad de los receptores a melatonina no es uniforme en el hipotálamo de la oveja, y un área discreta de más alta densidad es detectable en el hipotálamo premamilar. Segundo, la melatonina dada por medio de microimplantes es capaz de estimular la secreción de LH sólo si la liberación se produce en el área premamilar o cerca de ella, lo que no sucede cuando la liberación de melatonina se produce en la parte más rostral del hipotálamo (Malpoux et al., 1998).

Estos resultados contrastan con estudios anteriores que mostraban que los microimplantes colocados en el hipotálamo mediobasal podían estimular la secreción de LH en sólo el 50 % de los animales (Malpoux et al., 1993 b; 1995). Este es el primer estudio de identificación de un lugar hipotalámico específico con presencia de receptores y con acción de la melatonina sobre la secreción de LH; lo cual sugiere fuertemente que el área hipotalámica premamilar es un importante sitio para la acción de la melatonina sobre

la secreción de LH (Malpaux et al., 1998). El siguiente paso, y fundamental, será la identificación de las “células blanco” de la melatonina dentro de esa área.

Aunque la pars tuberalis no parece ser el sitio de acción de la melatonina sobre la secreción de LH, a pesar de su alta densidad de receptores, si puede ser responsable, al menos en parte, de los cambios estacionales en la secreción de prolactina. La colocación de microimplantes en la pars tuberalis causó una supresión de los niveles de prolactina similar a la obtenida con implantes en el hipotálamo mediobasal (Malpaux et al., 1995). Por otro lado, la desconexión hipotálamo-hipófisis no impidió los cambios estacionales en la secreción de prolactina, y la melatonina fue aún capaz de inhibir la secreción de prolactina; lo cual sugiere que, en contraste a su acción sobre el eje reproductivo, el efecto de la melatonina sobre la secreción de prolactina podría ser mediado directamente a nivel de hipófisis, posiblemente en la pars tuberalis (Malpaux et al., 1997 b).

#### 2.4.8. Mecanismo de acción de la melatonina

El efecto final de la melatonina es la modificación de la secreción pulsátil de LHRH a nivel hipotalámico (Viguié et al., 1995 a), lo cual a su vez ocasiona cambios en la frecuencia de liberación de LH a nivel hipofisiario (Bittman et al., 1985). Este efecto podría ser suficiente por sí mismo para explicar la regulación de la estacionalidad reproductiva en el ovino (Malpaux et al., 1993 a). Así por ejemplo, en ovejas ovariectomizadas y tratadas con un implante de estradiol y expuestas a días largos, se observa una baja frecuencia de pulsos de LHRH (aproximadamente 1 cada 6 horas); pero después de la aplicación de un implante de melatonina para imitar el efecto de días cortos, la frecuencia de pulsos de LHRH se incrementa aproximadamente a 10 cada 6 horas (Viguié et al., 1995 a). Sin embargo, los mecanismos por los cuales la melatonina ejerce su acción sobre el sistema generador de pulsos de LHRH no son del todo conocidos.

Malpaux et al. (1989) han demostrado que la transición de la estación reproductiva a la de anestro y viceversa resulta de efectos inhibitorios y estimulatorios; sin embargo, el conocimiento de la participación del sistema nervioso central en la regulación estacional, está mayormente relacionado con efectos inhibitorios. Así, Goodman y Meyer (1984) demostraron que la anestesia con pentobarbital en ovejas anéstricas provocó un incremento de los pulsos de LH, lo cual sugiere que la inhibición es un fenómeno nervioso activo. Un poco más tarde, Meyer y Goodman (1985) demostraron que la inhibición gonadotrópica es de naturaleza catecolaminérgica, ya que el uso de antagonistas  $\alpha$

adrenérgicos (dibenamina o phenoxibenzamina) o dopaminérgicos (pimozida o flufenazida) en ovejas en anestro estacional podía suprimir estos efectos inhibitorios.

Es importante mencionar que el intervalo que se observa entre el inicio de un tratamiento con días cortos y la estimulación de la secreción de LH en la oveja, es el mismo que entre el inicio de un tratamiento con melatonina y la estimulación de la secreción de LHRH, lo que demuestra que los mecanismos responsables de este intervalo son de origen nervioso (Malpaux et al., 1997 a).

Las siguientes evidencias sugieren que la melatonina no actúa directamente sobre las neuronas LHRH. En primer lugar, una gran proporción de las neuronas productoras de LHRH (60%) está localizada en el área preóptica del hipotálamo (Advis et al., 1985), mientras que sólo una proporción mínima (15%) está localizada en el hipotálamo mediobasal (Caldani et al., 1988). Estas diferentes neuronas se proyectan hacia el interior de la eminencia media para liberar LHRH en el sistema porta hipotálamo-hipofisiario. La falta de receptores a melatonina y de acción de los microimplantes de melatonina en la región septopreóptica del hipotálamo, sugiere que la acción de la melatonina sobre las neuronas LHRH es indirecta e implica la mediación de interneuronas y neurotransmisores (Malpaux et al., 1993 a). En segundo lugar, el largo retardo entre el inicio del tratamiento con melatonina y la manifestación de la respuesta en términos de LHRH o LH (40 a 50 días en la oveja, 15 días en el morueco; Karsch et al., 1984; D'Occhio et al., 1984), sugiere una regulación mucho más compleja.

Diversos estudios neurofarmacológicos han mostrado que la inhibición de la secreción de LH involucra la activación de los sistemas catecolaminérgicos del área preóptica y del hipotálamo mediobasal por el estradiol durante el anestro. Dentro del hipotálamo mediobasal la estructura más importante parece ser la región retroquiasmática, donde se encuentra el núcleo dopaminérgico A15 (Thiéry et al., 1995), y la eminencia media, la cual contiene los axones terminales de las neuronas de GnRH que controlan la liberación pulsátil de LH (Thiéry y Martin, 1991).

El núcleo A15 parece ser la estructura dopaminérgica clave involucrada en la mediación de los efectos inhibitorios del estradiol durante los días largos, ya que la lesión neurotóxica de esta estructura durante el anestro causó un incremento en la secreción de LH (Thiéry et al., 1989).

El efecto inhibitorio de la dopamina sobre la secreción de LH ha sido demostrado convenientemente por Meyer y Goodman (1985), quienes indujeron un incremento temporal en la secreción de LH en ovejas anéstricas después de la aplicación sistémica

de un antagonista de la dopamina (pimozida). El pimozida causó el mismo efecto en ovejas ovariectomizadas e implantadas con estradiol inhibidas por exposición a días largos (le Corre y Chemineau, 1993).

Otra estructura involucrada en la integración de la señal de melatonina es la eminencia media. Thiéry, (1991) ha demostrado que la exposición a días cortos reduce la actividad dopaminérgica en la eminencia media, medida por una reducción en el contenido de dopamina y en la actividad de la tiroxina hidroxilasa (enzima limitante en la síntesis de dopamina).

El efecto del fotoperíodo sobre la actividad de la tiroxina hidroxilasa es mediado por la melatonina, y los cambios en la actividad dopaminérgica dentro de la eminencia media están relacionados con la modificación de la secreción de LH más que con la secreción de prolactina (Thiéry et al. 1995). Así por ejemplo, el acortamiento abrupto en la longitud del fotoperíodo (de 16 h luz a 8 h luz en un período de 24 horas), induce una reducción en la secreción de prolactina aproximadamente 10 días después de iniciado este tratamiento luminoso; mientras que un incremento en la secreción pulsátil de LH sólo ocurre después de 40 a 50 días (Thiéry, 1991). Por su parte Vigié et al. (1994) midieron la actividad de la tiroxina hidroxilasa in vitro en la eminencia media de ovejas ovariectomizadas portando un implante de estradiol y sacrificadas durante días largos constantes, o después de 6, 24 o 74 días cortos. Estos autores encontraron que, la actividad de la tiroxina hidroxilasa sólo disminuyó después de 74 días cortos, cuando la inhibición de la secreción pulsátil de LH desapareció, y no a los 24 días, cuando la secreción de prolactina disminuyó.

Estos hallazgos sugieren que la reducción de la actividad de la tiroxina hidroxilasa en la eminencia media es parte crítica del efecto estimulador de la melatonina sobre la producción de LHRH (Malpoux et al., 1997 b). Sin embargo, la participación de la tiroxina hidroxilasa parece ser independiente del estradiol, ya que los cambios fotoperiódicos en la actividad de esta enzima son similares en ovejas ovariectomizadas tratadas o no tratadas con estradiol (Vigié et al., 1996).

Además de la dopamina, otros neurotransmisores han sido implicados en los cambios estacionales de la reproducción. Dentro de los principales se puede mencionar a la serotonina, ya que la aplicación de un antagonista serotoninérgico (Cyproheptidina) produjo una aguda liberación de LH en ovejas ovariectomizadas tratadas con días largos inhibitorios. Esto sugiere que la serotonina podría ser responsable de la inhibición de la secreción de LH independiente de esteroides gonadales (Meyer y Goodman, 1986; Wishnant y Goodman, 1990; Thiéry et al., 1995).

Por otro lado, se ha reportado que los aminoácidos excitatorios como el glutamato, aspartato, y otros pueden estar involucrados en la regulación de la secreción de LH por la melatonina (Lincoln y Wu, 1991; Vigié et al., 1995; Gallegos-Sánchez et al., 1996).

Similarmente, existen evidencias que involucran a las hormonas tiroideas (tiroxina) en las variaciones estacionales en la secreción de LH. Por un lado, la tiroidectomía en ovejas (Moenter et al., 1991) y en moruecos (Parkinson y Follett, 1994), anuló las variaciones estacionales en la actividad reproductiva. Por otro lado, la administración de tiroxina restableció la expresión del ritmo de secreción de gonadotropinas (Webster et al., 1991).

Mucho se ha aprendido sobre los mecanismos de acción de la melatonina sobre el eje reproductivo, pero es indudable que aún se desconocen muchos aspectos. La identificación y caracterización de los principales circuitos nerviosos responsables de la descodificación de la duración de la señal de melatonina será un paso crítico en el entendimiento de la regulación de la reproducción estacional.

## 2.5. PROLACTINA Y ESTACIONALIDAD

La mayoría de los mamíferos de reproducción estacional exhiben marcadas variaciones estacionales en las concentraciones plasmáticas de prolactina, con niveles altos en verano y bajos en invierno. Este perfil estacional es causado por cambios en el fotoperíodo. Los días largos estimulan la secreción de prolactina, en tanto que los días cortos tienen el efecto opuesto (Curlewis et al., 1995).

Bajo condiciones ambientales naturales, existe un robusto ritmo circanual en las concentraciones circulantes de prolactina en el ovino, tanto en la hembra (Thimonier et al., 1978; Munro et al., 1980; Jackson y Jansen, 1991) como en el macho (Pelletier, 1973; Ravault, 1976). El perfil de secreción de prolactina también es afectado por alternancia de fotoperíodos artificiales largos (16 h luz y 8 h oscuridad) y fotoperíodos cortos (8 h luz y 16 h oscuridad) (Forbes et al., 1975; Brown y Forbes, 1980; Lincoln y Short, 1980; Lincoln et al., 1982). Similarmente, los niveles plasmáticos se ven afectados por fotoperíodos cortos interrumpidos por un pulso de luz en la noche (Ravault y Ortavant, 1977). En este último caso, los animales responden como si estuvieran expuestos a días largos, esto es, con inhibición de la actividad ovulatoria y estimulación de la secreción de prolactina.

Las variaciones estacionales en la secreción de prolactina también han sido observadas en caprinos (Buttle, 1974; Muduuli et al., 1979) y en bovinos (Koprowski et al., 1973;

Schams y Reinhardt, 1974). Los cerdos domésticos no muestran variaciones significativas en las concentraciones plasmáticas de prolactina a través del año (Ravault et al., 1982); sin embargo, los cerdos salvajes muestran un ritmo estacional en la secreción de prolactina (Ravault et al., 1982). Las variaciones estacionales en la secreción de prolactina son más evidentes en especies como el ovino, que tiene una estación reproductiva bien definida, que en el cerdo doméstico, el cual se reproduce todo el año y muestra muy poca o ninguna fluctuación en los niveles de prolactina. Esto puede indicar que la domesticación ha afectado las variaciones estacionales manifiestas que existen en el cerdo salvaje (Ortavant et al., 1985).

### 2.5.1. Prolactina y estacionalidad reproductiva.

El comportamiento estacional en la secreción de prolactina ha sido descrito en un amplio rango de especies y han habido muchos intentos de relacionarlo con la reproducción estacional, así como también con otras características estacionales, como el crecimiento del pelaje y el ciclo de muda (Curlewis, 1992).

Muchos autores han sugerido que los cambios en las concentraciones de prolactina, mediados por el fotoperíodo, podrían tomar parte en el control fotoperiódico de la estacionalidad reproductiva en el ovino (Walton et al., 1977; Lincoln et al., 1978). Estos autores basaron sus afirmaciones en la relación inversa que existe entre las concentraciones de prolactina y la actividad reproductiva en varias razas de ovinos. Sin embargo, existen argumentos para rechazar esta hipótesis. Algunas razas de ovinos como la Dorset Horn, Merino y la oveja Pelibuey de México, empiezan a ciclar alrededor del solsticio de verano (Yeates, 1956; Webster y Haresign, 1983; Porras et al., 1996), es decir, poco antes de que el fotoperíodo comience a disminuir, cuando las concentraciones de prolactina son las más altas.

Asimismo, Worthy y Haresign (1983) y Worthy et al. (1985) han encontrado evidencia de que, tanto el inicio del anestro estacional como el de la estación reproductiva en el ovino pueden ser independientes de las concentraciones de prolactina plasmática. De hecho, estos autores han demostrado que en ovejas Dorset Horn (estación reproductiva larga) y Welsh Mountain (estación reproductiva corta), el inicio de la actividad cíclica ocurre en presencia de altas concentraciones de prolactina, lo cual sugiere que es improbable que la prolactina sea un factor determinante en el momento del inicio de la estación reproductiva.

### 2.5.2. Control neuroendócrino de la secreción de prolactina

El fotoperíodo es el principal factor ambiental que controla el patrón estacional de la secreción de prolactina. Los días largos incrementan las concentraciones de prolactina, mientras que los días cortos las disminuyen (Pelletier et al., 1973; Lincoln et al., 1978). En los mamíferos, la información luminosa es captada por la retina y convertida en una señal hormonal por la glándula pineal, esto es la secreción nocturna de melatonina (Curlewis, 1992). La denervación de la glándula pineal destruye la habilidad del fotoperíodo para influenciar la secreción de prolactina (Lincoln, 1979; Lincoln et al., 1989), mientras que los continuos tratamientos con melatonina o la administración de melatonina para imitar días cortos, inhiben la secreción de prolactina (Goldman et al., 1979; Kennaway et al., 1982; Poulton et al., 1987). Además, la inmunización contra melatonina puede modificar la influencia de los cambios fotoperiódicos artificiales sobre la secreción de prolactina (Daveau et al., 1994).

Diversos experimentos para estudiar la respuesta de microimplantes localizados en el hipotálamo sugieren que la señal de melatonina es detectada e interpretada en el hipotálamo mediobasal (Malpoux et al., 1993 b). Curlewis et al. (1995) han propuesto que la señal de melatonina estimula las células dopaminérgicas que se proyectan al núcleo hipotalámico ventromedial. La liberación de dopamina cerca de receptores D1 en esta área, activa una población de neuronas que estimulan (directa o indirectamente) la secreción de un factor liberador de prolactina o inhiben la secreción de un factor inhibidor de la secreción de prolactina.

El incremento de la actividad dopaminérgica bajo días largos podría estar ligado a la secreción de prolactina, vía efectos sobre los receptores dopaminérgicos D1 a nivel central. Curlewis et al. (1994) han demostrado que los receptores dopaminérgicos D1 están *relacionados positivamente con la secreción de prolactina* y que este efecto es mediado vía el hipotálamo y no directamente a nivel de hipófisis.

La infusión de antagonistas a receptores D1 en el núcleo hipotalámico ventromedial suprime las concentraciones de prolactina, mientras que las infusiones en otros lugares no tienen ningún efecto (Curlewis et al., 1995). Además, la desconexión de la hipófisis del control directo del hipotálamo no anula la influencia del fotoperíodo sobre la secreción de prolactina (Lincoln y Clarke, 1994).

Estos hallazgos soportan la hipótesis de que la secreción de prolactina es estimulada a nivel central vía receptores dopaminérgicos hipotalámicos D1 (Curlewis et al. 1994), mientras que su inhibición se lleva a cabo por la dopamina a nivel de hipófisis, probablemente en la pars tuberalis (Curlewis, 1992; Malpaux et al., 1995).

## 2.6. ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA EN LA OVEJA PELIBUEY

### 2.6.1. Estacionalidad de la actividad cíclica en la oveja Pelibuey.

Está suficientemente demostrado que en latitudes altas ( $> 40^\circ$ ) muchas razas de ovinos exhiben un fuerte patrón estacional en su actividad reproductiva (Yeates, 1949; Hafez, 1952). En contraste, las razas ovinas mediterráneas que se desarrollaron en climas más moderados, tienden a ser menos estacionales en su comportamiento reproductivo (Pineda, 1991). En latitudes tropicales o subtropicales, la estacionalidad de la actividad reproductiva está grandemente reducida y en algunos casos, ausente (Chemineau et al., 1995).

La aparente falta de estacionalidad reproductiva en el ovino Pelibuey proviene de estudios iniciales sobre su comportamiento reproductivo realizados en México (Ruiz, 1966; Castillo et al. 1972; Berruecos et al., 1975; Valencia et al., 1975; Gonzalez-Reyna, 1977). En su momento, estos autores manifestaron que la oveja Pelibuey no presentaba estacionalidad reproductiva, siendo capaz de reproducirse en cualquier época del año. Posteriormente, se introdujo el concepto de actividad estral reducida durante los meses de marzo a junio (Álvarez et al., 1990; González et al., 1992; Cruz et al., 1994) atribuible, según los autores, a factores ambientales diferentes al fotoperíodo, considerando a las deficiencias nutricionales como la principal causa de esta reducción del estro.

Sin embargo, en la actualidad existen evidencias que indican que la disminución de la actividad estral en la oveja Pelibuey en algunas épocas del año es independiente del estado nutricional de la borrega. Así, Valencia et al. (1981) observaron una disminución de la presentación de estros entre los meses de enero a abril en ovejas Pelibuey alimentadas uniformemente por 3 años consecutivos. Por su parte, Heredia et al. (1991 a; 1991 b) encontraron que en ovejas Pelibuey mantenidas con alimentación controlada a lo largo de 3 años consecutivos, se produjo una disminución de la actividad estral desde fines de enero hasta fines de mayo, período durante el cual, la manifestación del estro

alcanzó su punto más bajo (15%), mientras que en el período de agosto a diciembre la actividad estral llegó a su valor más alto (90%). Estos autores confirmaron que la actividad sexual en la oveja Pelibuey disminuye significativamente durante la primavera, independientemente del nivel de nutrición, del peso o de la condición corporal.

González-Reyna et al. (1990) trabajando con ovejas Pelibuey mantenidas en pastoreo y suplementadas durante todo el año, informaron una disminución de su actividad ovárica coincidente con el final del invierno y comienzos de la primavera.

Por su parte, González et al. (1992) encontraron que las ovejas Pelibuey alimentadas con una dieta de mantenimiento disminuyen significativamente la frecuencia de presentación de estros de febrero a abril, atribuyendo este efecto a factores como la temperatura y la humedad.

Recientemente, Martínez (1998) ha encontrado que bajo condiciones de pastoreo en el trópico húmedo mexicano, la oveja Pelibuey disminuye su actividad ovárica durante los meses de primavera, a pesar de que en ese período se registraron los mejores pesos y la mejor condición corporal en las ovejas, lo cual sugiere que la reducción en la actividad ovárica no está influenciada por deficiencias nutricionales.

La época del año también afecta a otras características reproductivas. Así, Cruz et al. (1994) encontraron una mayor tasa de ovulación en el otoño que en la primavera, y las ovejas que fueron servidas de agosto a octubre presentaron porcentajes mayores de partos gemelares, que aquellas apareadas en otras épocas del año (CEIEGT, 1981; 1982). Estos hallazgos fueron relacionados con las diferencias nutricionales bajo las que ocurrieron los empadres. Sin embargo, White et al. (1987/88) encontraron que la suplementación alimenticia un mes antes del empadre no incrementó la tasa de ovulación, ni el índice de prolificidad en la oveja Pelibuey. Por su parte, Cortés (1993), en ovejas Pelibuey mantenidas en alimentación constante a través de todo el año, no encontró diferencias en los índices de prolificidad entre las diferentes épocas de parto, pero sí encontró importantes efectos de la época del año sobre el reinicio de la actividad ovárica posparto.

#### 2.6.2. Efecto del fotoperíodo artificial sobre la actividad ovárica de la oveja Pelibuey.

La manipulación artificial de los ciclos de luz-obscuridad en los ovinos productores de lana ha demostrado categóricamente el efecto del fotoperíodo como agente sincronizante de la actividad reproductiva (Yeates, 1949; Thwaites, 1965; Mauléon y Rougeot, 1962;

Lindsay et al., 1984; Karsch et al., 1984; D'Occhio et al., 1984; Lincoln, 1979). Sin embargo, en la oveja Pelibuey no se habían realizado estudios para evaluar el efecto directo del fotoperíodo artificial o de la latitud sobre la actividad reproductiva de esta especie animal.

Porras et al. (1996) fueron los primeros en exponer a las ovejas Pelibuey a tratamientos de fotoperíodo artificial. Estos autores, usando fotoperíodos alternos de 90 días largos (16 h luz y 8 h oscuridad) y 90 días cortos (8 h luz y 16 h de oscuridad), encontraron que las ovejas Pelibuey presentaban períodos alternos de descanso y actividad sexuales, medidos a través de niveles plasmáticos de progesterona, indicativos de ovulación. Los animales así tratados presentaron dos períodos de actividad cíclica y dos de anestro en el lapso de un año. Estos hallazgos demostraron que la oveja Pelibuey es capaz de responder al efecto del fotoperíodo artificial; sin embargo, es necesario recalcar que el trabajo fue realizado con cambios abruptos en la duración del fotoperíodo, y con 8 horas de diferencia entre días largos y días cortos, lo cual no corresponde con lo que sucede en la realidad en la latitud de México, en donde existe una diferencia máxima de 2 horas y 12 minutos entre el día más largo y el día más corto del año (Muhlia y Chávez, 1980), por lo que no es posible afirmar que esta misma respuesta se produzca bajo cambios graduales en la duración del día como ocurre en esta latitud.

### 2.6.3. Estacionalidad del reinicio de la actividad ovárica posparto en la oveja Pelibuey.

La involución uterina en la oveja Pelibuey se completa entre los 25 y 30 días después del parto (González-Reyna, 1983) tal y como ocurre en el ovino de lana (Ainsworth et al., 1982). En términos generales, las ovejas Pelibuey ovulan rápidamente después del parto, de 20 a 30 días en promedio, pero el primer estro posparto ocurre un poco después, 40 a 55 días aproximadamente (Martínez et al., 1980; González-Reyna, 1983; Perón et al., 1991; Cortés, 1993; Álvarez, 1996). Estos datos sugieren que antes del primer estro posparto en la oveja Pelibuey ocurren uno o más ciclos luteales que no están acompañados de comportamiento estral.

La ovulación posparto en ovejas de climas templados solamente ocurre rápidamente si éstas paren en la estación reproductiva (Hunter y Lishman, 1967). Estudios iniciales en la oveja Pelibuey sugirieron que la primera ovulación posparto variaba ampliamente con el estado nutricional de la madre (González-Reyna, 1977; 1983). En los mismos trabajos se indicó que el anestro posparto en la oveja de lana no puede ser comparable directamente

con el de la oveja Pelibuey, porque el fotoperíodo aparentemente no la afectaba de la misma manera como a la oveja productora de lana. Por su parte, Salinas et al. (1975) han reportado que la suplementación alimenticia durante el último tercio de la gestación y en la lactancia temprana en la oveja Pelibuey acelera el reinicio de la actividad ovárica posparto.

En trabajos realizados en Veracruz se ha reportado un efecto de la época del año sobre el intervalo parto-primer estro en ovejas Pelibuey en condiciones de pastoreo. Las ovejas que parieron durante el verano y el otoño tuvieron períodos de anestro más cortos que aquellas que parieron durante el invierno, lo cual fue atribuido por los autores a una mayor y mejor calidad del forraje existente durante la época de lluvias (CEIEGT, 1982; 1983; 1984). Por su parte, Valencia et al. (1981) reportaron que el intervalo entre el parto y el primer estro fue mayor en las ovejas que parieron en el invierno y en la primavera, comparado con aquellas que parieron en verano.

Sin embargo, hoy se tienen evidencias suficientes para manifestar que la estacionalidad que se observa durante el reinicio de la actividad ovárica posparto en la oveja Pelibuey, es independiente del estado nutricional. Así, Cortés y Zarco (1994) encontraron que en ovejas Pelibuey mantenidas bajo alimentación constante, el reinicio de la actividad ovárica posparto está fuertemente influenciado por la época del año en la que ocurre el parto. Similarmente, se ha podido observar que la suplementación alimenticia no acelera el reinicio de la actividad ovárica posparto en las ovejas Pelibuey en comparación con aquellas no suplementadas paridas en la misma época del año, aun cuando entre los dos grupos existieron diferencias significativas en la condición corporal y en la concentración de algunos metabolitos sanguíneos (Álvarez et al., 1994; Álvarez, 1996).

Por otra parte, Álvarez et al. (1984) han reportado que el amamantamiento prolonga el intervalo entre el parto y la primera ovulación y el primer estro en la oveja Pelibuey. Sin embargo, Cortés (1993) encontró que en la oveja Pelibuey no existe un anestro lactacional como tal, sino un anestro estacional; las ovejas que paren en la época reproductiva o cerca de ella comienzan a ciclar rápidamente aunque estén amamantando a sus crías.

## 2.7. LITERATURA CITADA

Advis JP, Kulgis RO, Dey GS. Distribution of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) content and total LHRH-degrading activity (LHRH-DA) in the hypothalamus of the ewe. *Endocr.* 1985; 116:2410-2418.

Ainsworth L, Wolynetz MS. Synchronization of estrus and reproductive performance of ewes treated with synthetic progestagens administered by subcutaneous ear implant or by intravaginal sponge pessary. *J. Anim. Sci.* 1982; 54:1120-1127.

Almeida OFX, Lincoln GA. Reproductive photorefractoriness in rams and accompanying changes in the patterns of melatonin and prolactin secretion. *Biol. Reprod.* 1984; 30:143-158.

Álvarez LJA. Efecto de la alimentación suplementaria antes y después del parto sobre la actividad ovárica, condición corporal y metabolitos sanguíneos de ovejas Tabasco y sobre el comportamiento productivo de sus crías en el trópico de México (tesis de maestría): México (DF) México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 1996.

Álvarez, JA, Rubio GI, Cruz LC. Centro de Investigación, Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical: Boletín Informativo 1989/90. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1990.

Arendt J. Role of the pineal gland and melatonin in seasonal reproductive function in mammals. *Oxford Reviews of Reproductive Physiology* 1986; 8:266-320.

Arendt J. Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. *Reviews of reproduction* 1998; 3:13-22.

Arendt J, Symons AM, Laud C. Pineal function and photoperiod in the ewe. *Les Colloques de INRA* 1981; 6:219-229.

Arendt J, Symons AM, Laud CA, Pryde SJ. Melatonin can induce early onset of the breeding season in ewes. *J. Endocr.* 1983; 97:395-400.

Barrell GK, Moenter SM, Caraty A, Karsch FJ. Seasonal changes of gonadotrophin-releasing hormone secretion in the ewe. *Biol. Reprod.* 1992; 46:1130-1135.

Bassett JM, Bomford J, Mott JC. Photoperiod: an important regulator of plasma prolactin concentrations in fetal lambs in late gestation. *Quarterly Journal of Experimental Physiology* 1988; 73:241-245.

Bassett JM, Curtis N, Hanson C, Weeding CM. Effects of altered photoperiod or maternal melatonin administration on plasma prolactin concentrations in fetal lambs. *J. Endocr.* 1989; 122:633-643.

- Berruecos VJM, Valencia ZM, Castillo H. Genética del borrego Tabasco o Pelibuey (Genetics of the Tabasco or Pelibuey sheep). *Tec. Pec. Méx.* 1975; 29:59-68.
- Bittman EL. The sites and consequences of melatonin binding in mammals. *Am. Zool.* 1993; 33:200-211.
- Bittman EL, Dempsey RJ, Karsch FJ. Pineal melatonin secretion drives the reproductive response to daylength in the ewe. *Endocr.* 1983 b; 113:2276-2283.
- Bittman EL, Karsch FJ. Nightly duration of pineal melatonin secretion determines the reproductive response to inhibitory day lengths in the ewe. *Biol. Reprod.* 1984; 30:585-593.
- Bittman EL, Karsch FJ, Hopkins JW. Role of the pineal gland in ovine photoperiodism: regulation of seasonal breeding and the negative feedback effects of estradiol upon luteinizing hormone secretion. *Endocrinol.* 1983 a; 113:329-336.
- Bittman EL, Kaynard AH, Olster DH, Robinson JE, Yellon SM, Karsch FJ. Pineal melatonin mediates photoperiodic control of pulsatile luteinizing hormone secretion in the ewe. *Neuroendocrinology* 1985; 40: 409-418.
- Bittman EL, Weaver DR. The distribution of melatonin binding sites in neuroendocrine tissues of the ewe. *Biol. Reprod.* 1990; 43:986-993.
- Broadway J, Arendt J, Folkard S. Bright light phase shifts the human melatonin rhythm during the antarctic winter. *Neuroscience Lett.* 1987; 79:185-189.
- Brown WB, Forbes JM. Diurnal variations of plasma prolactin in growing sheep under two lighting regimes and the effect of pinealectomy. *J. Endocr.* 1980; 84:91-99.
- Buttle HL. The effect of anterior cervical ganglionectomy on the seasonal variation in prolactin concentrations in goats. *Neuroendocr.* 1977; 23:121-128.
- Buttle HL. Seasonal variation of prolactin in plasma of male goats. *J. Reprod. Fertil.* 1974; 37:95-99.
- Caldani M, Batailler M, Thiéry JC, Dubois MP. LH-RH immunoreactive structures in the sheep brain. *Histochemistry* 1988; 89:129-139.
- Castillo RH, Valencia ZM, Berruecos VJM. Comportamiento reproductivo del borrego Tabasco mantenido en clima tropical y subtropical. I. Índices de fertilidad. *Tec. Pec. Méx.* 1972; 20:52-56.
- Centro de Investigación, Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical: Boletín Informativo 1981. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1981.
- Centro de Investigación, Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical: Boletín Informativo 1982. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1982.

Claypool LE, Wood IR, Yellon SM, Foster DL. The ontogeny of melatonin secretion in the lamb. *Endocr.* 1989; 124:2135-2143.

Cortés ZJ. Reinicio de la actividad ovárica posparto en ovejas Pelibuey paridas en diferentes épocas del año (tesis de doctorado): México (DF) México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 1993.

Cruz LC, Fernández-Baca S, Álvarez LJA, Pérez RH. Variaciones estacionales en la presentación de ovulación, fertilización y sobrevivencia embrionaria de ovejas Tabasco en el trópico húmedo. *Vet. Méx.* 1994; 25:23-27.

Curlewis JD. Seasonal prolactin secretion and its role in seasonal reproduction: A review. *J. Reprod. Fertil. Dev.* 1992; 4:1-23.

Curlewis JD, Clarke IJ, McNeilly AS. Dopamine D1 receptor analogues act centrally to stimulate prolactin secretion in ewes. *J. Endocr.* 1994; 137:457-464.

Curlewis JD, Thiéry JC, Malpaux B. Evidence for dopamine D1 receptor mediated stimulation of prolactin secretion in ewes under long daylength. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 1995; 49:539-543.

Chabot V, Caldani M, de Reviere MM, Pelletier J. Localization and quantification of melatonin receptors in the diencephalon and posterior telencephalon of the sheep brain. XXIII<sup>ème</sup> Colloque de la Société de Neuroendocrinologie Experimentale, Sophia Antipolis, 1-3 September 1994.

Chemineau P, Daveau A, Maurice F, Delgadillo JA. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Rumin. Res.* 1992 a; 8:299-312.

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

Chemineau P, Malpaux B, Thiéry JC, Viguié C, Morello H, Zarazaga L, Pelletier J. The control of seasonality: A challenge to small ruminant breeding. *Reproduction and Animal Breeding. Advances and Strategy. Proceedings of the XXX International Symposium of Società Italiana per il Progresso della Zootecnica held in Milan, September 11-13, 1995.*

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

D'Occhio MJ, Schanbacher BD, Kinder JE. Profiles of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, testosterone and prolactin in rams of diverse breeds: Effects of contrasting short (8L:16D) and long (16L:8D) photoperiods. *Biol. Reprod.* 1984; 30:1039-1054.

Dacheux JL, Pisselet C, Blanc MR, Hochereau-de-Reviere MT, Courot M. Seasonal variations in rete testis fluid secretion and sperm production in different breeds of ram. *J. Reprod. Fertil.* 1981; 61:363-371.

Daveau A, Malpoux B, Tillet Y, Roblot G, Wylde R, Chemineau P. Active immunization against melatonin in Ile-de-France ewes and photoperiodic control of prolactin secretion and ovulatory activity. *J. Reprod. Fertil.* 1994; 102:285-292.

De Reviere MM, Ravault JP, Tillet Y, Pelletier J. Melatonin binding sites in the sheep pars tuberalis. *Neurosci. Lett.* 1989; 100:89-93.

Delgadillo JA, Chemineau P. Abolition of the seasonal release of luteinizing hormone and testosterone in Alpine male goats by short photoperiodic cycles. *J. Reprod. Fertil.* 1992; 94:45-55.

Delgadillo JA, Leboeuf B, Chemineau P. Decrease in the seasonality of sexual behavior and sperm production in bucks by exposure to short photoperiod cycles. *Theriogenology* 1991; 36:755-770.

Deveson SL, Arendt J, Forsyth IA. The influence of the pineal gland and melatonin on the reproductive performance of domesticated female ungulates. *Anim. Reprod. Sci.* 1992; 30:113-134.

Domanski E, Przekop F, Polkowska J. Hypothalamic centres involved in the control of gonadotropins secretions. *J. Reprod. Fertil.* 1980; 58:493-499.

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

Earl CR, D'Occhio MJ, Kennaway DJ, Seamark RF. Mechanisms controlling the offset of melatonin secretion in the ewe. *J. Pineal Res.* 1990; 8:49-56.

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

Ebling FJP, Wood IR, Suttie JM, Adel TE, Foster DL. Prenatal photoperiod influences neonatal prolactin secretion in the sheep. *Endocr.* 1989; 125:384-391.

English J, Arendt J, Symons AM, Poulton AL, Tobler I. Pineal and ovarian response to 22- and 24 h days in the ewe. *Biol. Reprod.* 1988; 39:9-15.

English J, Poulton AL, Arendt J, Symons AM. A comparison of the efficiency of melatonin treatments in advancing oestrus in ewes. *J. Reprod. Fertil.* 1986; 77:321-327.

Fletcher IC, Geytenbeek PE. Seasonal variation in the ovarian activity of Merino ewes. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 1970; 10:267-270.

Forbes JM, Driver PM, El Shahat AA, Boaz TG, Scanes CG. The effect of daylength and level of feeding on serum prolactin in sheep. *J. Endocr.* 1975; 64:549-554.

Gallegos-Sánchez J, Picard S, Delaleu B, Malpoux B, Thiéry JC. Initiation of the oestradiol-induced inhibition of pulsatile secretion in ewes under long days; comparison of peripheral versus central treatment and neurochemical correlates. *J. Endocr.* 1996; 151:19-28.

González A, Murphy BD, Foote WC, Ortega E. Circannual oestrus variations and ovulation rate in Pelibuey ewes. *Small Rum. Res.* 1992; 8:225-232.

González-Reyna A, de Alva J. Resultados económicos de ovinos Pelibuey en el trópico seco de México. *Memorias de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal* 1983; 13:203-210.

González-Reyna A. Reproduction in Pelibuey sheep in the Mexican tropic. M Sc. Thesis. Utah State University. Logan. USA. 1977.

González-Reyna A, Murphy BD, De Alva J, Ortega-Rivas E. Factors determining the reproductive potential of Pelibuey sheep: Effects of season and parturition on reproductive performance. *Livestock Reproduction in Latin America. International Atomic Energy Agency. Viena, Austria* 1990; 335-350.

Goodman B, Hall V, Hollister C, Roychoudhury P, Tamarkin L, Westrom W. Effects of melatonin on the reproductive system in intact and pinealectomized male hamsters maintained under various photoperiods. *Endocr.* 1979; 104:82-88.

Goodman RL, Meyer SL. Effect of pentobarbital anesthesia on tonic luteinizing hormone secretion in the ewe. Evidence for active inhibition of luteinizing hormone in anoestrus. *Biol. Reprod.* 1984; 30:374-381.

Hafez ESE. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. *J. Agric. Sci. Cambridge* 1952; 42:189-265.

Hastings MH, Walker AP, Powers JB. Differential effects of photoperiodic history on the responses of gonadotrophins and prolactin to intermediate daylengths in the male Syrian hamster. *J. Biol. Rhythms* 1989; 4:335-350.

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

Heredía A, Velázquez MA, Quintal FJ, Mex RJ, Aragón GA. Efecto de dos fuentes de alimentación sobre la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria Tamaulipas 1991. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. 1991. Pp 96. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. 1991 a.*

Heredia AM, Menéndez TM, Velázquez MPA. Factores que influyen en la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria Tamaulipas 1991. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. 1991. Pp 115. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Cd. Victoria, Tamaulipas, México 1991 b.*

Hirata F, Hayaishi O, Tokuyama T, Senoh S. In vitro and in vivo formation of two new metabolites of melatonin. *J. Biological Chemistry* 1974; 249:1311-1313.

Hoffman RA, Reiter RJ. Pineal gland: influence on gonads of male hamsters. *Science, NY* 1965; 148:1609-1611.

- Howles CM, Craigon J, Haynes NB. Long term rhythms of testicular volume and prolactin concentrations in rams reared for 3 years in constant photoperiod. *J. Reprod. Fertil.* 1982; 65:349-446.
- Ilnerova I, Vanecek J. Entrainment of the rat pineal rhythm in melatonin production by light. *Reprod. Nutr. Dév.* 1988; 28:515-522.
- Jackson GL, Gibson M, Kuehl D. Photoperiodic disruption of photorefractoriness in the ewe. *Biol. Reprod.* 1988; 38:127-134.
- Jackson GL, Jansen HT. Persistence of a circannual rhythm of plasma prolactin concentration in ewes exposed to a constant equatorial photoperiod. *Biol. Reprod.* 1991; 44:469-475.
- Kanematsu N, Mori Y, Hayashi S, Hoshino K. Presence of a distinct 24-hour melatonin rhythm in the ventricular cerebrospinal fluid of the goat. *J. Pineal Research* 1989; 7:143-152.
- Kappers JA. Inervation of the epiphysis cerebri in the albino rat. *Anat. Rec.* 1960; 136:220-221.
- Karsch FJ, Bittman EL, Foster DL, Goodman RL, Legan SJ, Robinson JE. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Progr. Horm. Res.* 1984; 40:185-232.
- Karsch FJ, Bittman EL, Robinson JE, Yellon SM, Wayne NL, Olster DH, Kaynard AH. Melatonin and photorefractoriness: loss of response to the melatonin signal leads to seasonal reproductive transitions in the ewe. *Biol. Reprod.* 1986; 34:265-274.
- Karsch FJ, Dahl GE, Evans NP, Manning JM, Mayfield KP, Moenter SM, Foster DL. Seasonal changes in gonadotrophin releasing hormone secretion in the ewe: alteration in response to the negative feedback action of estradiol. *Biol. Reprod.* 1993; 49:1377-1383.
- Karsch FJ, Robinson JE, Woodfill CJI, Brown MB. Circannual cycles of luteinizing hormone and prolactin secretion in ewes during a prolonged exposure to a fixed photoperiod: evidence for an endogenous reproductive rhythm. *Biol. Reprod.* 1989; 41:1034-1046.
- Kennaway DJ, Dunstan EA, Gilmore TA, Seamark RF. Effects of pinealectomy, oestradiol and melatonin on plasma prolactin and LH secretion in ovariectomized sheep. *J. Endocr.* 1984; 102:199-207.
- Kennaway DJ, Dunstan EA, Gilmore TA, Seamark RF. Effects of shortened daylength and melatonin treatment on plasma prolactin and melatonin levels in pinealectomized and sham-operated ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 1982/83; 5:287-294.
- Kennaway DJ, Frith RG, Phillipou G, Matthews CD, Seamark RF. A specific radioimmunoassay for melatonin in biological tissue and fluids and its validation by gas chromatography-mass spectrometry. *Endocr.* 1977; 101:119-127.

- Kennaway DJ, Gilmore TA. Effects of melatonin implants in ewes lambs. *J. Reprod. Fertil.* 1984; 70:39-45.
- Kennaway DJ, Gilmore TA, Dunstan EA. Pinealectomy delays puberty in ewe lambs. *J. Reprod. Fertil.* 1985; 74:119-125.
- Kennaway DJ, Gilmore TA, Seamark RF. Effect of melatonin feeding on serum prolactin and gonadotrophin levels and the onset of seasonal oestrus cyclicity in sheep. *Endocr.* 1982; 110:1766-1772.
- Kennaway DJ, Seamark RF. Circulating levels of melatonin following its oral administration or subcutaneous injection in sheep and goats. *Aust. J. Biol. Sci.* 1980; 33:349-353.
- Klein DC. Photoneural regulation of the mammalian pineal gland. *CIBA Foundation Symposia* 1985; 117:38-56.
- Klein DC, Coon SL, Roseboom PH, Weller JL, Bernard M, Gastel JA, Zatz M, Luvone PM, Rodríguez IR, Begay V, Falcon J, Cahill G, Cassone VM, Baler R. The melatonin rhythms generating enzyme: molecular regulation of serotonin N-acetyltransferase in the pineal gland. *Recent Progr. Horm. Res.* 1997; 52:307-357.
- Koprowski JA, Tucker HA. Serum prolactin during various physiological states and its relationship to milk production in the bovine. *Endocr.* 1973; 92:1480-1487.
- Le Corre S, Chemineau P. Control of photoperiodic inhibition of luteinizing hormone secretion by dopaminergic and serotonergic systems in ovariectomized Ile-de-France ewes supplemented with oestradiol. *J. Reprod. Fertil.* 1993; 97:367-373.
- Legan SJ, Karsch FJ. Photoperiodic control of seasonal breeding in ewes: modulation of the negative feedback action of estradiol. *Biol. Reprod.* 1980; 23:1061-1068.
- Legan SJ, Karsch FJ. Neuroendocrine regulation of the oestrus cycle and seasonal breeding in the ewe. *Biol. Reprod.* 1979; 20:74-85.
- Legan SJ, Karsch FJ. Importance of retinal photoreceptors to the photoperiodic control of seasonal breeding in the ewe. *Biol. Reprod.* 1983; 29:316-325.
- Legan SJ, Karsch FJ, Foster DL. The endocrine control of seasonal reproductive function in the ewe: A marked change in response to the negative feedback action of estradiol on luteinizing hormone secretion. *Endocrinol.* 1977; 101:818-824.
- Legan SJ, Winans SS. The photoneuroendocrine control of seasonal breeding in the ewe. *General and Comparative Endocrinology* 1981; 45:317-328.
- Lincoln GA. Photoperiodic control of seasonal breeding in the ram: participation of the cranial sympathetic nervous system. *J. Endocr.* 1979; 82:135-147.
- Lincoln GA, Almeida OFX. Melatonin and the seasonal photoperiodic response in sheep. In: *Photoperiodism and reproduction in vertebrates*. Ortavant R, Pelletier J and Ravault JP, Eds., INRA, Versailles, France 1981; 231-251.

Lincoln GA, Almeida OFX, Klandorf H, Cunningham RA. Hourly fluctuations in the blood levels of melatonin, prolactin, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, testosterone, triiodothyronine, thyroxine and cortisol in rams under artificial photoperiods and the effects of cranial sympathectomy. *J. Endocr.* 1982; 92:237-250.

Lincoln GA, Clarke JJ. Photoperiodically-induced cycles in the secretion of prolactin in hypothalamo-pituitary disconnected rams: evidence for translation of the melatonin signal in the pituitary gland. *J. Neuroendocr.* 1994; 6:251-260.

Lincoln GA, Ebling FJP. Effect of constant release implants of melatonin on seasonal cycles of reproduction, prolactin secretion and moulting in rams. *J. Reprod. Fertil.* 1985; 73:241-253.

Lincoln GA, Libre EA, Merriam GR. Long-term reproductive cycles in rams after pinealectomy or superior cervical ganglionectomy. *J. Reprod. Fertil.* 1989; 85:687-704.

Lincoln GA, Maeda KI. Effects of placing micro-implants of melatonin in the mediobasal hypothalamus and preoptic area on the secretion of prolactin and  $\beta$ -endorphin in ewes. *J. Endocr.* 1992; 134:437-448.

Lincoln GA, McNeilly AS, Cameron CL. The effects of a sudden decrease or increase in daylength on prolactin secretion in the ram. *J. Reprod. Fertil.* 1978; 52:305-311.

Lincoln GA. Photoperiod – pineal – hypothalamic relay in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 1992; 28:203-217.

Lincoln GA, Short RV. Seasonal breeding: Nature's contraceptive. *Recent Prog. Horm. Res.* 1980; 36:1-52.

Lincoln GA, Wu FCW. Luteinizing hormone responses to N-methyl-D-L-aspartate during a photoperiodically-induced reproductive cycle in the ram. *J. Neuroendocr.* 1991; 3:309-315.

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

Maeda K, Mori Y, Sawasaki T, Kano Y. Diurnal changes in peripheral melatonin concentration in goats and effects of light or dark interruption. *Jpn. J. Vet. Sci.* 1984; 46:837-841.

Maeda KI, Lincoln GA. Phase shifts in the circadian rhythm in plasma concentrations of melatonin in rams induced by a 1-hour light pulse. *J. Biol. Rhythms* 1990; 5:97-106.

Malpoux B, Chemineau P, Pelletier J. Melatonin and reproduction in sheep and goats. In: Yu HS, Reiter RJ (eds), *Melatonin: Biosynthesis, Physiological Effects and Clinical Applications*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1993 a: 253-287.

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

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

Malpaux B, Daveau A, Maurice-Mandon F, Duarte G, Chemineau P. Evidence that melatonin acts in the premammillary hypothalamic area to control reproduction in the ewe: Presence of binding sites and stimulation of luteinizing hormone secretion by in situ microimplant delivery. *Endocr.* 1998; 139:1508-1516.

Malpaux B, Delgadillo JA, Chemineau P. Neuroendocrinología del fotoperíodo en el control de la actividad reproductiva. En: *Memorias del seminario Internacional "Tópicos avanzados en reproducción animal"*. Colegio de postgraduados, Montecillo, Edo. De México, 1997 a; 23-41.

Malpaux B, Karsch FJ. A role for short days in sustaining seasonal reproductive activity in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 1990; 90:555-562.

Malpaux B, Moenter SM, Wayne NL, Woodfill CJI, Karsch FJ. Reproductive refractoriness of the ewe to inhibitory photoperiod is not caused by alteration of the circadian secretion of melatonin. *Neuroendocrinology* 1988 b; 48:264-270.

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

Malpaux B, Robinson JE, Wayne NL, Karsch FJ. Regulation of the onset of the breeding season of the ewe: importance of long days and of an endogenous reproductive rhythm. *J. Endocr.* 1989; 122:269-278.

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

Malpaux B, Viguié C, Skinner DC, Thiéry JC, Chemineau P. Control of the circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. *Brain Research Bulletin* 1997 b; 44-4:431-438.

Malpaux B, Viguié C, Skinner DC, Thiéry JC, Pelletier J, Chemineau P. Seasonal breeding in sheep: Mechanism of action of melatonin. *Anim. Reprod. Sci.* 1996; 42:109-117.

Malpaux B, Wayne NL, Karsch FJ. Termination of the breeding season in the Suffolk ewe: Involvement of an endogenous rhythm of reproduction. *Biol. Reprod.* 1988 a; 39:254-263.

Martínez RR. Estudios sobre la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey del trópico húmedo mexicano (tesis de doctorado): México (DF) México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 1998.

Martínez A, Herrera J, Valencia J, Fernández-Baca S. Estudio de la actividad ovárica posparto mediante la determinación de progesterona en ovejas Dorset, Suffolk y Tabasco. *Vet. Méx.* 1980; 11:127-131.

Mauléon P, Rougeot J. Regulation des saisons sexuelles chez des brebis de races différents au moyen de divers rythmes lumineux. *Ann. Biol. Anim., Biochim., Biophys.* 1962; 2:209-222.

McMillen IC, Houghton DC, Young IR. Melatonin and the development of circadian and seasonal rhythmicity. *J. Reprod. Fertil.* 1995; 49:137-146.

McMillen IC, Walker DW, Young IR, Nowak RA. A daily prolactin rhythm persists in the ewe, foetus and newborn lamb after maternal pinealectomy in late gestation. *J. Neuroendocr.* 1991; 3:369-374.

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

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

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

Montgomery GW, Martin GB, Pelletier J. Changes in pulsatile LH secretion after ovariectomy in Ile-de-France ewes in two seasons. *J. Reprod. Fertil.* 1985; 73:173-183.

Morgan PJ, Williams LM, Davidson G, Lawson W, Howell H. Melatonin receptors on ovine pars tuberalis: characterization and autoradiographical localization. *J. Neuroendocr.* 1989; 1:1-4.

Muduuli DS, Sanford LM, Palmer WM, Howland BE. Secretory patterns and circadian and seasonal changes in luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, prolactin and testosterone in the male pygmy goat. *J. Anim. Sci.* 1979; 49:543-553.

Muhlía A, Chávez A. Insolación y radiación solar en el tope de la atmósfera para las latitudes que cubren la República Mexicana. *Ann. Inst. Geof. Universidad Nacional Autónoma de México.* México, D.F. 1980; 26:127-129.

Munro CJ, McNatty KP, Renshaw L. Circannual rhythms of prolactin secretion in ewes and the effect of pinealectomy. *J. Endocr.* 1980; 84:83-89.

Nowak R, Young IR, McMillen IC. Emergence of the diurnal rhythm in plasma melatonin in newborn lambs delivered to intact or pinealectomized ewes. *J. Endocr.* 1990; 125:97-100.

O'Callaghan D, Karsch FJ, Bolland MP, Roche JF. Role of short days in timing the onset and duration of reproductive activity in ewes under artificial photoperiods. *Biol. Reprod.* 1991; 44:23-28.

Ortavant R, Boquier F, Pelletier J, Thimonier J, Volland-Nail P. Seasonality of reproduction in sheep and its control by photoperiod. *Aust. J. Biol. Sci.* 1988; 41:69-85.

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

Parkinson TJ, Follett BK. Effect of thyroidectomy upon seasonality in rams. *J. Reprod. Fertil.* 1994; 101:51-58.

Paterson AM, Foldes A. Melatonin and farm animals: endogenous rhythms and exogenous applications. *J. Pineal Research* 1994; 16:167-177.

Pelletier J. Contribution of increasing and decreasing daylength to the photoperiodic control of LH secretion in the Ile-de-France ram. *J. Reprod. Fertil.* 1986; 77:505-512.

Pelletier J. Evidence for photoperiodic control of prolactin release in rams. *J. Reprod. Fertil.* 1973; 35:143-147.

Pelletier J, Almeida G. Short light cycles induce persistent reproductive activity in Ile-de-france rams. *J. Reprod. Fertil.* 1987; 34:215-226.

Pelletier J, Ortavant R. Influence du photopériodisme sur les activités sexuelle, hipophysaire et hypothalamique du bélier Ile-de-France, in la photoregulation de la reproduction chez les Oiseaux et les mammiferes, Coll. Int. CNRS Montpellier VII, 1967, 1970, 383-392.

Perón N, Limas T, Fuentes JL. El ovino Pelibuey de Cuba. Revisión bibliográfica de algunas características reproductivas. *Ann. Zootech.* 1991; 66:32-39.

Pineda MH. Patrones reproductivos de la oveja y la cabra. En: *Endocrinología Veterinaria y Reproducción*. Editado por McDonald LE y Pineda MH. Interamericana McGraw-Hill. México, D.F. 1991; 416-435.

Porrás AA, Valencia MJ, Zarco QL. Efecto del fotoperíodo artificial sobre la actividad ovárica de la oveja Pelibuey. *Memorias de la reunión Nacional de Investigación Pecuaria*. Morelos, México 1996:315.

Poulton AL, English J, Symons AM, Arendt J. Changes in plasma concentrations of LH, FSH and prolactin in ewes receiving melatonin and short-photoperiod treatments to induce early onset of breeding activity. *J. Endocr.* 1987; 112:103-111.

Ravault JP. Prolactin in the ram: seasonal variations in the concentration of blood plasma from birth until three years old. *Acta Endocr.* 1976; 83:720-725.

Ravault JP, Arendt J, Tobler I, Chesneau I, Moulin O. Entrainment of melatonin rhythms in rams by symmetrical light-dark cycles of different period length, *Chron. Intern.* 1989; 6:329.

Ravault JP, Martinat-Botte F, Mauget R, Martinat N, Locatelli A, Bariteau F. Influence of duration of daylight on prolactin secretion in the pig: hourly rhythms in ovariectomized females, monthly variation in domestic (male and female) and wild strains during the year. *Biol. Reprod.* 1982; 27:1084-1089.

- Ravault JP, Ortavant R. Light control of prolactin secretion in sheep. Evidence for photo-inducible phase during a diurnal rhythm. *Ann. Biol. An. Bioch. Biophys.* 1977; 17:459-473.
- Ravault JP, Thimonier J. Melatonin patterns in ewes maintained under skeleton or resonance photoperiodic regimes. *Reprod. Nutr. Dev.* 1988; 28:473-482.
- Reiter RJ. The pineal and its hormones in the control of reproduction in mammals. *Endocrine Rev.* 1980; 1:109-131.
- Robinson JE, Karsch FJ. Refractoriness to inductive day lengths terminates the breeding season of the the Suffolk ewe. *Biol. Reprod.* 1984; 31:656-663.
- Robinson JE, Karsch FJ. Photoperiodic history and changing melatonin pattern determine the neuroendocrine response of the ewe to the daylength. *J. Reprod. Fertil.* 1987; 80:159-165.
- Robinson JE, Radford HM, Karsch FJ. Seasonal changes in pulsatile luteinizing hormone (LH) secretion in the ewe, relationship of frequency of LH pulses to day length and response to estradiol negative feedback. *Biol. Reprod.* 1985 b; 33:324-334.
- Robinson JE, Wayne NL, Karsch FJ. Refractoriness to inhibitory day lengths initiates the breeding season of the Suffolk ewe. *Biol. Reprod.* 1985 a; 32:1024-1030.
- Roche JF, Karsch FJ, Foster DL, Takagi S, Dziuk PJ. Effect of pinealectomy on estrus, ovulation and luteinizing hormone in ewes. *Biol. Reprod.* 1970; 2:251-254.
- Rollag MD, Niswender GD. Radioimmunoassay of serum concentrations of melatonin in sheep exposed to different lighting regimens. *Endocr.* 1976; 98:482-489.
- Rollag MD, O'Callaghan PL, Niswender GD. Serum melatonin concentrations during different stages of the annual reproductive cycle in ewes. *Biol. Reprod.* 1978; 18:279-285.
- Ruiz JG. Estudio del ovino tropical "Pedigüey" del sureste de México y sus cruizas con el ovino Merino. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1966.
- Sack RL. Melatonin. *Science and Medicine*, 1998; Vol. 5, 5:8-17.
- Schams D, Reinhardt V. Influence of the season on plasma prolactin level in cattle from birth to maturity. *Horm. Res.* 1974; 5:217-226.
- Seron-Ferre M, Vergara M, Parraguez VH, Riquelme R, Llanos AJ. The circadian variation of prolactin in fetal sheep is affected by the seasons. *Endocr.* 1989; 125:1613-1616.
- Sharp DC, Vernon MW, Savy MT. Alteration of seasonal reproductive patterns in mares following superior cervical ganglionectomy. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 1979; 27:87-93.
- Shaw PF, Kennaway DJ, Seamark RF. Evidence of high concentrations of melatonin in lateral ventricular cerebrospinal fluid of sheep. *J. Pineal Research* 1989; 6:201-208.

Steinlechner S, Niklowitz P. Impact of photoperiod and melatonin on reproduction in small mammals. *Anim. Reprod. Sci.* 1992; 30:1-28.

Sugden D. Melatonin biosynthesis in the mammalian pineal gland. *Experientia* 1989; 45:922-932.

Tessonnaud A, Locatelli A, Caldani M, Viguier-Martínez MC. Bilateral lesions of the suprachiasmatic nucleus alter the nocturnal melatonin secretion in the sheep. *J. Neuroendocr.* 1995; 7:145-152.

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

Thiéry JC, Gayrard V, le Corre S, Vigié C, Martin GB, Chemineau P, Malpoux B. Dopaminergic control of LH secretion by the A15 nucleus in anoestrus ewes. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 1995; 49:285-296.

Thiéry JC, Martin GB. Neurophysiological control of the secretion of gonadotrophin-releasing hormone and luteinizing hormone in the sheep- A Review. *Reprod. Fertil. Dev.* 1991; 3:137-173.

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

Thimonier J, Mauléon P. Variations saisonnières du comportement d'oestrus et des activités ovarienne et hypophysaire chez les ovins. *Ann. Biol. Anim., Biochim., Biophys.* 1969; 9:223-250.

Thimonier J, Ravault JP, Ortavant R. Plasma prolactin variations and cyclic ovarian activity in ewes submitted to different light regimes. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* 1978; 18:1229-1235.

Thorpe PA, Herbert J. Studies on the duration of the breeding season and photorefractoriness in female ferrets pinealectomized or treated with melatonin. *J. Endocr.* 1976; 70:255-262.

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

Turek FW, Campbell CS. Photoperiodic regulation of neuroendocrine gonadal activity. *Biol. Reprod.* 1979; 20:32-50.

Valencia M, Heredia M, González E. Estacionalidad reproductiva en la oveja Pelibuey. *Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Santo Domingo, República Dominicana*, 1981; 16:137.

Valencia ZM, Castillo RH, Berruecos VJM. Reproducción y manejo del borrego Tabasco Pelibuey. *Tec. Pec. Méx.* 1975; 29:66-72.

- Van Camp G, Ravault JP, Falcon J, Collin JP, Voisin P. Regulation of melatonin release and N-acetyltransferase activity in ovine pineal cells. *J. Neuroendocr.* 1991; 3:477-481.
- Viguié C, Caraty A, Locatelli A, Malpoux B. Regulation of LHRH secretion by melatonin in the ewe. I. Simultaneous delay increase in LHRH and luteinizing hormone pulsatile secretion. *Biol. Reprod.* 1995 a; 52:1114-1120.
- Viguié C, Caraty A, Locatelli A, Malpoux B. Regulation of LHRH secretion by melatonin in the ewe. II. Changes in N-methyl-D-L-aspartic acid-induced LHRH release during the stimulation of LH secretion by melatonin. *Biol. Reprod.* 1995 b; 52:1156-1161.
- Viguié C, Thibault J, Thiéry JC, Tillet Y, Malpoux B. Reduction of tyrosine hydroxylase activity in the median eminence of the ewe by short days in relation to changes in luteinizing hormone and prolactin secretion. *Biol. Reprod.* 1994; 50 (suppl.), Abstract 214.
- Viguié C, Thibault J, Thiéry JC, Tillet Y, Malpoux B. Photoperiodic modulation of monoamines and amino-acids involved in the control of prolactin and LH secretion in the ewe: Evidence for a regulation of tyrosine hydroxylase activity. *J. Neuroendocr.* 1996; 8:465-474.
- Walton JS, McNeilly JR, McNeilly AS, Cunningham FJ. Changes in concentrations of follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin and progesterone in the plasma of ewes during the transition from anoestrus to breeding activity. *J. Endocr.* 1977; 75:127-136.
- Wayne NL, Malpoux B, Karsch FJ. Photoperiodic requirements for timing onset and duration of the breeding season of the ewe: Synchronization of an endogenous rhythm of reproduction. *J. Comp. Physiol. A.* 1990; 166:835-842.
- Wayne NL, Malpoux B, Karsch FJ. Social cues can play a role in timing onset of the breeding season of the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 1989; 87:707-713.
- Wayne NL, Malpoux B, Karsch FJ. How does melatonin code for daylength in the ewe: Duration of nocturnal melatonin release or coincidence of melatonin with a light-entrained sensitive period. *Biol. Reprod.* 1988; 39:66-75.
- Webster GM, Haresign W. Seasonal changes in LH and prolactin concentrations in ewes of two breeds. *J. Reprod. Fertil.* 1983; 67:465-471.
- Webster JR, Moenter SM, Woodfill CJI, Karsch FJ. Role of the thyroid gland in seasonal reproduction. II. Thyroxine allows a season-specific suppression of gonadotrophin secretion in sheep. *Endocr.* 1991; 129:176-183.
- White RM, Álvarez LJA, Zarco QL. Centro de Investigación, Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical. Boletín Informativo 1987/88. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 1987/88.
- Wishnant CS, Goodman RL. Further evidence that serotonin mediates the steroid-independent inhibition of luteinizing hormone secretion in anoestrus ewes. *Biol. Reprod.* 1990; 42:656-661.

Woodfil CJI, Robinson JE, Malpoux B, Karsch FJ. Synchronization of the circannual reproductive Rhythm of the ewe by discrete photoperiodic signals. *Biol. Reprod.* 1991; 45:110-121.

Worthy K, Haresign W. Evidence that the onset of seasonal anoestrus in the ewe may be independent of increasing prolactin concentrations and daylength. *J. Reprod. Fertil.* 1983; 69:41-48.

Worthy K, Haresign W, Dodson S, MCLeod BJ, Foxcroft GR, and Haynes NB. Evidence that the onset of the breeding season in the ewe may be independent of decreasing plasma prolactin concentrations. *J. Reprod. Fertil.* 1985; 75:237-246.

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

Yellon SM, Bittman EL, Lehman MN, Olster DH, Robinson JE, Karsch FJ. Importance of duration of nocturnal melatonin secretion in determining the reproductive response to inductive photoperiod in the ewe. *Biol. Reprod.* 1985; 32:523-529.

Yellon SM, Foster DL. Melatonin rhythms time photoperiod-induced puberty in the female lamb. *Endocr.* 1986; 119:44-49.

Yellon SM, Longo LD. Effect of maternal pinealectomy and reverse photoperiod on the circadian melatonin rhythm in the sheep and fetus during the last trimester of pregnancy. *Biol. Reprod.* 1988; 39:1093-1099.

Yu HS, Tsin ATC, Reiter RJ. Melatonin: History, biosynthesis and assay methodology. In: *Melatonin: Biosynthesis, Physiological Effects and Clinical Applications*. Yu HS., Reiter RJ (Eds), CRC Press, Boca Raton, Florida 1993; 21:226-252.

Zemdegs IZ, McMillen IC, Walker DW, Thorburn GD, Nowak R. Diurnal rhythms in plasma melatonin concentrations in the fetal sheep and pregnant ewe during late gestation. *Endocr.* 1988;123:284-289.

### III. EFECTO DEL FOTOPERÍODO ARTIFICIAL SOBRE EL REINICIO DE LA ACTIVIDAD OVÁRICA POSPARTO EN LA OVEJA PELIBUEY

#### Resumen

Se estudió el efecto del fotoperíodo artificial inverso sobre el reinicio de la actividad ovárica posparto en la oveja Pelibuey. Se utilizaron 16 ovejas gestantes, provenientes de Martínez de la Torre, Veracruz, las cuales fueron distribuidas al azar en tres grupos, uno de los cuales (grupo referencial, n=8) permaneció en Martínez de la Torre, donde fue mantenido bajo condiciones normales de pastoreo. Los otros dos grupos fueron trasladados a Topilejo, D.F. El primero de ellos (grupo tratado, n=4) fue expuesto a partir del cuarto mes de gestación a un fotoperíodo inverso en una cámara de fotoperíodo artificial, en la cual los cambios en la duración del fotoperíodo fueron graduales, simulando los naturales, pero en un sentido inverso, con una diferencia máxima de 2 horas y 12 minutos entre el día más largo y el día más corto del año, como ocurre en esta latitud. El otro (grupo testigo, n=4) permaneció en fotoperíodo natural. La fecha promedio de parto varió entre el 24 y 27 de abril de 1997, que corresponde a la época de anestro en la oveja Pelibuey. En todos los animales se obtuvieron muestras sanguíneas dos veces por semana durante 130 días después del parto. Se determinaron las concentraciones plasmáticas de progesterona por medio de radioinmunoanálisis. El intervalo entre el parto y el reinicio de la actividad ovárica fue significativamente menor ( $P < 0.01$ ) para el grupo de animales en fotoperíodo inverso ( $73.2 \pm 4.6$  días), comparado con el grupo testigo ( $101 \pm 6.9$  días) y con el grupo referencial ( $104 \pm 2.8$  días). Se concluye que la exposición de ovejas Pelibuey, paridas en primavera, a un fotoperíodo típico del otoño resulta en un acelerado reinicio de la actividad ovárica posparto.

**Palabras clave:** Fotoperíodo inverso, estacionalidad, actividad ovárica posparto, Pelibuey.

## Introducción

En el ovino, la reproducción es estacional, al menos en razas originarias de climas templados [1,2,3,4]. En ovejas de razas inglesas, la actividad sexual está fuertemente influenciada por cambios en la duración del fotoperíodo [5,6,7]. En contraste, algunos autores opinan que las razas de origen tropical, como la oveja Pelibuey, no presentan estacionalidad reproductiva asociada al fotoperíodo [8,9,10,11,12,13]. Ellos consideran que otros cambios ambientales diferentes al fotoperíodo son los que influyen los patrones en la reproducción del ovino Pelibuey, siendo los más importantes la nutrición y el efecto del amamantamiento de las crías.

Sin embargo, en la actualidad se cuenta con evidencias que indican que en condiciones constantes de alimentación la oveja Pelibuey presenta estacionalidad reproductiva, ya que en animales mantenidos en un plano nutricional adecuado a lo largo del año se produjo una disminución de la actividad estral entre enero y mayo, mientras que en el período de agosto a diciembre, la actividad estral fue máxima [14,15].

De manera similar, existen opiniones encontradas en lo que respecta al reinicio de la actividad ovárica posparto en la oveja Pelibuey. González-Reyna y col. [10], manifiestan que la primera ovulación posparto se ve afectada principalmente por el estado nutricional de la madre. Sin embargo, en otros estudios se han encontrado diferencias importantes en el intervalo del parto al reinicio de la actividad ovárica en ovejas Pelibuey que parieron en diferentes épocas del año, a pesar de que se mantuvieron en estabulación y recibieron la misma cantidad y calidad de alimentos a través de todo el año [16,17]. También se ha observado que la suplementación alimenticia no acelera el reinicio de la actividad ovárica posparto en ovejas Pelibuey en comparación con aquellas no suplementadas paridas en la misma época del año, aun cuando entre los dos grupos existieron diferencias significativas en la condición corporal y en las concentraciones de algunos metabolitos sanguíneos [18,19].

A pesar de todas las evidencias que hasta hoy se tienen sobre la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey, casi no se han realizado estudios comparativos concluyentes referentes a los efectos del fotoperíodo artificial o de la latitud sobre la actividad reproductiva de esta especie animal.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del fotoperíodo sobre el reinicio de la actividad ovárica posparto en la oveja Pelibuey.

## **Materiales y métodos**

El estudio se realizó en el Centro de Enseñanza, Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEIPSA), ubicado en el km 29 de la carretera federal México-Cuernavaca, a 19° 13' de latitud norte y 99° 8' de longitud oeste, y a 2800 msnm. El clima es de tipo c(w) b(ij), que corresponde a semifrío-semihúmedo, con lluvias en verano, la temperatura media anual fluctúa entre 8 y 22 °C, y la precipitación pluvial es de 1200 mm al año [20]. Debido a que el CEIPSA no está ubicado en el trópico característico de las regiones en las que se explota la oveja Pelibuey, en forma simultánea, se tuvo un grupo referencial en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT), ubicado en el Municipio de Tlapacoyan, Veracruz, a 20° 4' de latitud norte y 97° 3' de longitud oeste, a 151 msnm, con clima de tipo Af(m)(e), es decir cálido húmedo, con temperatura media anual de 23.4 °C y precipitación pluvial de 1840 mm [21]. Ambos centros pertenecientes a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (FMVZ – UNAM).

## **Animales y alimentación**

Se utilizaron 16 ovejas Pelibuey adultas originarias del CEIEGT, las cuales fueron servidas en el mes de noviembre de 1996. El día 13 de marzo de 1997, al cumplir los 4 meses de gestación, 8 de estos animales fueron trasladados al CEIPSA, donde recibieron una dieta diaria consistente en paja de avena a voluntad, ensilado de maíz a razón de 1 kg por animal, y 300 g de concentrado comercial con 12% de proteína cruda y 3000 kilocalorías de ED/kg, agua y sales minerales a discreción. Los animales restantes permanecieron en el CEIEGT, donde continuaron en pastoreo en praderas de *Brachiaria* sp y gramíneas nativas, con suplementación de concentrado al final de la gestación y principios de la lactancia.

## **Diseño experimental**

El experimento se realizó entre marzo y agosto de 1997. Los 8 animales que permanecieron en el CEIEGT conformaron un grupo de referencia para evaluar si el traslado al CEIPSA afectó a los animales experimentales. Los animales que fueron trasladados al CEIPSA fueron divididos en 2 grupos experimentales. El primer grupo (n=4) fue expuesto a partir del cuarto mes de gestación a un tratamiento de fotoperíodo artificial inverso, esto es, fotoperíodo con una relación luz/obscuridad opuesta a la que

naturalmente está ocurriendo [5]. De esta manera, al ocurrir el parto en el mes de abril, las ovejas se encontraban en un fotoperíodo decreciente característico del mes de octubre. El segundo grupo (n=4) permaneció en fotoperíodo natural en el CEIPSA, actuando como grupo testigo.

Los animales del grupo tratado (fotoperíodo inverso) permanecieron durante el día alojados en un corral provisto de sombra, donde fueron alimentados, y por la tarde se trasladaron a una cámara de fotoperíodo artificial, la misma que consiste en un cuarto oscuro de 7 m de largo, 3 m de ancho y 2.5 m de alto, totalmente aislado de la luz natural, provisto con iluminación artificial suficiente para suministrar 350 lux de intensidad a la altura de la cabeza de los animales [22]. El control del encendido y apagado de la luz, se realizó mediante un interruptor digital de tiempo marca Tork EW 101, el mismo que permitió programar a voluntad la duración de los días. Los cambios en la duración del día fueron graduales, simulando los naturales, pero con un desfase de 6 meses con relación al fotoperíodo natural. La diferencia máxima fue de 2 horas y 12 minutos entre el día más largo y el día más corto del año, como ocurre en esta latitud [23]. La cámara de fotoperíodo está provista de un sistema de ventilación y extracción de aire que permite mantener el control de los animales.

Los animales del grupo testigo permanecieron constantemente alojados en un corral de las mismas características que el primero, expuestos durante las 24 horas del día al fotoperíodo natural. Igualmente, las ovejas del grupo referencial permanecieron expuestas al fotoperíodo natural del CEIEGT.

Se tomaron muestras de sangre de todos los animales dos veces por semana durante 130 días después del parto. Las muestras se obtuvieron por punción de la vena yugular, utilizando tubos heparinizados. Las muestras se centrifugaron a 3500 rpm por 10 minutos dentro de la primera hora siguiente a su obtención, luego se separó el plasma, el cual se conservó a -20 °C hasta el momento de su análisis.

### **Radioinmunoanálisis**

Las concentraciones de progesterona se determinaron en el Laboratorio de Endocrinología de la FMVZ-UNAM, por medio de radioinmunoanálisis heterólogo de fase sólida, utilizando un kit comercial de progesterona [24]. Se consideró que una oveja había iniciado su actividad ovulatoria cuando se encontraron por lo menos dos determinaciones consecutivas con valores iguales o mayores a 1 ng/ml [25].

### **Análisis estadístico**

La variable que se midió fue el intervalo entre el parto y el reinicio de la actividad ovárica. Las comparaciones estadísticas se realizaron mediante Análisis de Varianza, seguido de una Prueba de Duncan [26].

### **Resultados**

La fecha promedio de partos en los diferentes grupos fluctuó entre el 24 y 27 de abril, lo cual corresponde a la estación de primavera. En el Cuadro 1 se presentan los resultados del presente estudio. En él puede observarse que el intervalo entre el parto y el reinicio de la actividad ovárica fue significativamente menor ( $P < 0.01$ ) para el grupo de animales mantenidos en fotoperíodo inverso (media  $\pm$  error estándar:  $73.2 \pm 4.6$  días), comparado con el grupo testigo del CEIPSA ( $101 \pm 6.9$  días) y con el grupo referencial del CEIEGT ( $104 \pm 2.8$  días). También puede observarse que no existió diferencia significativa entre estos dos últimos grupos.

En la figura 1 se muestra la distribución de la primera ovulación en los animales de cada grupo, observándose que en el grupo tratado (fotoperíodo inverso), los animales iniciaron su primera ovulación posparto más rápido que los del grupo testigo y los del grupo referencial.

### Cuadro 1

Reinicio de la actividad ovárica posparto en ovejas Pelibuey en fotoperíodo natural y en fotoperíodo inverso. Los valores representan la media  $\pm$  error estandar.

Tipo de tratamiento	n	Fecha promedio de parto	Fecha promedio reinicio actividad ovulatoria	Intervalo entre el parto y el 1er ciclo ovulatorio
Fotoperíodo Inverso (CEPIPSA)	4	27-04-97 $\pm$ 1.4	10-07-97	73.2 $\pm$ 4.6 a
Fotoperíodo Natural (CEPIPSA)	4	24-04-97 $\pm$ 1.1	3-08-97	101.0 $\pm$ 6.9 b
Fotoperíodo Natural (CEIEGT)*	8	25-04-97 $\pm$ 0.8	7-08-97	104.0 $\pm$ 2.8 b

\* Grupo referencial.

a, b: valores con distinta literal son significativamente diferentes (P<0.01)

Duración del fotoperíodo (h)

% de ovejas que han ovulado

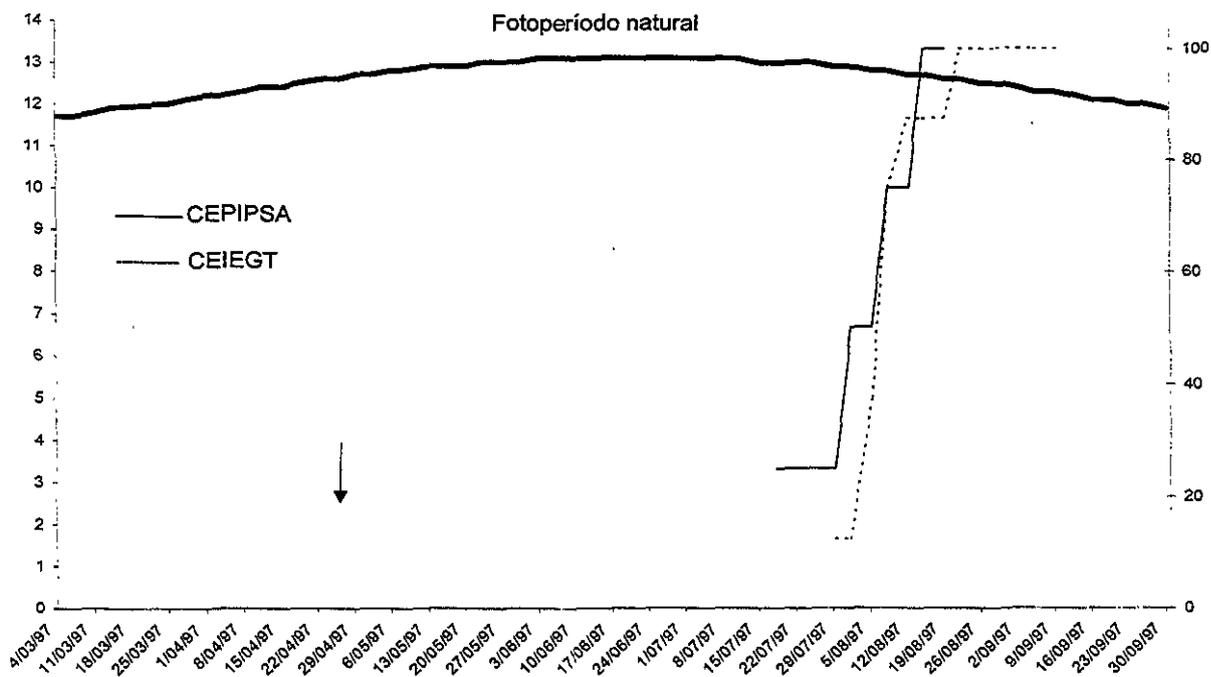
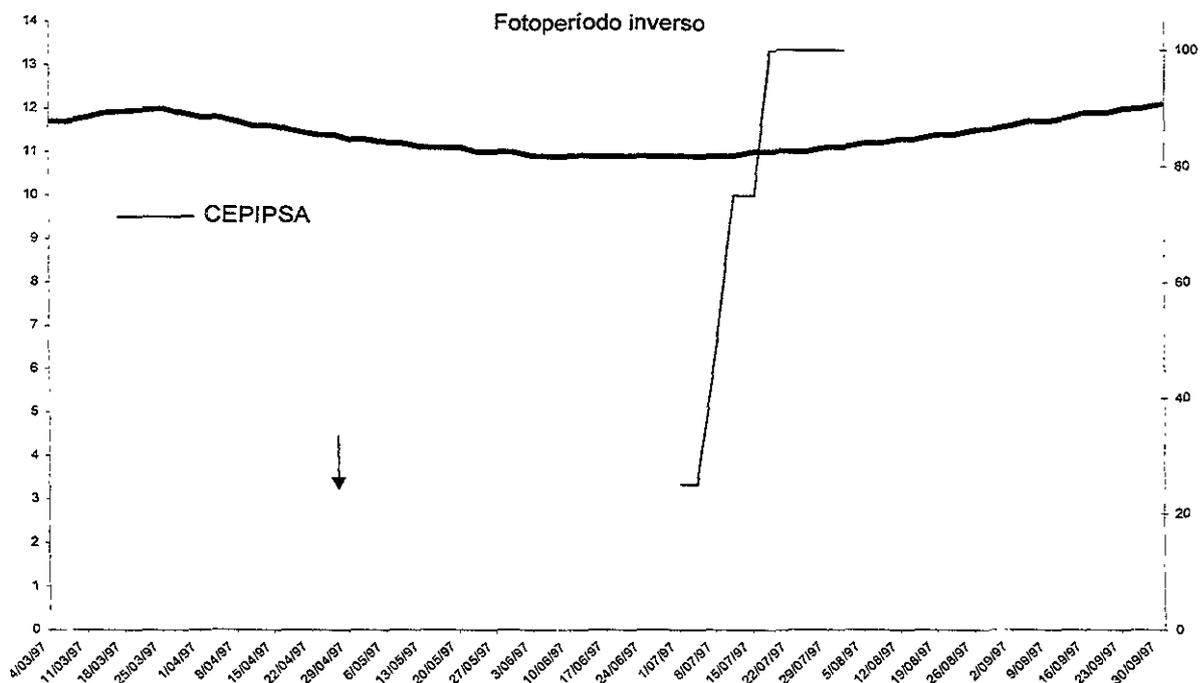


Fig. 1. Distribución de la primera ovulación posparto en la oveja Pelibuey en fotoperíodo inverso (arriba) y en fotoperíodo natural (abajo). La flecha indica la fecha promedio de parto.

## Discusión

Los resultados del presente estudio demuestran por primera vez un efecto directo del fotoperíodo artificial sobre el reinicio de la actividad ovárica posparto en la oveja Pelibuey. Los animales del grupo tratado y del grupo testigo del CEPIPSA recibieron el mismo manejo y alimentación, a excepción del tratamiento fotoperiódico, y bajo estas condiciones el intervalo entre el parto y el reinicio de la actividad ovárica fue significativamente menor ( $P < 0.01$ ) para el grupo tratado, es decir que la primera ovulación se produjo significativamente más pronto cuando las ovejas se encontraban en fotoperíodo decreciente que cuando estaban en fotoperíodo creciente. En condiciones naturales, el reinicio de la actividad ovárica posparto en la oveja Pelibuey ocurre más temprano en aquellas ovejas que paren dentro de lo que se considera la época reproductiva natural de la especie ovina [17].

En algunos trabajos recientes se ha demostrado que el efecto de la estación de parto sobre la duración del intervalo entre el parto y el reinicio de la actividad ovárica en la oveja Pelibuey es independiente de la nutrición. Cortés y Zarco [17] demostraron que este intervalo fue significativamente diferente para las ovejas paridas en las temporadas invernal y de primavera (69.5 días en promedio), comparado con aquellas paridas en verano (41 días en promedio), aun cuando las ovejas que parieron en diferentes épocas del año recibieron la misma alimentación. Por otra parte, Álvarez [19] encontró que la suplementación alimenticia no aceleró el reinicio de la actividad ovárica posparto en la oveja Pelibuey del trópico de México. En dichos trabajos se sugirió que el fotoperíodo podría ser el principal factor que regula el reinicio de la actividad ovárica posparto en la oveja Pelibuey.

El largo intervalo entre el parto y el reinicio de la actividad ovárica observado en el presente estudio tanto para el grupo testigo del CEPIPSA ( $101 \pm 6.9$  días) como para el grupo referencial del CEIEGT ( $104 \pm 2.8$  días), puede deberse a que las ovejas de ambos grupos parieron en el mes de abril, que corresponde a la época en la cual se ha descrito la menor actividad ovárica de la oveja Pelibuey [9,14,15], por lo que tuvieron que esperar hasta el inicio de la época reproductiva para comenzar a ciclar. Este efecto ya había sido demostrado en ovejas Pelibuey paridas en la primavera y mantenidas en fotoperíodo natural [16,17]. Una situación similar ocurre cuando las ovejas Pelibuey jóvenes alcanzan un peso corporal compatible con la actividad reproductiva durante la primavera o el verano, pero tienen que esperar varios meses hasta que llegue la época reproductiva para comenzar a ciclar [25]. En contraste, en el presente trabajo la actividad ovárica se reinició

más rápidamente en los animales mantenidos en fotoperíodo inverso, los cuales, desde el punto de vista fotoperiódico, se encontraban en otoño. Esto coincide con lo que se ha observado en corderas, las cuales comienzan a ciclar en cuanto alcanzan el peso mínimo compatible con la reproducción si en ese momento es otoño [25].

El hecho de no haber encontrado diferencias significativas en el intervalo entre el parto y el reinicio de la actividad ovárica entre las ovejas del grupo testigo del CEPIPSA, bajo condiciones de altiplano, y las ovejas del grupo referencial del CEIEGT, bajo condiciones tropicales, revela que tanto las ovejas Pelibuey trasladadas al altiplano como las que permanecieron en condiciones tropicales manifestaron un comportamiento posparto similar, lo cual sugiere una rápida adaptación de esta raza de ovinos a las condiciones climáticas templadas, y abre la posibilidad de ampliar la distribución de este recurso animal fuera del trópico, con los consiguientes beneficios que representaría su explotación.

El presente trabajo demuestra que el intervalo entre el parto y el reinicio de la actividad ovárica en la oveja Pelibuey es afectado por el fotoperíodo, lo que apoya el concepto de que la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey es regulada por el fotoperíodo y no por efectos nutricionales.

### **Literatura citada**

1. Lincoln GA, Short RV. Seasonal breeding: Natures' contraceptive. *Rec. Prog. Horm. Res.* 1980; 36:1-52.
2. Legan SJ, Winans SS. The photoneuroendocrine control of seasonal breeding in the ewe. *General and Comparative Endocrinology* 1981; 45:317-328.
3. Karsch FJ, Bittman EL, Foster DL, Goodman RL, Legan SJ, Robinson JE. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Progress in Horm. Research* 1984; 40:185-232.
4. Ortavant R, Bocquier F, Pelletier J, Ravault JP, Thimonier J, Volland-Nail P. Seasonality of reproduction in sheep and its control by photoperiod. *Aust. J. Biol. Sci.* 1988; 41:69-85.
5. Yeates NTM. The breeding season of the sheep with particular reference to its modification by artificial light. *J. Agric. Sci. Cambridge* 1949; 39:1-43.
6. Hafez ESE. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. *J. Agric. Sci. Cambridge* 1952; 42:189-265.

7. Worthy K, Haresign W, Dodson S, McLeod BJ, Foxcroft GR, and Haynes NB. Evidence that the onset of the breeding season in the ewe may be independent of decreasing plasma prolactin concentrations. *J. Reprod. Fertil.* 1985; 75:237-246.
8. Castillo RH, Valencia ZM, Berruecos JM. Comportamiento reproductivo del borrego Tabasco mantenido en clima tropical y subtropical. I. Índices de fertilidad. *Tec. Pec. Méx.* 1972; 20:52-56.
9. Valencia M, Heredia M, González E. Estacionalidad reproductiva en hembras Pelibuey. *Memorias de la VIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de producción Animal*; 1981. Santo Domingo, República Dominicana 1981; 16:137.
10. González-Reyna A, Valencia J, Foote WC, Murphy BD. Hair sheep in Mexico: Reproduction in the Pelibuey sheep. *Animal Breeding Abstracts* 1991; 59:509-524.
11. Cruz LC, Fernández-Baca S, Álvarez LJ, Pérez RH. Variaciones estacionales en presentación de ovulación, fertilización y sobrevivencia embrionaria de ovejas Tabasco en el trópico húmedo. *Vet. Mex.* 1994; 25(1):23-27.
12. Álvarez RA, Valencia ZM, Rodríguez RO. Efecto del destete precoz en el comportamiento reproductivo de la oveja Pelibuey. *Memorias del X Congreso Nacional de Buiatría*; 1984. Acapulco, Guerrero, México 1984:178-181.
13. Castillo RH, Román PH, Berruecos JM. Características del crecimiento del borrego Tabasco. I. Efecto de la edad y peso al destete y su influencia sobre la fertilidad de la madre. *Tec. Pec. Mex.* 1974; 27:28-32.
14. Heredia A, Velázquez MA, Quintal FJ, Mex RJ, Aragón GA. Efecto de dos fuentes de alimentación sobre la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria Tamaulipas 1991*. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. 1991. Pp 96. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. 1991 a.
15. Heredia AM, Menéndez TM, Velázquez MPA. Factores que influyen en la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria Tamaulipas 1991*. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. 1991. Pp 115. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Cd. Victoria, Tamaulipas, México 1991 b.
16. Cortés ZJ. Reinicio de la actividad ovárica posparto en ovejas Pelibuey paridas en diferentes épocas del año. Tesis de Doctorado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1993.
17. Cortés ZJ, Zarco L. Reinicio de la actividad ovárica posparto en ovejas pelibuey paridas en diferentes épocas del año. *Memorias del XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias*; 1994. Acapulco-Guerrero, México 1994:280.
18. Álvarez JA, Rubio I, Zarco L, Cruz C. Use of inexpensive feed supplementation to improve the reproductive efficiency of Pelibuey sheep in the tropics. Effect of pre and postpartum supplementation. *Memorias del XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias*; 1994. Acapulco-Guerrero, México 1994:278.

19. Álvarez JA. Efecto de la alimentación suplementaria antes y después del parto sobre la actividad ovárica, condición corporal y metabolitos sanguíneos de ovejas Tabasco y sobre el comportamiento productivo de sus crías en el trópico de México (tesis de maestría) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1996.
20. García ME. Apuntes de climatología. 3ra. Eed. Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF. 1980.
21. Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical. Boletín Informativo 1984. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México 1984: 100-108.
22. Legan SJ, Karsch FJ. Photoperiodic control of seasonal breeding in ewes: Modulation of the negative feedback action of estradiol. Biol. Reprod, 1980; 23:1061-1068.
23. Muhlia A, Chávez A. Insolación y radiación solar en el tope de la atmósfera para las latitudes que cubren la república mexicana. Ann. Ins. Geof. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 1980; 26:127-129.
24. Pulido A, Zarco L, Galina CS, Murcia C, Flores G, Posadas E. Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle: Effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. Theriogenology 1991; 35:965-975.
25. Rodríguez MR. Efecto de la suplementación sobre el inicio de la pubertad en la borrega Tabasco o Pelibuey (tesis de doctorado) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 1991.
26. Steel RG, Torrie JH. Principles and Procedures of Statistics. A Biomedical Approach. 2<sup>nd</sup> De. Singapore: McGraw-Hill, 1981.

#### IV. ACTIVIDAD OVÁRICA Y VARIACIONES ESTACIONALES EN EL PERFIL DE SECRECIÓN DE MELATONINA Y DE PROLACTINA PLASMÁTICAS EN LA OVEJA PELIBUEY EXPUESTA A FOTOPERÍODO INVERSO

##### Resumen

El presente experimento se realizó con la finalidad de evaluar las variaciones estacionales en la actividad ovárica y en la secreción de melatonina y de prolactina en ovejas Pelibuey expuestas a fotoperíodo artificial inverso. Para estudiar la actividad ovárica cíclica se utilizaron 30 ovejas distribuidas en 3 grupos principales: Grupo I: animales sin historia previa de fotoperíodo artificial (n=14), Grupo II: animales con historia de fotoperíodo artificial largo (16L:8D) por 3 meses antes del inicio del experimento (n=7), y Grupo III: animales sin historia de fotoperíodo artificial, pero con antecedente de gestación y parto en abril del primer año del experimento (n=9). Cada grupo principal, a su vez, fue dividido en 2 subgrupos, a uno de los cuales se expuso a tratamiento de fotoperíodo artificial inverso (subgrupo tratado), en tanto el otro permaneció en fotoperíodo natural (subgrupo testigo). En todos los animales se obtuvieron muestras de sangre 2 veces por semana durante 2 años consecutivos (1997-1998), y se determinaron las concentraciones plasmáticas de progesterona por medio de radioinmunoanálisis. Se compararon la fecha promedio de inicio y término de la actividad ovárica, duración de la misma y la duración de la inactividad ovárica entre el subgrupo tratado y su correspondiente testigo en cada uno de los grupos principales, por medio de una Prueba de t. En los grupos que no tenían historia previa de exposición a fotoperíodo artificial (I y III), el inicio y término de la actividad ovárica del primer año y el inicio de la actividad ovárica del segundo año ocurrieron significativamente más temprano ( $P < 0.01$  ó  $P < 0.05$ ) en los subgrupos expuestos a fotoperíodo inverso con respecto a los testigos. En el grupo II el inicio de la actividad ovárica en el primer año no mostró diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre el subgrupo expuesto a fotoperíodo inverso y el testigo, pero luego la actividad ovárica se fue desplazando en congruencia con el fotoperíodo que siguió cada subgrupo. Así, el final de la actividad ovárica del primer año y el inicio de la misma en el segundo año fueron estadísticamente diferentes ( $P < 0.01$ ) entre el subgrupo tratado y el testigo. En el grupo I, no se observaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en la duración del período de actividad ovárica ni en el período de anestro entre el subgrupo tratado y el

testigo. En el grupo II, tampoco se observó diferencia significativa ( $P>0.05$ ) en la duración del período de actividad ovárica entre el subgrupo tratado y el testigo, en tanto que la duración del anestro fue significativamente menor ( $P<0.05$ ) para el subgrupo tratado con respecto al testigo. En el grupo III, el período de actividad ovárica fue significativamente menor ( $P<0.05$ ) en el subgrupo tratado con respecto al testigo, mientras que la duración del anestro no mostró diferencia significativa ( $P>0.05$ ) entre estos dos subgrupos. Para evaluar el ritmo de secreción de melatonina se utilizaron 10 ovejas distribuidas al azar en 2 grupos, uno de los cuales se expuso a fotoperíodo inverso (grupo tratado;  $n=5$ ), mientras que el otro permaneció en fotoperíodo natural (grupo testigo;  $n=5$ ). Se tomaron muestras de todas las ovejas en cada solsticio y en cada equinoccio durante 25 horas consecutivas, una vez cada hora durante día y noche, excepto 2 h antes y 2 h después de apagarse y prenderse la luz, donde la frecuencia de muestreo se incrementó a 1 vez cada 30 minutos. Se determinaron las concentraciones plasmáticas de melatonina por medio de radioinmunoanálisis, y se compararon las concentraciones medias de melatonina por medio de un análisis de varianza (ANVA) para mediciones repetidas de 3 factores (grupo, época y momento del día), y también la duración y la amplitud de la elevación nocturna de melatonina por medio de un ANVA para mediciones repetidas de 2 factores (grupo y época). No se observó un efecto significativo ( $P>0.05$ ) de la época sobre los niveles medios de melatonina, pero sí un efecto significativo ( $P<0.01$ ) del momento del día sobre dicha variable, tanto para el grupo tratado como para el testigo. No se encontró un efecto significativo ( $P>0.05$ ) del grupo sobre la duración de la elevación de melatonina, pero sí un efecto significativo ( $P<0.01$ ) de la época sobre la mencionada variable. Tampoco se pudo observar una variación significativa ( $P>0.05$ ) en la amplitud de la elevación de melatonina en el tiempo. Para estudiar el patrón de secreción de prolactina se utilizaron 10 ovejas distribuidas al azar en dos grupos, a uno de los cuales se expuso a fotoperíodo inverso (grupo tratado;  $n=5$ ), mientras que el otro permaneció en fotoperíodo natural (grupo testigo;  $n=5$ ). Se tomaron muestras de sangre de todos los animales 2 veces por semana durante 2 años consecutivos y se midieron las concentraciones plasmáticas de prolactina por medio de radioinmunoanálisis. Se compararon las concentraciones medias de prolactina por estación y por mes por medio de un ANVA para mediciones repetidas de 2 factores (año y estación o mes). Se observó un efecto significativo ( $P<0.01$ ) de la estación y también del mes sobre las concentraciones medias de prolactina tanto en el grupo tratado como en el testigo. También se observó un incremento significativo ( $P<0.01$ ) en las concentraciones de prolactina del primero al segundo año en el grupo testigo. Se

concluye que la oveja Pelibuey presenta estacionalidad reproductiva, y que su exposición a fotoperíodo artificial inverso desplaza la actividad ovárica e invierte las variaciones estacionales en la duración de la elevación de melatonina y en las concentraciones medias de prolactina que se observan en ovejas Pelibuey en fotoperíodo natural en esta latitud (19°Norte).

**Palabras clave: Estacionalidad, fotoperíodo inverso, actividad ovárica, melatonina, prolactina, Pelibuey.**

### **Introducción**

La estacionalidad reproductiva es una característica común de ovinos y caprinos de climas templados. El fotoperíodo es el principal factor ambiental que regula la reproducción estacional en el ovino [1,2,3,4,5]. El fotoperíodo induce cambios en la actividad reproductiva a través de modificaciones en la secreción de LH, de tal forma que, la exposición de las ovejas a fotoperíodos crecientes y decrecientes está asociada con una inhibición y una estimulación de la secreción pulsátil de LH, respectivamente [6].

La información fotoperiódica es transmitida al eje reproductivo por medio de la glándula pineal a través de su secreción nocturna de melatonina [7,8]. La secreción de melatonina por la glándula pineal está limitada a la fase nocturna, y en el ovino, la duración de la secreción es aproximadamente similar a la longitud de la noche [9]; por lo tanto, la duración de la secreción difiere entre días largos y días cortos [10]. Los efectos de la melatonina sobre la reproducción son mediados por cambios en la secreción pulsátil de LHRH [11]. Los cambios en la secreción pulsátil de LHRH inducen, a su vez, variaciones en la secreción de LH [12], las cuales son responsables de la ocurrencia o ausencia de ovulación en las ovejas intactas [6,13].

El fotoperíodo también induce cambios en el patrón de secreción de prolactina en el ovino. Bajo condiciones naturales, hay un fuerte ritmo circanual en las concentraciones plasmáticas de prolactina, con los valores más altos en primavera o verano y los más bajos en otoño o invierno [14,15]. Sin embargo estos cambios en la secreción de prolactina no parecen tener ningún papel en la estacionalidad de la actividad reproductiva [5,16,17].

El efecto del fotoperíodo sobre la actividad reproductiva es mayor conforme aumenta la latitud, por consiguiente, en latitudes tropicales o subtropicales la estacionalidad reproductiva está grandemente reducida y en algunos casos, ausente [18].

La aparente falta de estacionalidad reproductiva en la oveja Pelibuey proviene de estudios iniciales realizados en México [19,20,21]. Posteriormente, otros autores han indicado que la reducción en la actividad reproductiva que se observa en la oveja Pelibuey, está asociada a otros factores ambientales diferentes al fotoperíodo, siendo los más importantes la nutrición y el efecto de amamantamiento de las crías [22,23], y en otros casos la temperatura o la humedad [24].

Sin embargo, en la actualidad se cuenta con evidencias que indican que la disminución de la actividad estral en la oveja Pelibuey en algunas épocas del año, es independiente de su estado nutricional [25,26,27,28,29]. Por otro lado, la exposición de las ovejas Pelibuey a cambios en el fotoperíodo artificial, produce cambios correspondientes en la actividad ovárica de esta especie [30]. Es importante resaltar, sin embargo, que esta respuesta fue obtenida bajo cambios abruptos en la duración del fotoperíodo artificial y con 8 horas de diferencia entre días cortos y días largos, lo cual no corresponde a las variaciones fotoperiódicas naturales que ocurren en esta latitud, donde la diferencia máxima entre el día más largo y el día más corto del año es tan sólo de 2 horas y 12 minutos [31].

El objetivo del presente estudio fue evaluar las variaciones estacionales en la actividad ovárica y en la secreción de melatonina y de prolactina en la oveja Pelibuey expuesta a fotoperíodo artificial inverso.

## **Materiales y Métodos**

El presente experimento se realizó con 30 ovejas adultas Pelibuey en el Centro de Enseñanza, Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, ubicado en el km 29 de la carretera Federal México Cuernavaca (19° 13' Latitud Norte). Todos los animales fueron alimentados diariamente con paja de avena, ensilado de maíz y concentrado, y tuvieron libre acceso al agua y sales minerales. Todas las ovejas fueron sometidas a una práctica de ligadura de oviductos por laparoscopia abdominal, con la finalidad de evitar que queden gestantes accidentalmente.

## **Diseño Experimental:**

El experimento tuvo una duración de dos años (1997-1998) durante los cuales se evaluaron tres aspectos: La actividad ovárica cíclica, el ritmo de secreción de melatonina y el patrón de secreción de prolactina.

## **1. Actividad ovárica cíclica.**

El experimento se inició el 21 de diciembre de 1996 (solsticio de invierno). Se utilizaron 30 ovejas distribuidas en 3 grupos principales de acuerdo con sus antecedentes de tratamiento con fotoperíodo artificial, o de gestación y parto durante el cuarto mes del experimento. Cada grupo principal, a su vez, fue dividido en 2 subgrupos, uno de los cuales se expuso a tratamiento de fotoperíodo artificial inverso (subgrupo tratado) durante los siguientes dos años, mientras que el otro permaneció en fotoperíodo natural (subgrupo testigo). La distribución de los grupos principales y subgrupos quedó conformada así:

**Grupo I (n=14): Animales sin historia de fotoperíodo artificial antes del inicio del experimento.**

Subgrupo tratado 1: Expuesto a fotoperíodo Inverso (n=6) durante los dos años del experimento.

Subgrupo testigo 1: Mantenido en fotoperíodo Natural (n=8)

**Grupo II (n=7): Animales con historia de exposición a fotoperíodo artificial inverso durante los tres meses previos al inicio del experimento.**

Subgrupo tratado 2: Expuesto a fotoperíodo Inverso (n=4) durante los dos años del experimento.

Subgrupo testigo 2: Mantenido en fotoperíodo Natural (n=3)

**Grupo III (n=9): Animales sin historia previa de fotoperíodo artificial y con antecedente de gestación y parto durante el cuarto mes del experimento.**

Subgrupo tratado 3: Expuesto a fotoperíodo Inverso (n=5) durante los dos años del experimento.

Subgrupo testigo 3: Mantenido en fotoperíodo Natural (n=4)

### **Tratamiento fotoperiódico**

Antes del inicio del experimento todos los animales del Grupo II, que venían de recibir un tratamiento de fotoperíodo artificial largo (16L:8D) por 3 meses, fueron expuestos a una *reducción proporcional de horas luz* con la finalidad de que al 21 de marzo de 1997 se encontraran en equinoccio (12L:12D), es decir, en las mismas condiciones que los animales de los grupos I y III, los cuales habían permanecido en fotoperíodo natural.

A partir del 21 de marzo, todos los animales de cada subgrupo tratado fueron expuestos a un tratamiento de fotoperíodo artificial inverso, esto es, fotoperíodo con una relación luz-obscuridad opuesta a la que naturalmente está ocurriendo [1]. Durante el día estos animales permanecieron alojados en un corral provisto de sombra donde fueron alimentados, y por la tarde fueron trasladados a una cámara de fotoperíodo artificial, la

cual consiste en un cuarto oscuro de 7 m de largo, 3 m de ancho y 2.5 m de alto, totalmente aislado de la luz natural, provisto con iluminación artificial suficiente para suministrar 350 lux de intensidad a la altura de la cabeza de los animales [32]. El control del encendido y apagado de la luz se realizó a través de un interruptor electrónico digital de tiempo marca Tork EW 101, el mismo que permitió programar a voluntad la duración de los días. Los cambios en la duración del fotoperíodo fueron graduales, simulando los naturales, pero con un desfase de 6 meses con relación al fotoperíodo natural. La diferencia máxima entre el día más largo y el día más corto del año fue de 2 horas y 12 minutos, tal como ocurre en esta latitud [31].

Todos los animales de cada subgrupo testigo permanecieron constantemente alojados en un corral con las mismas características que el primero, expuestos durante las 24 horas del día al fotoperíodo natural.

### **Muestras sanguíneas y análisis**

Se obtuvieron muestras de sangre (3 ml) de todos los animales 2 veces por semana entre las 9.00 y las 11.00 horas, durante 2 años consecutivos (1997-1998). Las muestras se tomaron por punción de la vena yugular en tubos heparinizados, y el plasma fue separado y almacenado a -20°C hasta el momento de su análisis.

Las concentraciones de progesterona se determinaron en el Laboratorio de Endocrinología de la FMVZ-UNAM, por medio de Radioinmunoanálisis heterólogo de fase sólida, usando un kit comercial de progesterona [33]. La sensibilidad del ensayo fue de 0.150 ng/ml y los coeficientes de variación intra e interensayo fueron de 5.0 % y de 9.5 %, respectivamente. Se consideró que una oveja había ovulado cuando se encontraron por lo menos 2 determinaciones consecutivas con valores iguales o mayores a 1 ng/ml [27].

### **Análisis de datos**

Se compararon la fecha promedio de inicio y término de la actividad ovulatoria, duración de la misma, y la duración de la inactividad ovárica entre cada subgrupo tratado y su correspondiente testigo en cada uno de los grupos principales. Todas las comparaciones se realizaron por medio de la Prueba de "t" [34].

## **2. Ritmo de secreción de melatonina**

Se utilizaron 10 ovejas distribuidas al azar en 2 grupos. El primero (grupo tratado, n=5) fue expuesto a tratamiento de fotoperíodo artificial inverso tal como se ha descrito para el

caso de la actividad ovárica cíclica, mientras que el segundo (grupo testigo, n=5) permaneció en condiciones naturales expuesto las 24 horas del día al fotoperíodo natural.

### **Muestreos sanguíneos y análisis**

Se colectaron muestras de sangre de todos los animales el 21 de septiembre de 1997 (equinoccio de otoño), el 21 de diciembre de 1997 (solsticio de invierno), el 21 de marzo de 1998 (equinoccio de primavera) y el 21 de junio de 1998 (solsticio de verano). En cada oportunidad se realizó un muestreo de 25 horas de duración, la frecuencia del muestreo fue de 1 vez cada hora durante día y noche, excepto en el período comprendido entre 2 horas antes y 2 horas después de apagarse y prenderse la luz en los grupos de fotoperíodo artificial, o del anochecer y del amanecer en los grupos testigos, durante el cual se incrementó la frecuencia de sangrado a 1 vez cada 30 minutos con la finalidad de obtener una estimación más precisa del inicio y del final de la elevación de melatonina. Para facilitar la obtención de las muestras en la oscuridad se utilizó un foco rojo de 1 lux de intensidad [35]. Las muestras fueron obtenidas, procesadas y almacenadas como se ha descrito anteriormente.

Las concentraciones plasmáticas de melatonina se determinaron en duplicado a través del método de Radioinmunoanálisis descrito por Fraser y col. [36] y Tillet y col. [37] modificado en el Laboratorio de Endocrinología de la FMVZ-UNAM. La modificación del método estuvo relacionada con el sistema de separación de la fracción unida de la libre, para esto se usó 1 ml (1.5 mg/ml) de suspensión celular de *Staphilococcus aureus* unida a una proteína A (Pansorbin-Cells, Calbiochem USA).

La sensibilidad del ensayo fue 4 pg/ml y los coeficientes de variación intra e interensayo fueron de 7.5 % y 13.7 %, respectivamente.

### **Análisis de datos**

Inicialmente, las concentraciones brutas de melatonina fueron analizadas por medio de un ANVA para mediciones repetidas de 3 factores (grupo, época y momento del día, con el efecto del animal anidado dentro del grupo), seguido de una Prueba de Tukey [38].

Posteriormente, para cada serie de muestreo de 25 horas, una elevación de melatonina se definió como el intervalo entre el primero y último valor que excedió los niveles basales precedentes y siguientes al período de oscuridad por más de 3 desviaciones estándares. Los niveles basales fueron definidos como la media de los valores diurnos precedentes y siguientes al período de oscuridad [35]. Sin embargo, esta metodología sólo funciona si

los valores diurnos son detectables, lo cual no fue el caso de presente experimento. Como los valores diurnos del presente ensayo fueron indetectables, se procedió a usar en su lugar un valor de 4 veces el valor umbral del ensayo. El valor mínimo detectable en este ensayo fue de 4 pg/ml (valor umbral), por lo que se consideró que una muestra era elevada si era igual o excedía los 16 pg/ml.

Finalmente se analizaron 2 aspectos de la elevación de melatonina: la duración (Tiempo durante el cual las concentraciones de melatonina se mantuvieron por encima de los 16 pg/ml) y la amplitud (valor medio de las concentraciones de melatonina menos el valor medio de los niveles basales antes y después de la elevación) [35]. Ambos aspectos se analizaron por medio de un ANVA para mediciones repetidas de 2 factores (grupo y época de muestreo, con el animal anidado dentro del grupo), las comparaciones de medias se hicieron por medio de una Prueba de Tukey [38].

### **3. Perfil de secreción de Prolactina**

Se utilizaron 10 ovejas distribuidas en 2 grupos de 5 animales cada uno. El primer grupo fue expuesto a tratamiento de fotoperíodo artificial inverso (grupo tratado, n=5), mientras que el segundo grupo permaneció en fotoperíodo natural (grupo testigo, n=5).

El tratamiento *fotoperiódico* en el grupo tratado se realizó como se ha descrito anteriormente. Los animales del grupo testigo permanecieron las 24 horas del día expuestos al fotoperíodo natural.

#### **Muestras sanguíneas y análisis**

Se obtuvieron muestras de sangre de todos los animales dos veces por semana entre las 9.00 y las 11.00 horas, durante 2 años consecutivos. Las muestras se tomaron, procesaron y almacenaron de la misma manera como se ha descrito anteriormente.

Los niveles plasmáticos de prolactina se midieron por Radioinmunoanálisis homólogo de fase sólida, utilizando el método de Kann [39], modificado por Perera y col. [40]. La sensibilidad del ensayo fue de 0.250 ng/ml y los coeficientes de variación intra e interensayo fueron de 5.8% y 12.5%, respectivamente.

#### **Análisis de datos**

Los niveles plasmáticos de prolactina fueron analizados inicialmente por medio de un ANVA para mediciones repetidas de 3 factores (grupo, año y estación o mes, con el efecto del animal anidado dentro del grupo). Como la interacción entre el primer factor y

los otros dos resultó significativa ( $P < 0.01$ ), el análisis se restringió a cada grupo, por medio de un ANVA para mediciones repetidas de 2 factores (año, y estación o mes). La comparación de medias se realizó por medio de la Prueba de Tukey [38].

## Resultados

### Actividad Ovárica

En el Cuadro 2, que corresponde a los animales sin historia previa de fotoperíodo artificial, se observa que la actividad ovárica se inició significativamente más temprano ( $P < 0.01$ ) en el subgrupo mantenido en fotoperíodo inverso que en el testigo, tanto para el primero como para el segundo año (16 de junio y 4 de marzo para el subgrupo tratado, contra 31 de julio y 19 de julio para el subgrupo testigo, en el primer y segundo año, respectivamente). Similarmente, el final de la actividad ovárica en el primer año se produjo significativamente más temprano ( $P < 0.05$ ) en el subgrupo tratado que en el testigo (19 de noviembre de 1997 y 21 de febrero de 1998, respectivamente). Al final del segundo año de experimento (20 de diciembre de 1998), el 50% de los animales del subgrupo tratado habían dejado de ovular, mientras que el 100% de los del testigo continuaban ciclando. En el subgrupo tratado hubieron 2 ovejas (N° 6 y N° 29) que no interrumpieron su actividad ovulatoria durante todo el experimento, por lo que no se tomaron en cuenta para el cálculo de la fecha de término de la actividad ovárica el primer año, y del inicio de la misma el segundo año. La duración del período de actividad ovulatoria durante el primer año no fue significativamente diferente ( $P > 0.05$ ) para el subgrupo tratado con respecto al subgrupo testigo ( $154.5 \pm 32.5$  y  $204.8 \pm 9.2$  días, respectivamente). Similarmente, la duración del período de inactividad ovárica durante el mismo año tampoco mostró diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre ambos subgrupos, siendo ésta de  $105.2 \pm 50.3$  días para el subgrupo tratado y de  $148.2 \pm 6.9$  días para el subgrupo testigo.

En el Cuadro 3 se presentan los resultados de la actividad ovárica del grupo de animales que habían recibido un tratamiento de fotoperíodo artificial (fotoperíodo largo, 16L:8D) antes del inicio del experimento. En este cuadro puede apreciarse que la fecha de inicio de la actividad ovulatoria el primer año no mostró diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre el subgrupo tratado y el subgrupo testigo (22 de marzo y 3 de abril, respectivamente). En contraste, el final de la actividad ovulatoria en ese año ocurrió significativamente más temprano ( $P < 0.05$ ) en el subgrupo tratado que en el testigo (25 de diciembre y 15 de marzo, respectivamente). En el segundo año, la actividad ovulatoria se

inició significativamente más temprano ( $P < 0.01$ ) en el subgrupo tratado que en el testigo (8 de febrero y 27 de julio, respectivamente). En el subgrupo tratado existió una oveja (N° 20) que no interrumpió su actividad ovulatoria hasta el 2 de octubre del segundo año, fecha en la cual murió, por lo cual no se consideró para los cálculos de la fecha de término de la actividad ovárica el primer año y de inicio de la misma el segundo año, en su respectivo grupo. Al final del segundo año de experimento el 35% de ovejas del subgrupo tratado había dejado de ovular, mientras que el 100% de las ovejas del subgrupo testigo continuaban ciclando.

No se observó diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) en cuanto a la duración del período de actividad ovárica entre el subgrupo tratado y el testigo ( $268.6 \pm 31.7$  y  $345.6 \pm 9.8$  días, respectivamente). En contraste, el período de inactividad ovárica fue significativamente menor ( $P < 0.05$ ) para el subgrupo tratado con respecto al testigo ( $45.0 \pm 14.5$  y  $134.3 \pm 18.9$  días, respectivamente).

En el Cuadro 4 se presentan los resultados de la actividad ovárica de ovejas sin historia previa de fotoperíodo artificial, pero con antecedente de gestación y parto en los primeros meses del experimento (Grupo III). En este cuadro se aprecia que el inicio de la actividad ovárica ocurrió significativamente más temprano ( $P < 0.05$ ) en el subgrupo tratado que en el testigo, tanto para el primero como para el segundo año. Las fechas fueron el 14 de julio y el 22 de febrero para el subgrupo tratado contra el 3 de agosto y 3 de julio para el subgrupo testigo, en el primer y segundo año, respectivamente. Durante el primer año, la actividad ovulatoria finalizó significativamente más temprano ( $P < 0.01$ ) en el subgrupo tratado que en el testigo (5 de noviembre y 5 de febrero, respectivamente). Asimismo, la duración del período de actividad ovárica del subgrupo tratado fue significativamente menor ( $P < 0.05$ ) con respecto a la del subgrupo testigo ( $113.6 \pm 21.3$  y  $186.5 \pm 11.5$  días, respectivamente); mientras que la duración del período de inactividad ovárica no fue significativamente diferente ( $P > 0.05$ ) entre estos dos subgrupos ( $109.4 \pm 35.1$  y  $147.2 \pm 10.1$  días, respectivamente). Al finalizar el segundo año de experimento, el 40% de animales del subgrupo tratado habían dejado de ovular, mientras que el 100% de los animales del subgrupo testigo continuaban ciclando.

Un análisis general de los tres grupos principales mostró que el inicio de la actividad ovárica el segundo año ocurrió significativamente más temprano ( $P < 0.01$ ) en los animales tratados que en los testigos. La fecha de inicio de la actividad ovárica el segundo año fue el 16 de julio para el grupo en fotoperíodo natural y el 21 de febrero para el grupo en fotoperíodo inverso.

En las Fig. 2, 3 y 4 puede observarse de manera gráfica los períodos de actividad ovárica de las ovejas de los subgrupos tratados como de los testigos. En estas figuras se observa claramente el desfase de la actividad ovárica en los subgrupos tratados con respecto a los testigos.

En las Fig. 5, 6 y 7 se observa la distribución de la actividad ovárica individual de las ovejas en los diferentes subgrupos, tanto para el primero como para el segundo año. En ellas puede verse que el inicio de la actividad ovulatoria en los subgrupos de fotoperíodo natural coincide con el decrecimiento en la longitud del fotoperíodo; en contraste el cese de dicha actividad se relaciona con el alargamiento del fotoperíodo. La inversión del fotoperíodo en los subgrupos tratados adelanta el inicio y término de la actividad ovulatoria en armonía con el nuevo fotoperíodo.

**CUADRO 2**

(Grupo I)

Actividad ovárica en ovejas Pelibuey sin historia previa de fotoperíodo artificial antes del inicio del experimento y expuestas a fotoperíodo natural o inverso durante dos años a partir del 21 de diciembre de 1996. Los valores representan la media  $\pm$  ee.

Tipo de Fotoperíodo	Primer período de actividad ovárica			Duración de inactividad ovárica (días)	Segundo período Inicio (fecha)
	Inicio (fecha)	Duración (días)	Final (fecha)		
- Inverso (n=6)	16 JUN 97 *** ( $\pm$ 7.0 días)	154.5 $\pm$ 32.5 * ( $\pm$ 7.0 días)	19 NOV 97 ** ( $\pm$ 31.4 días)	105.2 $\pm$ 50.3 * ( $\pm$ 7.0 días)	4 MAR 98 *** ( $\pm$ 27.6 días)
- Natural (n=8)	31 JUL 97 ( $\pm$ 5.8 días)	204.8 $\pm$ 9.2 ( $\pm$ 5.8 días)	21 FEB 98 ( $\pm$ 6.7 días)	148.2 $\pm$ 6.9 ( $\pm$ 6.7 días)	19 JUL 98 ( $\pm$ 7.0 días)

\* los valores para el fotoperíodo inverso no son diferentes a los del fotoperíodo natural (P>0.05).

\*\* los valores para el fotoperíodo inverso son diferentes a los del fotoperíodo natural (P<0.05).

\*\*\* los valores para el fotoperíodo inverso son diferentes a los del fotoperíodo natural (P<0.01).

[Dos ovejas sin interrupción de la actividad ovárica]

### CUADRO 3

(Grupo II)

Actividad ovárica en ovejas Pelibuey con historia de exposición a fotoperíodo artificial antes del inicio del experimento y sometidas a fotoperíodo natural o inverso durante dos años a partir del 21 de diciembre de 1996. Los valores representan la media  $\pm$  ee.

Tipo de Fotoperíodo	Primer período de actividad ovárica			Duración de inactividad ovárica (días)	Segundo período Inicio (fecha)
	Inicio (fecha)	Duración (días)	Final (fecha)		
- Inverso (n=4)	22 MAR 97 * ( $\pm$ 13.5 días)	268.6 $\pm$ 31.7 * ( $\pm$ 26.1 días)	25 DIC 97 ** ( $\pm$ 26.1 días)	45.0 $\pm$ 14.5 **	8 FEB 98 *** ( $\pm$ 32.3 días)
- Natural (n=3)	3 ABR 97 ( $\pm$ 7.5 días)	345.6 $\pm$ 9.8	15 MAR 98 ( $\pm$ 2.3 días)	134.3 $\pm$ 18.9	27 JUL 98 ( $\pm$ 17.2 días)

\* los valores para el fotoperíodo inverso no son diferentes a los del fotoperíodo natural (P>0.05).

\*\* los valores para el fotoperíodo inverso son diferentes a los del fotoperíodo natural (P<0.05).

\*\*\* los valores para el fotoperíodo inverso son diferentes a los del fotoperíodo natural (P<0.01).

[Una oveja sin interrupción de la actividad ovárica]

#### CUADRO 4

(Grupo III)

Actividad ovárica en ovejas Pelibuey sin historia previa de fotoperíodo artificial antes del inicio del experimento pero con antecedente de gestación y parto y expuestas a fotoperíodo natural o inverso durante dos años a partir del 21 de diciembre de 1996. Los valores representan la media  $\pm$  ee.

Tipo de Fotoperíodo	Primer período de actividad ovárica			Duración de inactividad ovárica (días)	Segundo período Inicio (fecha)
	Inicio (fecha)	Duración (días)	Final (fecha)		
- Inverso (n=5)	14 JUL 97 ** ( $\pm$ 5.2 días)	113.6 $\pm$ 21.3 **	5 NOV 97 *** ( $\pm$ 17.7 días)	109.4 $\pm$ 35.1 *	22 FEB 98 ** ( $\pm$ 40.0 días)
- Natural (n=8)	3 AGO 97 ( $\pm$ 5.9 días)	186.5 $\pm$ 11.5	5 FEB 98 ( $\pm$ 10.6 días)	147.2 $\pm$ 10.1	3 JUL 98 ( $\pm$ 8.5 días)

\* los valores para el fotoperíodo inverso no son diferentes a los del fotoperíodo natural ( $P > 0.05$ ).

\*\* los valores para el fotoperíodo inverso son diferentes a los del fotoperíodo natural ( $P < 0.05$ ).

\*\*\* los valores para el fotoperíodo inverso son diferentes a los del fotoperíodo natural ( $P < 0.01$ ).

Duración del fotoperíodo (h)

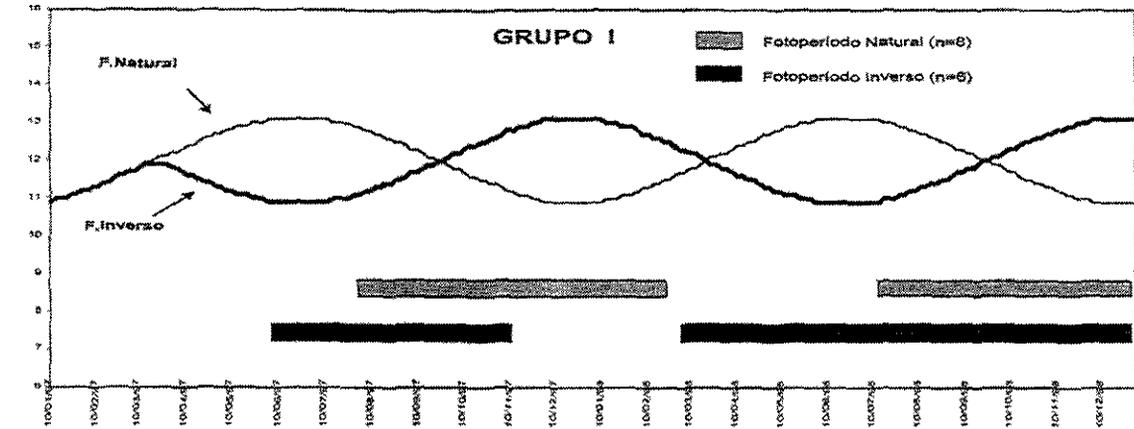


Fig. 2. Actividad ovárica en ovejas Pelibuey en fotoperíodo natural y en fotoperíodo inverso. Animales sin historia de fotoperíodo artificial previa al inicio del experimento.

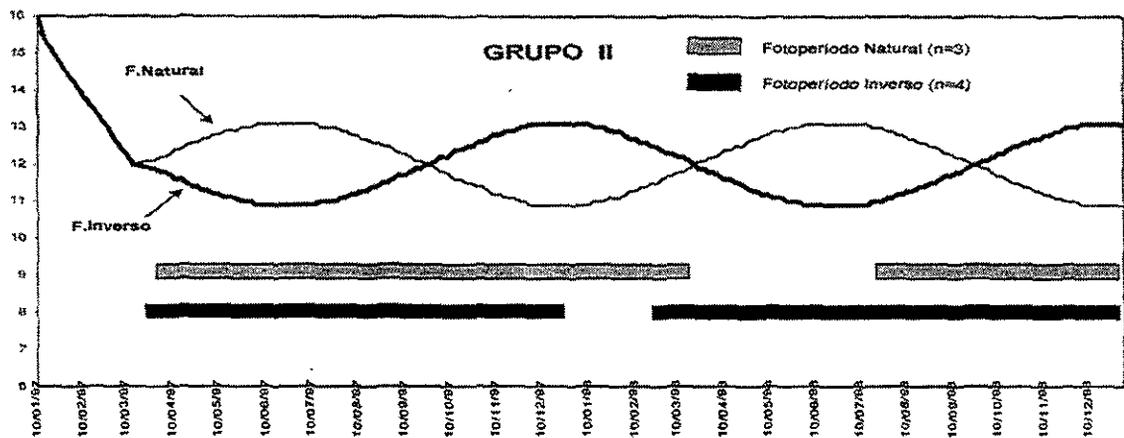


Fig. 3. Actividad ovárica en ovejas Pelibuey en fotoperíodo natural y en fotoperíodo inverso. Animales con historia de fotoperíodo artificial previa al inicio del experimento.

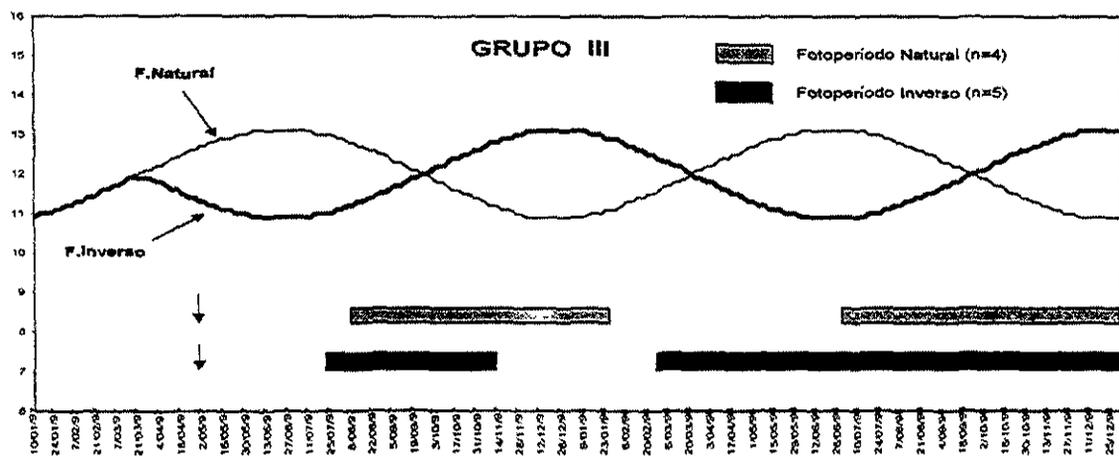
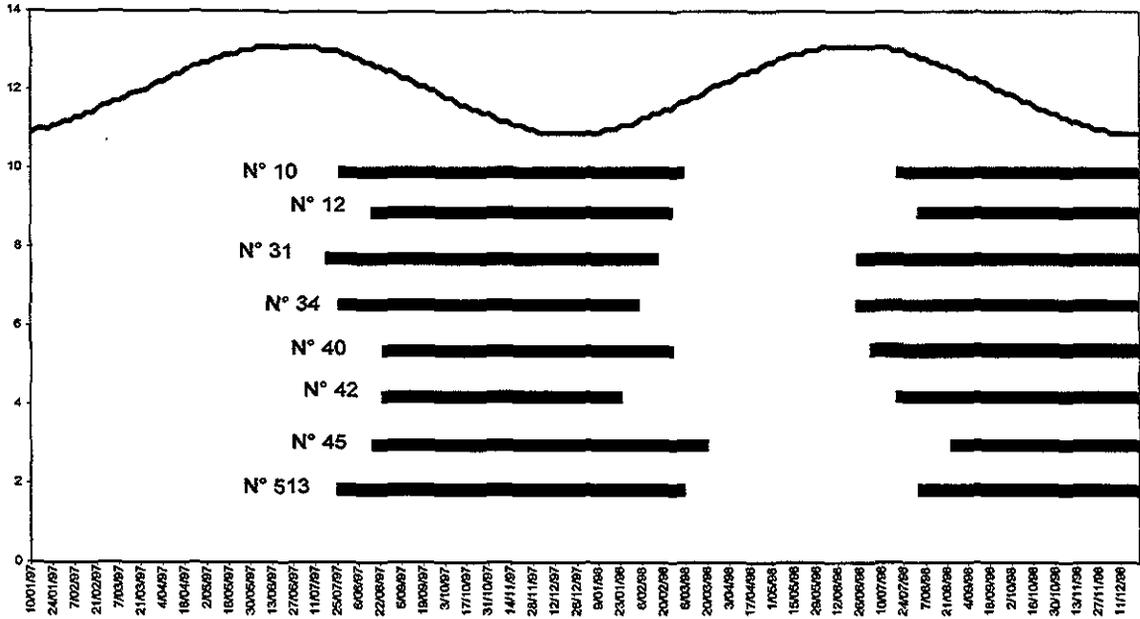


Fig. 4. Actividad ovárica en ovejas Pelibuey en fotoperíodo natural y en fotoperíodo inverso. Animales sin historia previa de fotoperíodo artificial y con antecedente de gestación y parto. La fecha representa la fecha promedio de parto.

Duración del  
fotoperíodo (h)

Fotoperíodo natural



Fotoperíodo inverso

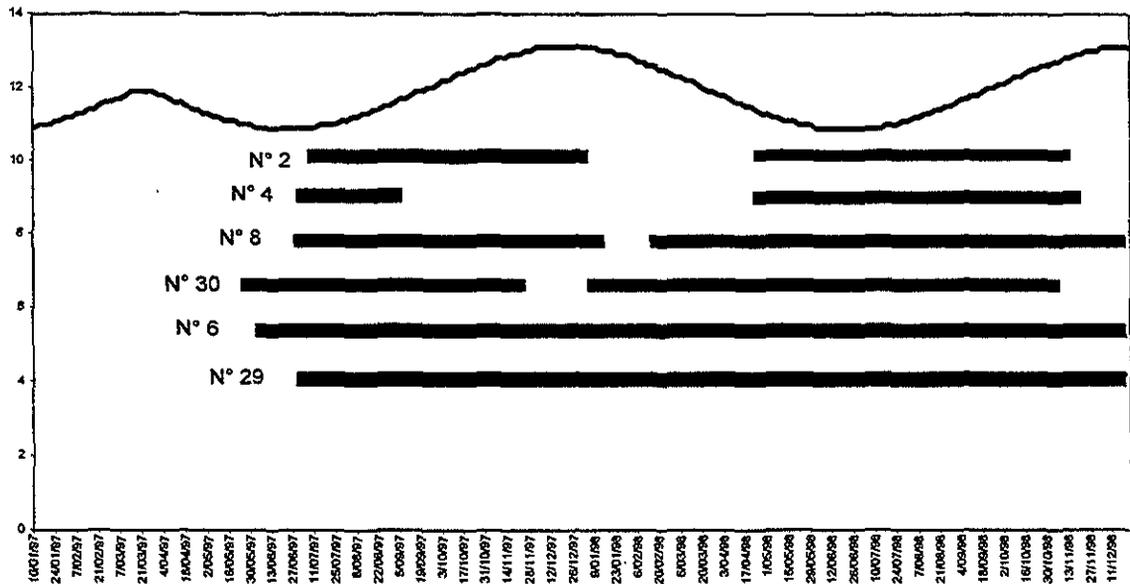


Fig. 5. Actividad ovárica individual de ovejas Pelibuey expuestas a fotoperíodo natural (arriba) y a fotoperíodo inverso (abajo). Animales sin historia previa de fotoperíodo artificial.

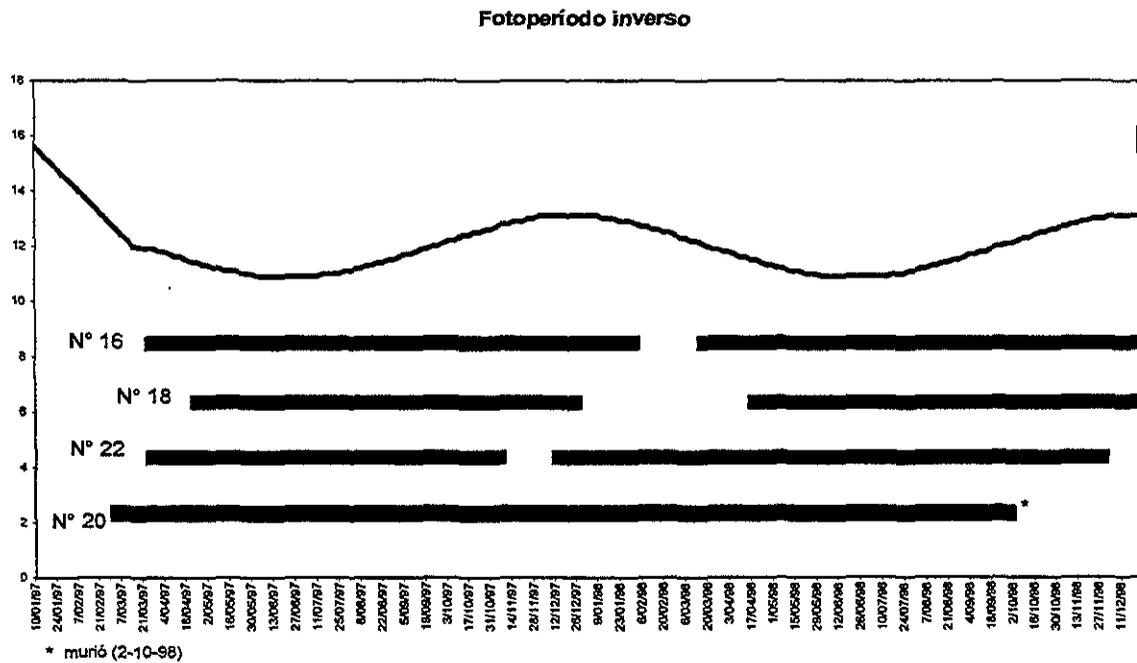
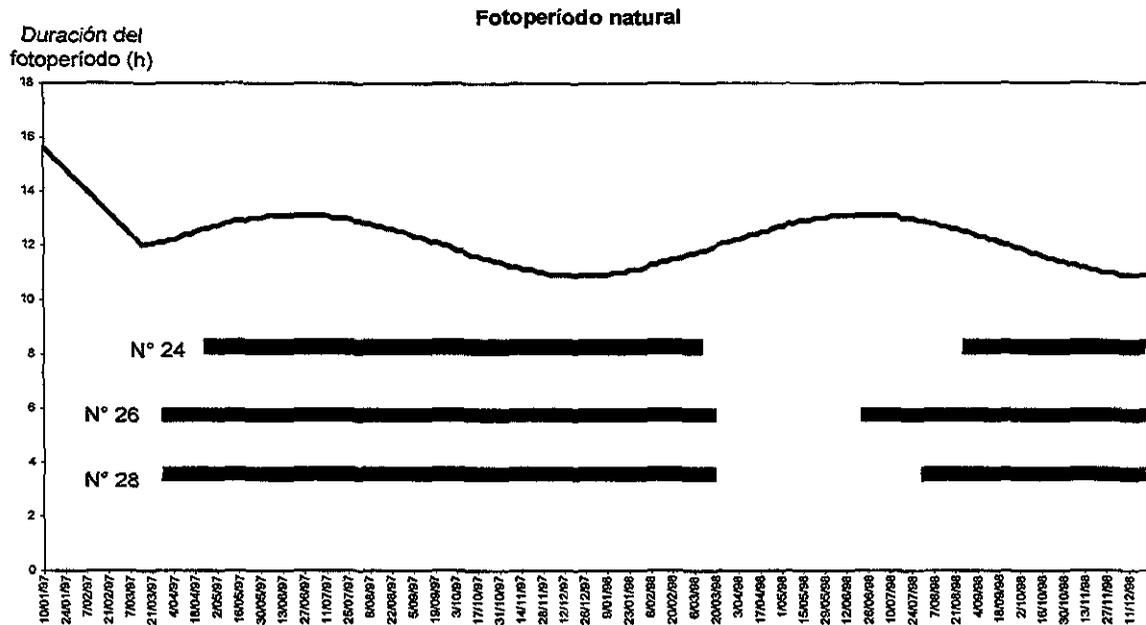
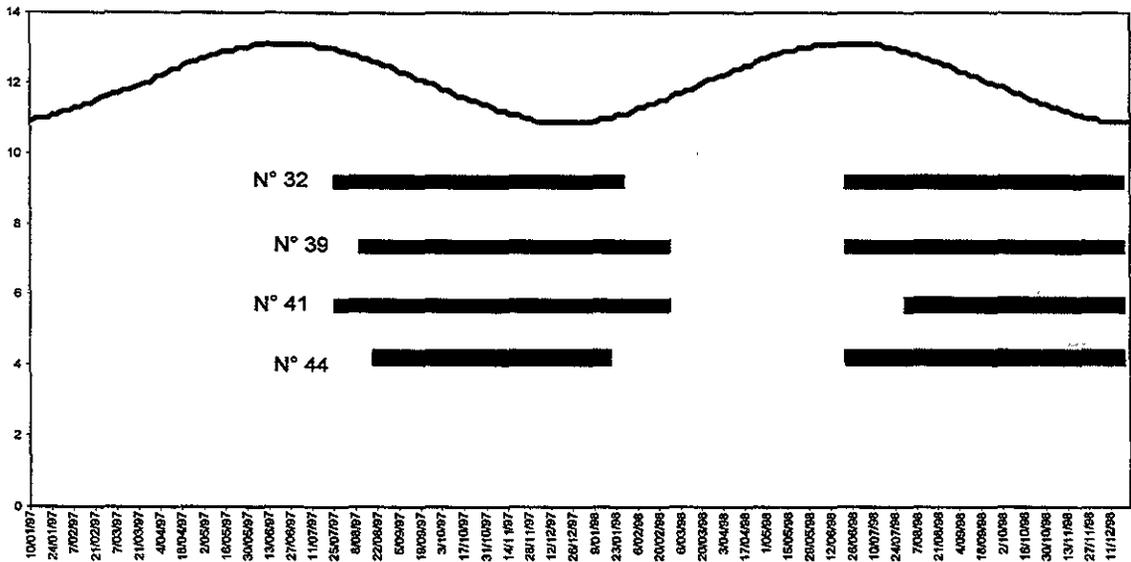


Fig. 6. Actividad ovárica individual de ovejas Pelibuey expuestas a fotoperíodo natural (arriba) y a fotoperíodo inverso (abajo). Animales con historia previa de fotoperíodo artificial.

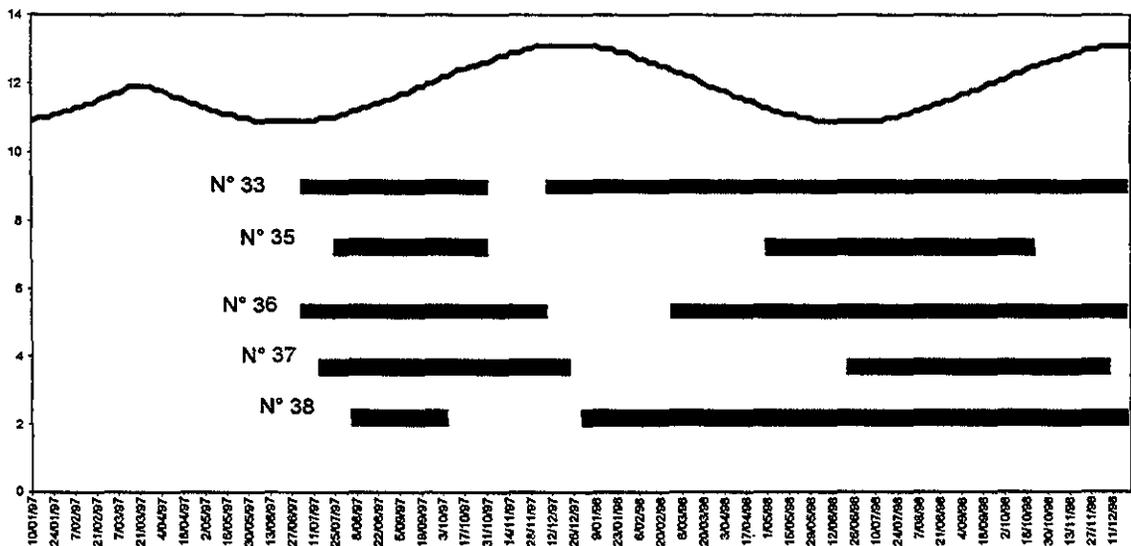
ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Duración del  
fotoperíodo (h)

**Fotoperíodo natural**



**Fotoperíodo inverso**



**Fig. 7.** Actividad ovárica individual de ovejas Pelibuey expuestas a fotoperíodo natural (arriba) y a fotoperíodo inverso (abajo). Animales sin historia de fotoperíodo artificial pero con antecedente de gestación y parto en la primera parte del experimento.

### Ritmo de secreción de melatonina

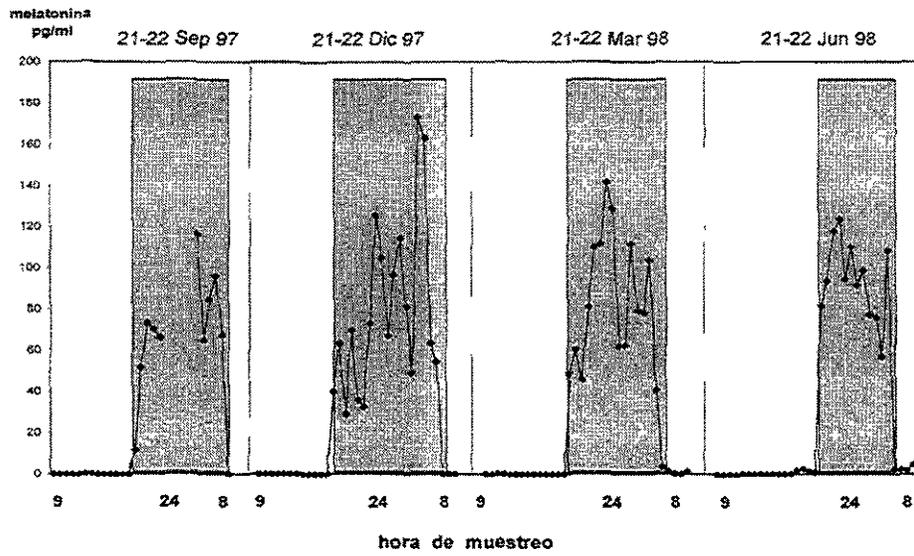
En la Fig. 8 se presenta el patrón de secreción de melatonina de 25 horas en la oveja Pelibuey expuesta a fotoperíodo natural y a fotoperíodo inverso. Los muestreos se realizaron en cada solsticio y en cada equinoccio y en todos los casos se observa un ritmo día-noche bien definido, con niveles altos en la noche y niveles indetectables en el día. En cada período de muestreo la concentración de melatonina se elevó abruptamente dentro de la primera hora después de apagarse la luz o de la puesta del sol, y cayó a niveles indetectables poco antes o inmediatamente después de que la luz se prendiera o amaneciera.

En el Cuadro N° 5 se muestra la concentración nocturna media de melatonina por época de muestreo. El análisis de varianza para mediciones repetidas reveló que no hubo efecto significativo ( $P>0.05$ ) de la época del año sobre los niveles medios de melatonina, pero sí un efecto significativo ( $P<0.01$ ) del momento de la toma de la muestra sobre esta variable. La concentración media más alta de melatonina se registró a las 24.00 horas (139.7 pg/ml) y la más baja durante la primera hora del período de oscuridad (36.7 pg/ml). Tampoco se observó un efecto significativo ( $P>0.05$ ) del grupo sobre la concentración media de melatonina.

En la Fig. 9 se observa la duración de la elevación de melatonina por época del año. No se observó un efecto significativo ( $P>0.05$ ) del tipo de fotoperíodo (natural o inverso) sobre la duración de la elevación de melatonina, pero sí un efecto significativo ( $P<0.01$ ) de la época del año sobre dicha variable. Tampoco se pudo observar una interacción significativa ( $P>0.05$ ) entre grupo y estación, por lo que fue posible trabajar con el promedio de los dos grupos. La concentración media de melatonina permaneció elevada por mayor tiempo cuando las noches eran largas que cuando eran cortas (11.8 horas y 9.6 horas, respectivamente) (Cuadro N° 6). En el Cuadro N° 7 se observa la duración media de niveles elevados de melatonina en fotoperíodo natural e inverso. En ambos tipos de fotoperíodo se pueden observar variaciones significativas en la duración de acuerdo a la época de muestreo.

En la Fig. 11 se muestra la amplitud de la secreción de melatonina, en ella puede observarse que no existió variación significativa ( $P>0.05$ ) de la amplitud de la secreción de melatonina en diferentes épocas de muestreo (Cuadro N° 7).

### Fotoperiodo Natural



### Fotoperiodo Inverso

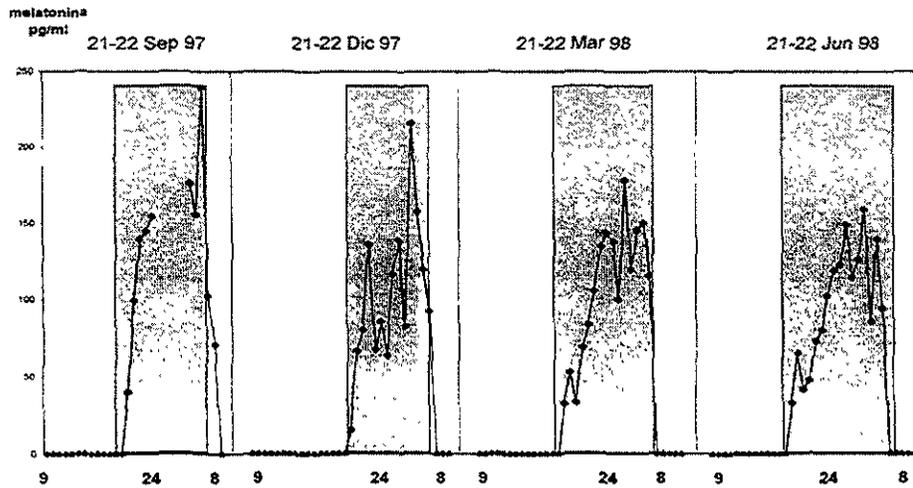


Fig. 8. Ritmo de secreción de melatonina en la oveja Pelibuey en fotoperiodo natural (arriba) y en fotoperiodo inverso (abajo). Los valores representan la media de 5 animales por grupo. La zona sombreada en cada época representa el período de oscuridad.

### Cuadro N° 5

Concentración nocturna media de melatonina plasmática (pg/ml) por época de muestreo en ovejas Pelibuey. Los valores representan la media de los dos grupos (fotoperíodo natural y fotoperíodo inverso).

Época de muestreo	Concentración de melatonina (pg/ml)
21-22 Sep 97	113.3 ± 11.3 a
21-22 Dic 97	98.0 ± 8.7 a
21-22 Mar 98	95.6 ± 6.9 a
21-22 Jun 98	88.8 ± 6.1 a

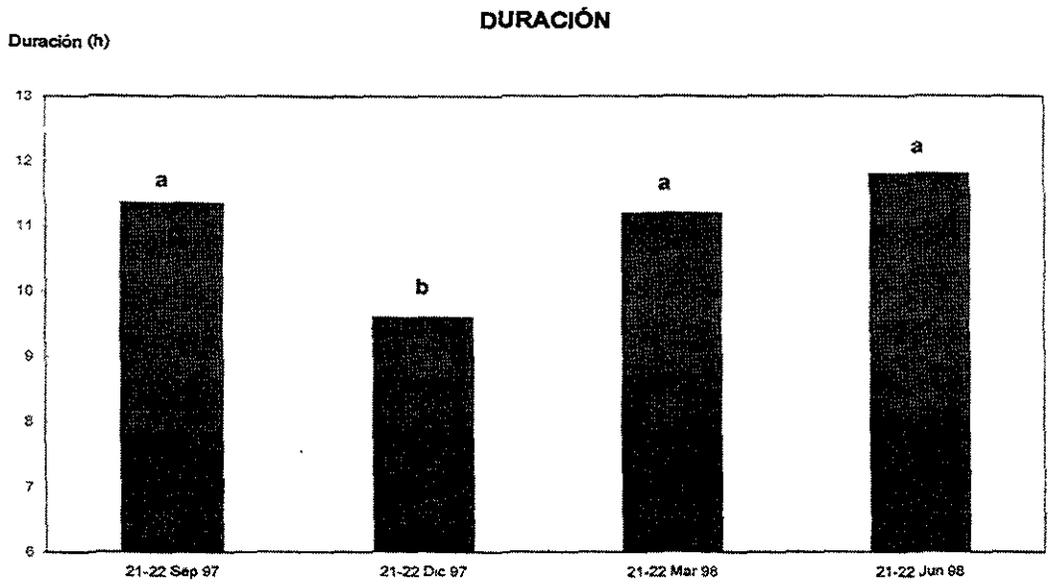
a: valores con la misma literal no son estadísticamente diferentes ( $P>0.05$ ).

### Cuadro N° 6

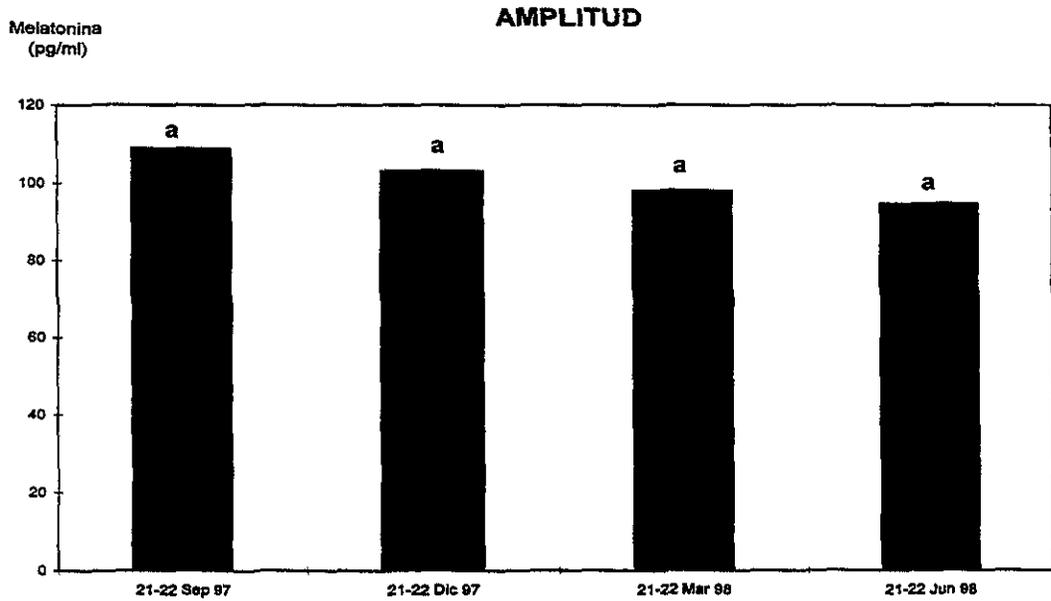
Duración de la elevación de melatonina en la oveja Pelibuey. Los valores representan la media de los dos grupos (fotoperíodo natural y fotoperíodo inverso).

Época de muestreo	Duración (h)
21-22 Sep 97	11.3 ± 0.1 a
21-22 Dic 97	9.6 ± 0.3 b
21-22 Mar 98	11.2 ± 0.2 a
21-22 Jun 98	11.8 ± 0.3 a

a,b: valores con distinta literal son estadísticamente diferentes ( $P<0.01$ ).



**Fig. 9.** Duración de la elevación nocturna de melatonina en la oveja Pelibuey. Los valores representan la media para los dos grupos de fotoperíodo (natural e inverso).



**Fig. 10.** Amplitud de la elevación nocturna de melatonina en la oveja Pelibuey. Los valores representan la media para los dos grupos de fotoperíodo (natural e inverso).

**Cuadro N° 7**

Duración de la elevación de melatonina en ovejas Pelibuey en fotoperíodo natural y en fotoperíodo inverso. Los valores representan la media de 5 animales por grupo  $\pm$  ee.

Época de muestreo	Fotoperíodo Inverso Duración (h)	Fotoperíodo Natural Duración (h)
21-22 Sep 97	11.7 $\pm$ 0.2 a	11.3 $\pm$ 0.4 a
21-22 Dic 97	9.5 $\pm$ 0.7 b *	11.3 $\pm$ 0.5 a
21-22 Mar 98	11.1 $\pm$ 0.1 a	11.0 $\pm$ 0.1 a
21-22 Jun 98	12.3 $\pm$ 0.1 a **	9.7 $\pm$ 0.2 b

a,b: valores con distinta literal en cada columna son estadísticamente diferentes (P<0.01)

\* Los valores para el fotoperíodo inverso son diferentes a los del fotoperíodo natural (P<0.05).

\*\* Los valores para el fotoperíodo inverso son diferentes a los del fotoperíodo natural (P<0.01)

**Cuadro N° 8**

Amplitud de la elevación de melatonina en la oveja Pelibuey

Los valores representan la media de los dos grupos  
(fotoperíodo natural y fotoperíodo inverso)

Época de muestreo	Amplitud (pg/ml)
21-22 Sep 97	108.9 $\pm$ 21.8 a
21-22 Dic 97	103.2 $\pm$ 17.3 a
21-22 Mar 98	98.1 $\pm$ 16.5 a
21-22 Jun 98	94.7 $\pm$ 10.5 a

a: valores con la misma literal no son estadísticamente diferentes (P>0.05).

### **Perfil de secreción de prolactina**

Las concentraciones medias de prolactina siguieron una variación estacional paralela a la longitud del fotoperíodo, tanto en fotoperíodo natural como en fotoperíodo inverso (Fig. 11). En la Fig. 12 se pueden observar las tendencias que siguieron los niveles de prolactina ajustados por regresión polinomial de quinto orden tanto en fotoperíodo natural como en fotoperíodo inverso.

El análisis de varianza reveló un efecto significativo ( $P < 0.01$ ) de la estación sobre las concentraciones medias de prolactina en fotoperíodo natural (Fig. 13) y en fotoperíodo inverso (Fig. 14). En el grupo testigo, los valores máximos se presentaron en primavera y los más bajos en otoño; mientras que en el grupo tratado se pudo observar la misma tendencia, aunque con un desfase de 6 meses como consecuencia de la inversión del fotoperíodo (Cuadro N° 9).

Similarmente, se observó un efecto significativo ( $P < 0.01$ ) del mes sobre las concentraciones medias de prolactina en fotoperíodo natural (Fig. 15) y en fotoperíodo inverso (Fig. 16). En fotoperíodo natural las concentraciones más altas se observaron en los meses de mayo y junio, es decir, durante días largos; mientras que los valores más bajos se observaron en octubre y noviembre, es decir, cuando los días eran cortos. La inversión del fotoperíodo en el grupo tratado también reveló un efecto ( $P < 0.01$ ) del mes, sólo que en este caso, los valores en las concentraciones de prolactina se invirtieron con respecto a las del grupo testigo; las concentraciones más altas se observaron en septiembre, octubre y noviembre, mientras que las más bajas, en mayo y junio (Cuadro N° 10).

En el grupo de fotoperíodo natural se observó un efecto del año de muestreo sobre las concentraciones medias de prolactina ( $P < 0.01$ ), las concentraciones fueron mayores en el segundo año con respecto al primer año. En el grupo tratado no se observó este efecto ( $P > 0.05$ ).



PRL ajustado  
(ng/ml)

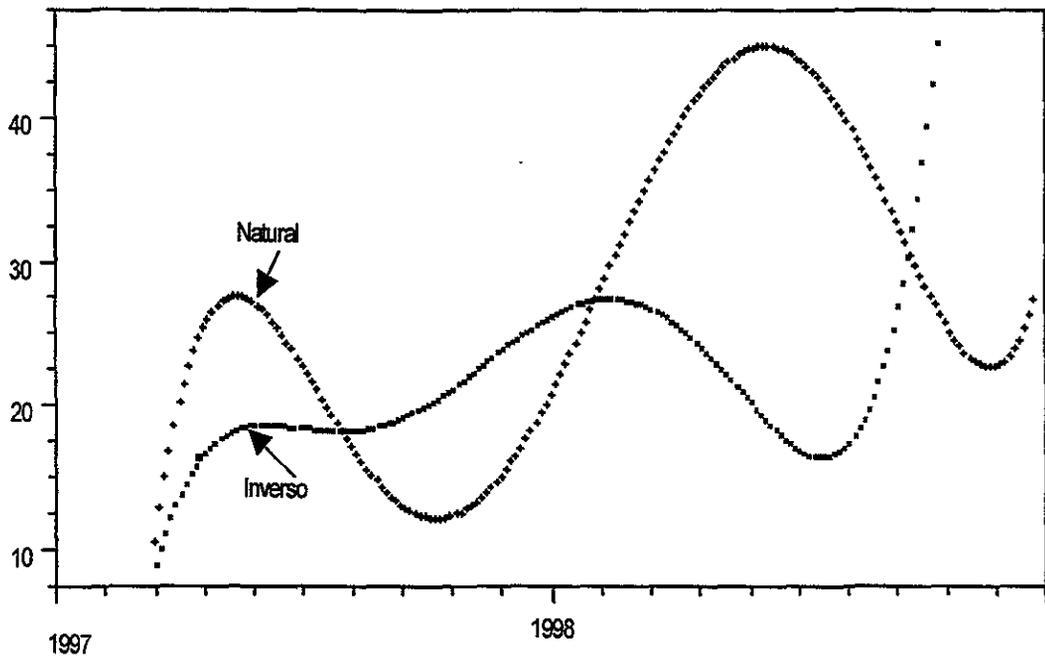
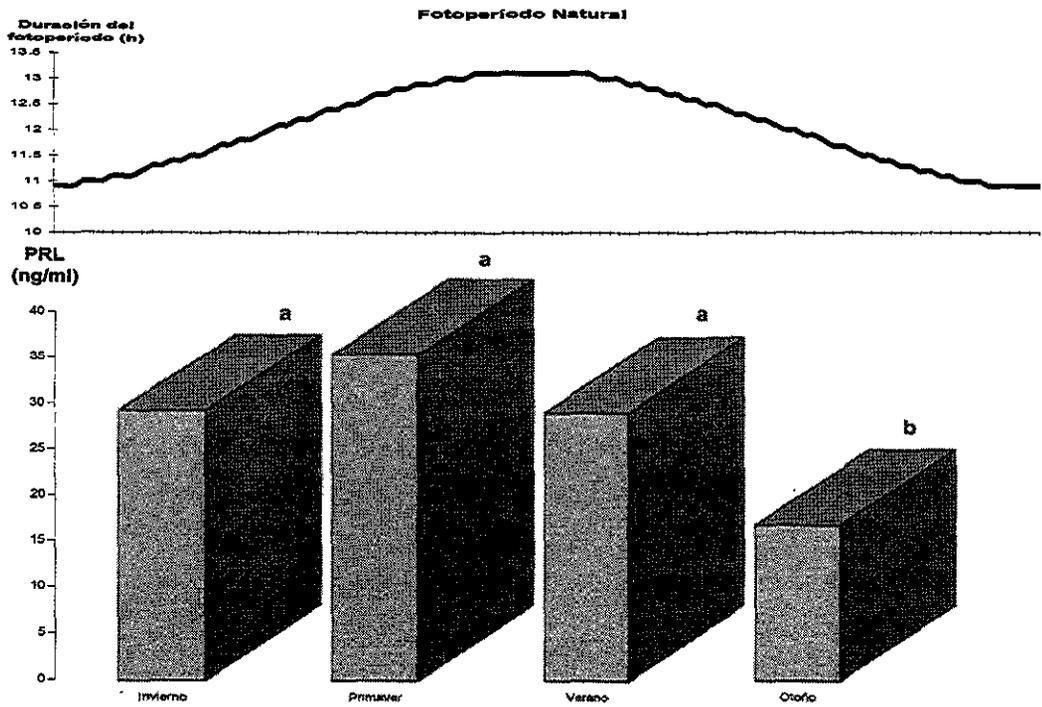
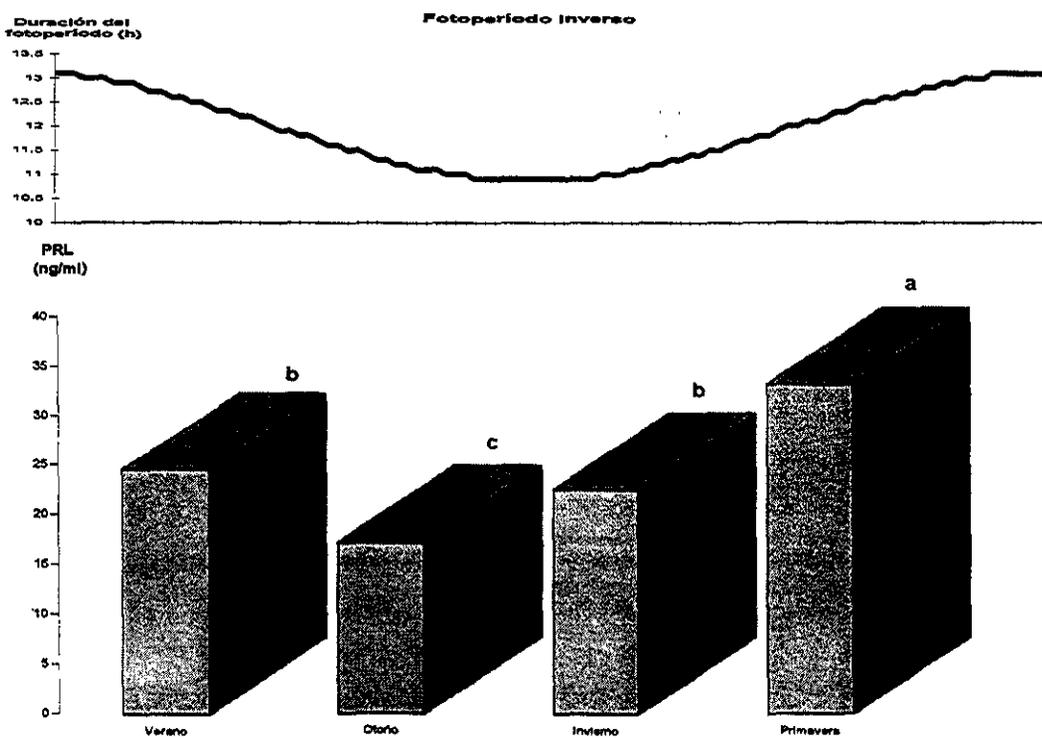


Fig. 12. Perfil de Prolactina ajustado por regresión polinomial en ovejas Pelibuey expuestas a fotoperiodo natural e inverso durante 2 años.



**Fig. 13.** Concentración media de PRL por estación en ovejas Pelibuey en fotoperíodo natural.



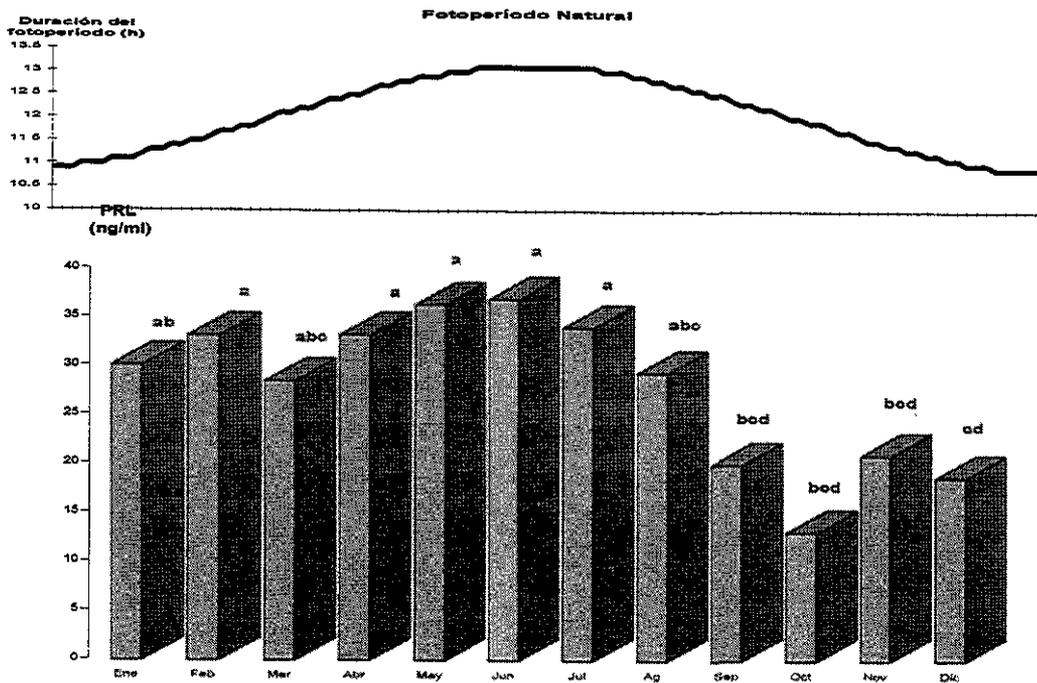
**Fig. 14.** Concentración media de PRL por estación en ovejas Pelibuey en fotoperíodo artificial inverso.

**Cuadro 9**

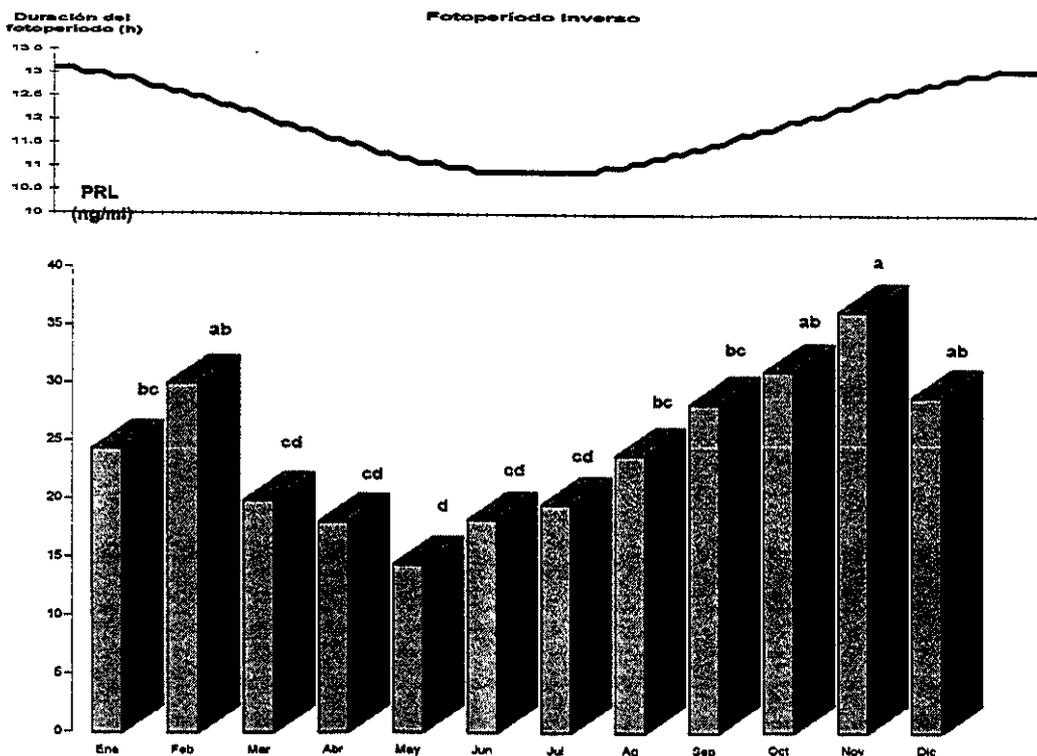
Concentración media de prolactina (ng/ml) por estación en ovejas Pelibuey en fotoperíodo natural e inverso. Los valores representan la media de 5 animales en cada grupo  $\pm$  ee.

<b>Estación</b>	<b>Fotoperíodo Natural</b>	<b>Fotoperíodo Inverso</b>
<b>Invierno</b>	29.3 $\pm$ 7.2 a	22.6 $\pm$ 2.2 b
<b>Primavera</b>	35.4 $\pm$ 8.1 a	33.3 $\pm$ 3.9 a
<b>Verano</b>	29.1 $\pm$ 6.1 a	24.6 $\pm$ 3.4 b
<b>Otoño</b>	16.8 $\pm$ 4.7 b	17.2 $\pm$ 1.9 c

a, b, c: valores con distinta literal en cada columna son estadísticamente diferentes ( $P < 0.01$ ).



**Fig. 15.** Concentración media de PRL por mes en ovejas Pelibuey en fotoperíodo natural.



**Fig. 16.** Concentración media de PRL por mes en la oveja Pelibuey en fotoperíodo artificial inverso.

**Cuadro 9**

Concentración media de prolactina (ng/ml) por mes en ovejas Pelibuey en fotoperíodo natural e inverso. Los valores representan la media de 5 animales en cada grupo  $\pm$  ee.

Mes del año	Fotoperíodo	
	Natural	Inverso
Enero	30.1 $\pm$ 9.0 ab	24.4 $\pm$ 2.5 bc
Febrero	33.1 $\pm$ 7.8 a	30.0 $\pm$ 5.9 ab
Marzo	28.4 $\pm$ 6.3 abc	19.9 $\pm$ 3.0 cd
Abril	33.2 $\pm$ 8.6 a	18.1 $\pm$ 3.1 cd
Mayo	36.3 $\pm$ 8.9 a *	14.4 $\pm$ 1.8 d
Junio	36.9 $\pm$ 7.2 a *	18.3 $\pm$ 1.3 cd
Julio	33.9 $\pm$ 8.6 a	19.6 $\pm$ 2.6 cd
Agosto	29.3 $\pm$ 6.6 abc	23.8 $\pm$ 3.2 bc
Septiembre	19.9 $\pm$ 4.7 bcd	28.3 $\pm$ 3.6 bc
Octubre	13.1 $\pm$ 3.4 d **	31.1 $\pm$ 4.7 ab
Noviembre	20.9 $\pm$ 6.4 bcd	36.3 $\pm$ 4.5 a
Diciembre	18.6 $\pm$ 5.3 cd	28.9 $\pm$ 3.1 ab

a,b,c,d: valores con distinta literal en cada columna son estadísticamente diferentes ( $P < 0.01$ ).

\* Los valores para el fotoperíodo natural son diferentes a los del fotoperíodo inverso ( $P < 0.05$ )

\*\* Los valores para el fotoperíodo natural son diferentes a los del fotoperíodo inverso ( $P < 0.01$ ).

## **Discusión**

### **Actividad Ovárica**

Desde hace mucho tiempo se ha demostrado que la inversión del ciclo fotoperiódico anual sin ningún cambio en otros factores ambientales provoca un desplazamiento de 6 meses en la actividad reproductiva de la oveja [1,3], lo cual demuestra, sin ninguna duda, que el fotoperíodo es el principal factor ambiental que regula la estacionalidad reproductiva, al menos en ovinos de climas templados. Similarmente, existen buenas evidencias que indican que las variaciones estacionales en la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey son independientes de las condiciones nutricionales [25,26,41,42], lo cual sugiere la participación del fotoperíodo en la regulación de la actividad reproductiva de esta raza de ovinos. Por otro lado, Porras y col.[30] han demostrado que la oveja Pelibuey responde a cambios en el fotoperíodo artificial, aunque esta respuesta fue obtenida con cambios abruptos en la duración del fotoperíodo y con 8 h de diferencia entre días largos y días cortos.

Los resultados del presente trabajo demuestran por primera vez que la oveja Pelibuey, bajo condiciones controladas de alimentación, es capaz de responder a cambios graduales en la longitud del fotoperíodo como los que ocurren de manera natural en la latitud de México (19° N), donde la diferencia entre el día más largo y el día más corto del año es tan sólo de 2 horas y 12 minutos [31]. Así, en los grupos I y III (animales sin historia previa de fotoperíodo artificial) la fecha promedio de inicio y término de la actividad ovulatoria durante el primer año fue significativamente diferente en los subgrupos tratados respecto de los testigos. La primera ovulación ocurrió significativamente más pronto en las ovejas que fueron sometidas a fotoperíodo decreciente a partir de marzo comparada con aquellas que entre marzo y junio continuaban en fotoperíodo natural (creciente). Contrariamente, la última ovulación ocurrió más rápido en los animales que percibieron antes el alargamiento del fotoperíodo por encontrarse en fotoperíodo inverso. Anteriormente, ya se había demostrado que las ovejas Pelibuey que paren durante la primavera en fotoperíodo natural, tienden a presentar períodos de anestro más prolongados que aquellas que paren más cerca de lo que se considera la estación reproductiva para la especie ovina, lo cual coincide con el acortamiento del fotoperíodo [28,29]. Durante el segundo año del experimento las diferencias en el inicio de la actividad ovulatoria entre los subgrupos tratados y los testigos fueron mucho más acentuadas, esto probablemente porque los animales tratados habían adquirido un mayor grado de sincronización, por lo que existió un desfase de casi seis

meses entre los subgrupos, de tal manera que en ambos la actividad ovárica comenzó poco después de que el fotoperíodo llegara al máximo y comenzara a reducirse. Las ovejas del grupo III se comportaron de manera muy similar a las del grupo I expuestas al fotoperíodo correspondiente, con la excepción de un mes de retraso en el inicio de la actividad ovárica en las ovejas expuestas a fotoperíodo inverso. Esto probablemente se debió a que tenían poco tiempo de haber parido.

En el grupo II conformado por animales con historia previa de fotoperíodo artificial (fotoperíodo largo: 16L:8D por 3 meses), la rápida reducción en la duración del fotoperíodo a que fueron sometidos entre diciembre y marzo provocó el inicio de la actividad ovárica en ambos grupos poco después del equinoccio de primavera, a pesar de la diferencia en el tipo de fotoperíodo al que fueron expuestos a partir del 21 de marzo. Este fenómeno puede entenderse bien, ya que hoy se sabe que la información fotoperiódica que ocurre en el pasado de los animales es crucial para sincronizar la estación reproductiva [43]. En trabajos realizados en el ovino se ha demostrado que es la dirección del cambio en la longitud del fotoperíodo (historia fotoperiódica) y no la longitud total del día, la que determina la respuesta a una señal fotoperiódica dada [43,44]. Por lo tanto, es lógico suponer que el inicio de la actividad ovulatoria en ambos subgrupos ya había sido sincronizado previamente por el tipo de fotoperíodo que habían recibido (fotoperíodo largo seguido por un brusco acortamiento). Posteriormente, la actividad ovulatoria se fue sincronizando en armonía con el fotoperíodo que siguió cada subgrupo. Las ovejas mantenidas en fotoperíodo natural solamente estuvieron expuestas a fotoperíodo creciente durante tres meses, del 21 de marzo al 21 de junio, y no habían dejado de ciclar cuando el fotoperíodo comenzó a reducirse nuevamente, por lo que continuaron ciclando ininterrumpidamente hasta que el fotoperíodo volvió a incrementarse en febrero del año siguiente.

Las ovejas mantenidas en fotoperíodo inverso a partir del 21 de marzo no dejaron de ciclar cuando el fotoperíodo comenzó a aumentar en junio probablemente porque llevaban muy poco tiempo ciclando. El final de la actividad ovárica en este subgrupo se produjo cuando las ovejas estaban llegando al día más largo. A partir del segundo año comenzaron a ciclar poco después de que el fotoperíodo comenzó a reducirse, como ocurre normalmente en la oveja Pelibuey.

El momento y la duración del período de actividad reproductiva y del anestro estacional son peculiares a cada raza de ovinos, pero de manera general, la actividad reproductiva en la oveja se inicia al final del verano o principios del otoño y termina en invierno o al

inicio de la primavera [45,46]. En el presente experimento se ha demostrado que la oveja Pelibuey en fotoperíodo natural cesa su actividad ovulatoria a finales de febrero o a principios de marzo, y se mantiene en esa condición hasta finales de junio o principios de julio; lo cual coincide con trabajos anteriores, en los cuales se ha reportado que la época de menor actividad reproductiva en la oveja Pelibuey se extiende de marzo a junio [24,25,26,41,42,47,48].

Un análisis general de los animales testigo reveló que la estación reproductiva en la oveja Pelibuey comienza muy temprano (aproximadamente el 15 de julio), es decir, cuando apenas ha comenzado a reducirse la longitud del fotoperíodo. Por otro lado, en el grupo II se observó que los animales tardaron un largo tiempo para responder al acortamiento del fotoperíodo al que fueron sometidos a partir del 21 de diciembre, y sólo respondieron a finales de marzo. Estas dos observaciones sugieren que el inicio natural de la estación reproductiva en la oveja Pelibuey en el mes de julio, no resulta de un acortamiento del fotoperíodo, sino más probablemente es la expresión de refractariedad a días largos (ritmo endógeno), tal y como se ha establecido para la oveja de climas templados [43].

Por el contrario, en las ovejas mantenidas en fotoperíodo inverso el período de inactividad ovárica se extendió desde noviembre o diciembre hasta febrero o marzo, es decir un desfase de aproximadamente 3 meses con respecto al grupo testigo. Es importante recalcar que pueden haber otros factores que modulen la estacionalidad reproductiva, ya que el fotoperíodo inverso tenía un desfase de seis meses con respecto al fotoperíodo natural y sin embargo, el desfase del inicio de la segunda estación reproductiva solamente fue de 4 ó 5 meses. Estas observaciones sugieren que el fotoperíodo es el factor más importante para sincronizar la actividad reproductiva en la oveja Pelibuey, pero otros factores ambientales podrían modular el efecto del fotoperíodo.

Es importante mencionar que en fotoperíodo inverso algunas de las ovejas presentaron períodos de inactividad ovárica de corta duración, y algunas pocas reiniciaron su actividad ovárica antes de que la actividad reproductiva del grupo cesara por completo. Además, como ya se ha mencionado, en algunas ovejas (N° 6, 20 y 29) la actividad ovárica no se interrumpió durante todo el experimento. Estos hallazgos han sido también reportados por Martínez [42] en algunas ovejas Pelibuey mantenidas en fotoperíodo natural y en condiciones de pastoreo, y puede haber sido la razón por la cual algunos autores han considerado que la oveja Pelibuey no presenta estacionalidad reproductiva [19,20]; pero

el hecho de que un porcentaje reducido de ovejas no interrumpen su actividad ovárica, no puede enmascarar el verdadero anestro que presentan la mayoría de las ovejas.

### **Ritmo de secreción de melatonina**

Los resultados del presente experimento muestran por primera vez el ritmo de secreción de melatonina en la oveja Pelibuey expuesta a fotoperíodo natural y también a fotoperíodo artificial inverso. En ambos tipos de fotoperíodo puede notarse un ritmo día-noche bien definido, con niveles nocturnos elevados y niveles diurnos indetectables, lo cual es comparable a lo que sucede en ovinos productores de lana [9,35,49,50].

La elevación de los niveles de melatonina dentro de la primera hora después de apagarse la luz o de la puesta del sol y su caída a niveles indetectables poco antes de prenderse la luz o de la salida del sol, es coincidente con lo reportado para ovinos de climas templados [51].

Similarmente, en este estudio se demostró que el patrón de secreción de melatonina en la oveja Pelibuey no varió significativamente en el tiempo, es decir no hubo un efecto significativo de la época del año sobre los niveles nocturnos medios de melatonina. Estos resultados son coincidentes con aquellos reportados para ovinos de climas templados [35,52].

Por otra parte, el análisis de varianza reveló que existe un efecto significativo del momento de la toma de la muestra sobre los niveles plasmáticos de melatonina, es decir, existen diferencias significativas en la concentración de melatonina en el transcurso de la noche. Este fenómeno fue observado tanto en fotoperíodo natural como en fotoperíodo inverso, y ya había sido reportado por Malpoux y col. en ovejas de lana [35,51], quienes sugirieron que esta hormona se secreta de manera pulsátil.

Varios autores han demostrado que la duración de la elevación nocturna de melatonina es el parámetro crítico que transmite la información fotoperiódica al eje reproductivo en la oveja [6,50]. Durante el presente experimento se analizaron dos aspectos de la elevación nocturna de melatonina en la oveja Pelibuey: la duración y la amplitud. Se observó un cambio estacional significativo en la duración de la elevación nocturna de melatonina, el cual estuvo inversamente correlacionado con el cambio en la longitud del fotoperíodo. La duración del fotoperíodo tuvo un desplazamiento de seis meses en el grupo de fotoperíodo inverso, lo que provocó que la duración de la elevación de melatonina en este grupo también se desfasara seis meses con respecto al grupo testigo. Este fenómeno guarda relación con el desfase en la actividad ovárica que se observó en los subgrupos

de fotoperíodo inverso en la primera etapa de este experimento (actividad ovárica cíclica). La relación entre el desfase en la duración de la secreción de melatonina y el desfase en la actividad ovárica que se observó al invertir el fotoperíodo es apoyado por los hallazgos de Woodfill y col. [53]. Estos autores lograron desfasar el ciclo reproductivo de la oveja Suffolk por medio de una infusión de melatonina inversa a la información fotoperiódica, lo cual les permitió concluir que la sincronización del ritmo reproductivo anual en la oveja es impuesta por el fotoperíodo vía la secreción de melatonina.

En el presente experimento, los niveles de melatonina permanecieron elevados por mayor tiempo cuando la duración de la noche era más larga, lo cual sugiere que la oveja Pelibuey es capaz de distinguir la diferencia en la variación anual que existe en el ciclo fotoperiódico para esta latitud (2 horas y 12 minutos de diferencia entre el día más largo y el día más corto del año) [31]. Por lo tanto, se puede sugerir que la duración de la secreción de melatonina en la oveja Pelibuey es el parámetro crítico que codifica la longitud del día para la organización del ritmo reproductivo estacional, tal y como se ha reportado para la oveja productora de lana [54].

Adicionalmente, no se observó un efecto significativo del tipo de fotoperíodo (natural o inverso) sobre la duración de la elevación de melatonina, cuando se encontraban en días de duración equivalente, lo cual indica que la duración de la elevación de melatonina no estaba relacionada al tipo de luz utilizada.

En cuanto a la amplitud de la elevación de melatonina, no se observó un efecto significativo de la estación sobre la amplitud, es decir, que los niveles medios nocturnos de melatonina no variaron significativamente entre días largos y días cortos. Malpaux y col. [35] han sugerido que la amplitud de la elevación de melatonina no puede ser considerada de importancia para la respuesta fotoperiódica, ya que la elevación nocturna de melatonina es siempre obvia y bien definida, y además, es altamente variable entre animales y, de este modo, no puede constituir una señal confiable. Se sugiere que la misma hipótesis podría aplicarse a la oveja Pelibuey.

### **Perfil de secreción de prolactina**

Los resultados del presente experimento indican que existe un claro ritmo anual en las concentraciones circulantes de prolactina en la oveja Pelibuey, tanto en fotoperíodo natural como en fotoperíodo inverso. Los niveles plasmáticos de prolactina siguieron una variación estacional paralela a la longitud del fotoperíodo en ambos casos. Sin embargo, las variaciones estacionales fueron más definidas en fotoperíodo natural que en

fotoperíodo inverso. En fotoperíodo natural, las concentraciones más altas se observaron en primavera, es decir durante días largos, mientras que las más bajas se presentaron en otoño, es decir, en días cortos. Estos resultados son coincidentes con lo reportado para ovejas Pelibuey ovariectomizadas y tratadas con un implante de estradiol [55], y guardan estrecha relación con aquellos reportados para ovinos de climas templados, tanto en la hembra [15,16,56], como en el macho [14,57]. Todos estos autores han reportado que las concentraciones de prolactina alcanzan su valor más alto alrededor del solsticio de verano, y su valor más bajo, alrededor del solsticio de invierno.

Similarmente, en este trabajo se ha podido observar variaciones mensuales significativas en las concentraciones medias de prolactina. Los valores más altos se produjeron en los meses con los días más largos del año y los más bajos, en los meses con los días más cortos del año. Estos resultados son coincidentes con lo reportado en la oveja Ile de France [16].

En el grupo de fotoperíodo inverso igualmente se detectaron variaciones significativas en las concentraciones de prolactina, tanto estacionales como mensuales, sólo que en este caso la inversión del fotoperíodo produjo una inversión de los valores de prolactina, lo cual confirma que las variaciones estacionales o mensuales que se observan en la secreción de prolactina en la oveja Pelibuey son producidas por cambios en el ciclo fotoperiódico anual.

El presente experimento reveló además, que el patrón de secreción de prolactina no parece estar relacionado con la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey, lo cual es congruente con lo reportado para otras razas de ovinos de climas templados [5,15,17]. Así, en este experimento se observó que la oveja Pelibuey en fotoperíodo natural inicia su actividad ovárica poco después del solsticio de verano, cuando las concentraciones de prolactina aún son significativamente altas, lo cual también ocurre en fotoperíodo inverso. Además, en este experimento se observó que algunas ovejas Pelibuey (N° 6, 20 y 29) no interrumpieron su actividad ovárica durante toda la duración del experimento, a pesar de que mostraron variaciones anuales en la secreción de prolactina. Jackson y Jansen [15] han reportado que existen ovejas Suffolk que presentan aparentes ritmos circanuales de prolactina, pero que no exhiben los correspondientes ritmos de actividad reproductiva, y otras que presentan ritmos estrales continuos con niveles altos de prolactina, lo cual apoya los hallazgos del presente experimento.

El incremento en las concentraciones de prolactina del primero al segundo año que se observó en el grupo de fotoperíodo natural en el presente experimento, ha sido también

reportado para ovejas de climas templados [16,57]. Estos autores han manifestado que esta diferencia puede deberse a un efecto de la edad, lo cual no podría aplicarse para el caso del presente experimento, ya que de ser así, el incremento se debería haber apreciado en ambos grupos. Otra posibilidad es una diferencia en otros factores ambientales entre los dos años.

### **Conclusiones**

1. El presente trabajo demuestra categóricamente que la oveja *Pelibuey* presenta estacionalidad reproductiva y que es capaz de responder a cambios graduales en el fotoperíodo, independientemente de condiciones nutricionales, ya que su exposición a fotoperíodo inverso en esta latitud (19° Norte) desfasa el inicio y término de su actividad reproductiva.
2. La oveja *Pelibuey* exhibe un ritmo día-noche bien definido en la secreción de melatonina, y variaciones estacionales significativas en la duración de la elevación nocturna de melatonina, tanto en fotoperíodo natural como en fotoperíodo artificial inverso, lo cual sugiere que esta hormona podría ser la encargada de mediar la respuesta reproductiva al fotoperíodo en esta raza de ovinos, tal y como sucede en ovinos de climas templados.
3. La oveja *Pelibuey* exhibe variaciones estacionales significativas en la secreción de prolactina, con niveles altos en primavera y bajos en otoño, tanto en fotoperíodo natural como en fotoperíodo artificial inverso, lo cual sugiere la participación del fotoperíodo en la regulación del ritmo de secreción de esta hormona. Además, estos cambios en la secreción de prolactina no parecen estar relacionados con la actividad reproductiva de esta raza de ovinos.

## Literatura citada

1. Yeates NTM. The breeding season of the sheep with particular reference to its modification by artificial light. *J. Agric. Sci. Cambridge* 1949; 39:1-43.
2. Hafez ESE. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. *J. Agric. Sci. Cambridge* 1952; 42:189-265.
3. Thwaites CJ. Photoperiod control of breeding activity in the Southdown ewe with particular reference to the effects of an equatorial light regime. *J. Agric. Sci. Cambridge* 1965; 65:57-64.
4. Ortavant R, Pelletier J, Ravault JP, Thimonier J, Volland – Nail P. Photoperiod: main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm animals. *Oxford Rev. Reprod. Biol.* 1985; 7:305-345.
5. Worthy K, Haresign W, Dodson S, MCLeod BJ, Foxcroft GR, and Haynes NB. Evidence that the onset of the breeding season in the ewe may be independent of decreasing plasma prolactin concentrations. *J. Reprod. Fertil.* 1985; 75:237-246.
6. Karsch FJ, Bittman EL, Foster DL, Goodman RL, Legan SJ, Robinson JE. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Progress in Horm. Research* 1984; 40:185-232.
7. Bittman EL, Dempsey RJ, Karsch FJ. Pineal melatonin secretion drives the reproductive response to daylength in the ewe. *Endocr.* 1983; 113:2276-2283.
8. Bittman EL, Karsch FJ. Nightly duration of pineal melatonin secretion determines the reproductive response to inhibitory day lengths in the ewe. *Biol. Reprod.* 1984; 30:585-593.
9. Arendt J. Role of the pineal gland and melatonin in seasonal reproductive function in mammals. *Oxford Reviews of Reproductive Physiology* 1986; 8:266-320.
10. Karsch FJ, Malpoux B, Wayne NL, Robinson JE. Characteristics of the melatonin signal that provide the photoperiodic code for timing seasonal reproduction in the ewe. *Reprod. Nutr. Dev.* 1988; 28:459-472.
11. Vigié C, Caraty A, Locatelli A, Malpoux B. Regulation of LHRH secretion by melatonin in the ewe. I. Simultaneous delay increase in LHRH and luteinizing hormone pulsatile secretion. *Biol. Reprod.* 1995; 52:1114-1120.
12. Bittman EL, Kaynard AH, Olster DH, Robinson JE, Yellon SM, Karsch FJ. Pineal melatonin mediates photoperiodic control of pulsatile luteinizing hormone secretion in the ewe. *Neuroendocrinology* 1985; 40: 409-418.
13. Malpoux B, Chemineau P, Pelletier J. Melatonin and reproduction in sheep and goats. In: Yu HS, Reiter RJ (eds), *Melatonin: Biosynthesis, Physiological Effects and Clinical Applications*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1993 : 253-287.

14. Pelletier J. Evidence for photoperiodic control of prolactin release in rams. *J. Reprod. Fertil.* 1973; 35:143-147.
15. Jackson GL, Jansen HT. Persistence of a circannual rhythm of plasma prolactin concentration in ewes exposed to a constant equatorial photoperiod. *Biol. Reprod.* 1991; 44:469-475.
16. Thimonier J, Ravault JP, Ortavant R. Plasma prolactin variations and cyclic ovarian activity in ewes submitted to different light regimes. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 1978; 18:1229-1235.
17. Curlewis JD. Seasonal prolactin secretion and its role in seasonal reproduction: a Review. *Reprod. Fertil. Dev.* 1992; 4:1-23.
18. Chemineau P, Malpoux B, Thiéry JC, Viguié C, Morello H, Zarazaga L, Pelletier J. The control of seasonality: A challenge to small ruminant breeding. *Reproduction and Animal Breeding. Advances and Strategy. Proceedings of the XXX International Symposium of Societa' Italiana per il Progresso della Zootecnica held in Milan, September 11-13, 1995.*
19. Castillo RH, Valencia ZM, Berruecos JM. Comportamiento reproductivo del borrego Tabasco mantenido en clima tropical y subtropical. I. Índices de fertilidad. *Tec. Pec. Méx.* 1972; 20:52-56.
20. Berruecos VJM, Valencia ZM, Castillo H. Genética del borrego Tabasco o Pelibuey. *Tec. Pec. Méx.* 1975; 29:59-68.
21. González-Reyna A. Reproduction in Pelibuey sheep in the Mexican tropic. M Sc. Thesis. Utah State University. Logan. USA. 1977.
22. Álvarez RA, Valencia ZM, Rodríguez RO. Efecto del destete precoz en el comportamiento reproductivo de la oveja Pelibuey. *Memorias del X Congreso Nacional de Buiatría; 1984. Acapulco, Guerrero, México 1984:178-181.*
23. Castillo RH, Román PH, Berruecos JM. Características del crecimiento del borrego Tabasco. I. Efecto de la edad y peso al destete y su influencia sobre la fertilidad de la madre. *Tec. Pec. Mex.* 1974; 27:28-32.
24. González A, Murphy BD, Foote WC, Ortega E. Circannual oestrus variations and ovulation rate in Pelibuey ewes. *Small Ruminant Research* 1992; 8:225-232.
25. Heredia A, Velázquez MA, Quintal FJ, Mex RJ, Aragón GA. Efecto de dos fuentes de alimentación sobre la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria Tamaulipas 1991. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. 1991. Pp 96. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. 1991 a.*
26. Heredia AM, Menéndez TM, Velázquez MPA. Factores que influyen en la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria Tamaulipas 1991. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. 1991. Pp 115. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Cd. Victoria, Tamaulipas, México 1991 b.*

27. Rodríguez MR. Efecto de la suplementación sobre el inicio de la pubertad en la borrega Tabasco o Pelibuey (tesis de doctorado) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 1991.
28. Cortés ZJ. Reinicio de la actividad ovárica posparto en ovejas Pelibuey paridas en diferentes épocas del año. Tesis de Doctorado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1993.
29. Cortés ZJ, Zarco L. Reinicio de la actividad ovárica posparto en ovejas pelibuey paridas en diferentes épocas del año. Memorias del XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias; 1994. Acapulco-Guerrero, México 1994:280.
30. Porras AA, Valencia MJ, Zarco QL. Efecto del fotoperíodo artificial sobre la actividad ovárica de la oveja Pelibuey. Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Morelos, México 1996:315.
31. Muhlia A, Chávez A. Insolación y radiación solar en el tope de la atmósfera para las latitudes que cubren la república mexicana. Ann. Ins. Geof. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 1980; 26:127-129.
32. Legan SJ, Karsch FJ. Photoperiodic control of seasonal breeding in ewes: modulation of the negative feedback action of estradiol. Biol. Reprod. 1980; 23:1061-1068.
33. Pulido A, Zarco L, Galina CS, Murcia C, Flores G, Posadas E. Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle: Effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. Theriogenology 1991; 35:965-975.
34. Steel RG, Torrie JH. Principles and Procedures of Statistics. A Biomedical Approach. 2<sup>nd</sup> De. Singapore: McGraw-Hill, 1981.
35. Malpoux B, Robinson JE, Brown MB, Karsch FJ. Reproductive refractoriness of the ewe to inductive photoperiod is not caused by inappropriate secretion of melatonin. Biol. Reprod. 1987; 36:1333-1341.
36. Fraser S, Cowen P, Franklin M, Franey C, Arendt J. Direct radioimmunoassay for melatonin in plasma. Clin. Chem. 1983; 20:396-397.
37. Tillet Y, Ravault JP, Selve C, Evin G, Castro B, Dubois MP. Conditions d'utilisation d'anticorps spécifiques pour la visualisation immunohistochimique de la sérotonine et de la mélatonine dans la glande pinéale du mouton. CR Acad Sci (paris) 1986; 303:77-82.
38. Gill JL. Design and Analysis of Experiments in the Animal and Medical Sciences, First Edition. The Iowa State University Press/Ames, Iowa, USA. 1978.
39. Kann G. Dosage radioimmunologique de la prolactine plasmatique chez les ovins. CR Acad Sci [D] (paris) 1971; 272:2808-2811.
40. Perera MG, Falcon AA, Salas VA. Estandarización de la técnica de radiomarcaje con yodo-gen. Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Puebla, Pue. 1986.

41. Valencia M, Heredia M, González E. Estacionalidad reproductiva en la oveja Pelibuey. Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Santo Domingo, República Dominicana, 1981; 16:137.
42. Martínez RR. Estudios sobre la estacionalidad reproductiva de la oveja pelibuey del trópico húmedo mexicano (tesis de doctorado) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 1998.
43. Malpoux B, Robinson JE, Wayne NL, Karsch FJ. Regulation of the onset of the breeding season of the ewe: importance of long days and of an endogenous reproductive rhythm. *J. Endocr.* 1989; 122:269-278.
44. Robinson JE, Karsch FJ. Photoperiodic history and changing melatonin pattern determine the neuroendocrine response of the ewe to the daylength. *J. Reprod. Fertil.* 1987; 80:159-165.
45. Thimonier J, Mauléon P. Variations saisonnières du comportement d'oestrus et des activités ovarienne et hypophysaire chez les ovins. *Ann. Biol. Anim., Biochim., Biophys.* 1969; 9:223-250.
46. Robinson JE, Karsch FJ. Refractoriness to inductive day lengths terminates the breeding season of the the Suffolk ewe. *Biol. Reprod.* 1984; 31:656-663.
47. González-Reyna A, Murphy BD, De Alba J, Ortega-Rivas E. Factors determining the reproductive potential of Pelibuey sheep: Effects of season and parturition on reproductive performance. *Livestock Reproduction in Latin America. International Atomic Energy Agency. Viena, Austria* 1990; 335-350.
48. Cruz LC, Fernández-Baca S, Álvarez LJA, Pérez RH. Variaciones estacionales en la presentación de ovulación, fertilización y sobrevivencia embrionaria de ovejas Tabasco en el trópico húmedo. *Vet. Méx.* 1994; 25:23-27.
49. Rollag MD, Niswender GD. Radioimmunoassay of serum concentrations of melatonin in sheep exposed to different lighting regimens. *Endocr.* 1976; 98:482-489.
50. Lincoln GA, Photoperiod – pineal – hypothalamic relay in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 1992; 28:203-217.
51. Malpoux B, Moenter SM, Wayne NL, Woodfill CJI, Karsch FJ. Reproductive refractoriness of the ewe to inhibitory photoperiod is not caused by alteration of the circadian secretion of melatonin. *Neuroendocrinology* 1988; 48:264-270.
52. Karsch FJ, Bittman EL, Robinson JE, Yellon SM, Wayne NL, Olster DH, Kaynard AH. Melatonin and photorefractoriness: loss of response to the melatonin signal leads to seasonal reproductive transitions in the ewe. *Biol. Reprod.* 1986; 34:265-274.
53. Woodfill CJI, Robinson JE, Malpoux B, Karsch FJ. Synchronization of the circannual reproductive Rhythm of the ewe by discrete photoperiodic signals. *Biol. Reprod.* 1991; 45:110-121.

54. Arendt J. *Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology*. *Reviews of reproduction* 1998; 3:13-22.
55. Hernández MX. *Perfil anual de prolactina plasmática en la oveja pelibuey (tesis de licenciatura)* México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 1997.
56. Munro CJ, McNatty KP, Renshaw L. *Circaannual rhythms of prolactin secretion in ewes and the effect of pinealectomy*. *J. Endocr.* 1980; 84:83-89.
57. Ravault JP. *Prolactin in the ram: seasonal variations in the concentration of blood plasma from birth until three years old*. *Acta Endocr.* 1976; 83:720-725.

## V. DISCUSIÓN GENERAL

La estacionalidad reproductiva es un fenómeno que ha sido estudiado ampliamente en los ovinos de climas templados. Actualmente no se tiene ninguna duda de que el fotoperíodo es el principal factor ambiental que regula la estacionalidad reproductiva, al menos, en ovinos de latitudes altas o medias (Yeates, 1949; Hafez, 1952; Thwaites, 1965; Karsch et al., 1984; Ortavant et al., 1985). Sin embargo, en la oveja Pelibuey no se habían realizado estudios concluyentes relacionados con el efecto del fotoperíodo artificial sobre la actividad reproductiva. Los resultados del presente trabajo demuestran por primera vez que la oveja Pelibuey es capaz de responder a los cambios graduales en el fotoperíodo artificial, que simulen los que naturalmente ocurren en esta latitud (19° N), donde la diferencia máxima entre el día más largo y el día más corto del año es de 2 horas y 12 minutos (Muhlia y Chávez, 1980).

El primer experimento demostró claramente que existe un efecto directo del fotoperíodo artificial sobre el reinicio de la actividad ovárica posparto en la oveja Pelibuey. Así, la primera ovulación posparto ocurrió significativamente más temprano cuando las ovejas se encontraban en fotoperíodo decreciente que cuando estaban en fotoperíodo creciente. Estos hallazgos ratifican los resultados encontrados por Cortés y Zarco (1994), quienes reportaron que la época de parto en la oveja Pelibuey influye sobre el reinicio de la actividad ovárica posparto, ya que en ovejas Pelibuey alimentadas uniformemente a través de todo el año, el intervalo entre el parto y el reinicio de la actividad ovárica fue reduciéndose en la medida en que el parto ocurrió más cerca de lo que se considera la estación reproductiva normal para la especie ovina. Contrariamente, las ovejas que parieron al final de la época reproductiva o en la época de anestro tuvieron que esperar varios meses hasta la llegada de la siguiente estación reproductiva para comenzar a ciclar. En el presente trabajo, todas las ovejas parieron en abril, es decir durante la época de anestro, por lo que las ovejas del grupo testigo del CEPIPSA y del grupo referencial del CEIEGT tuvieron que esperar hasta el inicio de la época reproductiva para comenzar a ciclar, mientras que las del grupo tratado con fotoperíodo inverso percibieron anticipadamente un fotoperíodo característico del otoño, lo que aceleró el reinicio de la actividad ovárica.

En otro trabajo, Álvarez (1996) ha reportado que la suplementación alimenticia antes y después del parto no tuvo ningún efecto sobre el reinicio de la actividad ovárica en la oveja Pelibuey. Estos hallazgos vistos conjuntamente con los encontrados en el presente

trabajo, demuestran que el fotoperíodo tiene un efecto directo sobre el reinicio de la actividad ovárica posparto en la oveja Pelibuey, y que este efecto es independiente de condiciones nutricionales. Un hallazgo importante de este primer experimento fue que tanto las ovejas del grupo testigo del CEIPSA, bajo condiciones de altiplano, como las que permanecieron en el CEIEGT, bajo condiciones tropicales, tuvieron un comportamiento posparto similar, lo que sugiere una rápida adaptación de la oveja Pelibuey a condiciones climáticas templadas, y abre la posibilidad de ampliar la distribución de este recurso animal fuera del trópico.

El desplazamiento de la actividad reproductiva como consecuencia de la inversión del fotoperíodo observada en el segundo experimento de este trabajo, demuestra que la oveja Pelibuey es capaz de responder a los cambios graduales en el fotoperíodo artificial, tal y como ocurre en los ovinos de climas templados (Yeates, 1949; Hafez, 1952; Thwaites, 1965). Porras y col. (1996) ya habían demostrado el efecto del fotoperíodo artificial sobre la actividad ovárica de la oveja Pelibuey, pero su trabajo fue realizado con cambios abruptos en la longitud del fotoperíodo y con 8 horas de diferencia entre días largos y días cortos, por lo que no se podía afirmar que esta respuesta fuera obtenida con cambios graduales en el fotoperíodo, como los que ocurren en forma natural en las latitudes en las que se explota este tipo de ganado.

El presente trabajo demostró que tanto el inicio como el final de la actividad ovárica el primer año, ocurrieron más temprano en los animales tratados con fotoperíodo inverso que en los testigos con fotoperíodo natural. El segundo año estas diferencias fueron mucho más acentuadas, lo que implica un mayor grado de sincronización de los animales con el fotoperíodo prevalente.

En los animales que traían historia de fotoperíodo artificial previa a este experimento, la fecha de inicio de la actividad ovárica el primer año no mostró diferencia significativa entre el subgrupo tratado y el testigo, esto debido probablemente al efecto de la misma historia fotoperiódica artificial que traían ambos subgrupos. Experimentos realizados en ovinos de climas templados han demostrado que la historia fotoperiódica que traen los animales, es determinante para la manifestación de la respuesta a un fotoperíodo dado (Robinson y Karsch, 1987; Malpoux, 1989).

El análisis general de los grupos principales reveló que en el segundo año el inicio de la actividad ovárica en las ovejas bajo fotoperíodo natural ocurrió aproximadamente el 15 de julio, cuando el acortamiento del fotoperíodo natural no era aún significativo. Este hecho, visto conjuntamente con el largo tiempo que tardaron las ovejas del grupo II para

responder al acortamiento del fotoperíodo al que fueron sometidas a partir del 21 de diciembre, sugieren que el inicio natural de la estación reproductiva en la oveja Pelibuey en el mes de julio no resulta de un acortamiento del fotoperíodo, sino que probablemente es la expresión de un estado de refractariedad a días largos (ritmo endógeno), tal y como se ha postulado para las ovejas de climas templados (Robinson et al., 1985; Malpaux et al., 1989).

La etapa de inactividad ovárica en las ovejas Pelibuey en fotoperíodo natural en este experimento se presentó entre finales de febrero y principios de julio, lo cual coincide con otros autores que han reportado que la oveja Pelibuey, bajo condiciones naturales, disminuye su actividad reproductiva de marzo a junio, aun bajo condiciones de buena alimentación (Valencia et al., 1981; Heredia et al., 1991 a; 1991 b; Rojas et al., 1991; Martínez et al., 1998).

Es importante mencionar que 3 ovejas en fotoperíodo inverso no interrumpieron su actividad ovárica durante todo el experimento, mientras que otras tuvieron períodos de anestro muy cortos y algunas reiniciaron su actividad ovárica antes de que la actividad reproductiva del grupo cesara por completo. Estos hallazgos también han sido reportados para ovejas Pelibuey en condiciones de pastoreo (Martínez, 1998).

En el segundo experimento también se estudió por primera vez el ritmo de secreción de melatonina en la oveja Pelibuey en fotoperíodo natural y en fotoperíodo inverso. En ambas condiciones se pudo notar un ritmo día-noche bien definido en la secreción de melatonina, con valores elevados en la noche e indetectables en el día, lo cual es comparable a lo que sucede en las ovejas de climas templados (Rollag y Niswender, 1976; Arendt, 1986; Malpaux et al., 1987; Lincoln, 1992).

De las hipótesis que se han postulado sobre la característica del ritmo de secreción de melatonina que transmite la información fotoperiódica al eje reproductivo en ovinos de climas templados, en el presente experimento se estudiaron dos: La duración y la amplitud de la elevación nocturna de melatonina. La amplitud no mostró variación significativa entre estaciones, es decir los niveles nocturnos medios de melatonina no variaron significativamente entre días largos y días cortos, por lo cual este parámetro no podría ser considerado como la característica del ritmo de secreción de melatonina que codifica la longitud del día para la respuesta fotoperiódica en la oveja Pelibuey. Además, Malpaux et al. (1987) han manifestado que la amplitud es altamente variable entre animales, y por lo tanto no puede constituir una señal confiable para la respuesta fotoperiódica en ovinos de climas templados.

La duración de la elevación nocturna de melatonina en el presente trabajo varió significativamente con la época. La duración de la secreción elevada de melatonina fue mayor en días cortos que en días largos. En los ovinos de climas templados se ha postulado que la duración de la secreción de melatonina es el parámetro crítico que codifica la longitud del día para la respuesta fotoperiódica (Arendt, 1998). En este trabajo, la oveja Pelibuey fue capaz de distinguir la diferencia en la variación anual que existe en el ciclo fotoperiódico para esta latitud, por lo que se puede sugerir que en esta raza de ovinos, la duración de la elevación nocturna de melatonina es el parámetro crítico que codifica la longitud del día para la respuesta reproductiva al fotoperíodo.

Es importante mencionar que la variación en la duración de la secreción elevada de melatonina entre días cortos y días largos estuvo apareada a la presencia o ausencia de *actividad ovulatoria en la oveja Pelibuey en fotoperíodo natural y también en fotoperíodo inverso.*

La falta de diferencias estacionales en el patrón de secreción de melatonina es congruente con lo reportado para ovinos de climas templados (Karsch et al., 1986; Malpoux et al., 1987).

El fotoperíodo también ejerció influencia sobre la secreción de prolactina en la oveja Pelibuey. En fotoperíodo natural, se observó una variación estacional y también mensual en las concentraciones de prolactina. Los valores más altos se observaron en primavera y los más bajos en otoño. Estos resultados son congruentes con lo reportado para ovejas Pelibuey ovariectomizadas y tratadas con un implante de estradiol (Hernández, 1998), y son similares a lo reportado para ovinos de climas templados (Thimonier et al., 1978; Jackson y Jansen, 1991; Curlewis, 1992).

La inversión del fotoperíodo en el grupo tratado invirtió los valores de prolactina, pero siguiendo igualmente una dirección paralela a la del fotoperíodo, lo cual sugiere la participación del fotoperíodo en la regulación de la secreción de esta hormona.

El inicio de la actividad ovárica en la oveja Pelibuey en fotoperíodo natural en el mes de julio, cuando los niveles de prolactina son aún altos, sugiere que la secreción de prolactina no inhibe la actividad reproductiva en la oveja Pelibuey, lo cual también ha sido reportado para la oveja de lana (Worthy et al., 1985; Jackson y Jansen, 1991).

La identificación de algunas ovejas Pelibuey que no interrumpieron su actividad ovárica durante todo el experimento a pesar de mostrar variaciones anuales en la secreción de prolactina, apoya el concepto de que el inicio y el final de la actividad reproductiva en el

ovino puede ser independiente del patrón de secreción de prolactina (Worthy y Haresign, 1983; Worthy et al., 1985).

Los resultados del presente trabajo sugieren que el fotoperíodo afecta directamente la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey y que este efecto es mediado por la secreción nocturna de melatonina, tal como sucede en las ovejas de climas templados. Similarmente, el fotoperíodo también afecta la secreción de prolactina, pero este efecto no parece estar relacionado con la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey.

### **Literatura citada**

Álvarez JA. Efecto de la alimentación suplementaria antes y después del parto sobre la actividad ovárica, condición corporal y metabolitos sanguíneos de ovejas Tabasco y sobre el comportamiento productivo de sus crías en el trópico de México (tesis de maestría) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 1996.

Arendt J. Role of the pineal gland and melatonin in seasonal reproductive function in mammals. *Oxford Reviews of Reproductive Physiology* 1986; 8:266-320.

Arendt J. Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. *Reviews of reproduction* 1998; 3:13-22.

Cortés ZJ, Zarco L. Reinicio de la actividad ovárica posparto en ovejas pelibuey paridas en diferentes épocas del año. *Memorias del XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias*; 1994. Acapulco-Guerrero, México 1994:280.

Curlewis JD. Seasonal prolactin secretion and its role in seasonal reproduction: a Review. *Reprod. Fertil. Dev.* 1992; 4:1-23.

Hafez ESE. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. *J. Agric. Sci. Cambridge* 1952; 42:189-265.

Heredia A, Velázquez MA, Quintal FJ, Mex RJ, Aragón GA. Efecto de dos fuentes de alimentación sobre la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria Tamaulipas 1991*. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. 1991. Pp 96. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. 1991 a.

Heredia AM, Menéndez TM, Velázquez MPA. Factores que influyen en la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria Tamaulipas 1991*. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. 1991. Pp 115. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Cd. Victoria, Tamaulipas, México 1991 b.

Hernández MX. Perfil anual de prolactina plasmática en la oveja pelibuey (tesis de licenciatura) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 1997.

Jackson GL, Jansen HT. Persistence of a circannual rhythm of plasma prolactin concentration in ewes exposed to a constant equatorial photoperiod. *Biol. Reprod.* 1991; 44:469-475.

Karsch FJ, Bittman EL, Foster DL, Goodman RL, Legan SJ, Robinson JE. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Progress in Horm. Research* 1984; 40:185-232.

Karsch FJ, Bittman EL, Robinson JE, Yellon SM, Wayne NL, Olster DH, Kaynard AH. Melatonin and photorefractoriness: loss of response to the melatonin signal leads to seasonal reproductive transitions in the ewe. *Biol. Reprod.* 1986; 34:265-274.

Lincoln GA, Photoperiod – pineal – hypothalamic relay in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 1992; 28:203-217.

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

Martínez RR. Estudios sobre la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey del trópico húmedo mexicano (tesis de doctorado) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 1998.

Muhlía A, Chávez A. Insolación y radiación solar en el tope de la atmósfera para las latitudes que cubren la república mexicana. *Ann. Ins. Geof. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F.* 1980; 26:127-129.

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

Porras AA, Valencia MJ, Zarco QL. Efecto del fotoperíodo artificial sobre la actividad ovárica de la oveja Pelibuey. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Morelos, México* 1996:315.

Robinson JE, Karsch FJ. Photoperiodic history and changing melatonin pattern determine the neuroendocrine response of the ewe to the daylength. *J. Reprod. Fertil.* 1987; 80:159-165.

Robinson JE, Wayne NL, Karsch FJ. Refractoriness to inhibitory day lengths initiates the breeding season of the Suffolk ewe. *Biol. Reprod.* 1985; 32:1024-1030.

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

Rojas RO, Bares QR, Murgia OML. Efecto de la sobrealimentación sobre la tasa ovulatoria en borregas Pelibuey en condiciones tropicales. Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Tamaulipas 1991. Cd. Victoria, Tamaulipas, México 1991; 100.

Thimonier J, Ravault JP, Ortavant R. Plasma prolactin variations and cyclic ovarian activity in ewes submitted to different light regimes. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 1978; 18:1229-1235.

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

Valencia M, Heredia M, González E. Estacionalidad reproductiva en la oveja Pelibuey. Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Santo Domingo, República Dominicana, 1981; 16:137.

Worthy K, Haresign W. Evidence that the onset of seasonal anoestrus in the ewe may be independent of increasing prolactin concentrations and daylength. *J. Reprod. Fertil.* 1983; 69:41-48.

Worthy K, Haresign W, Dodson S, McLeod BJ, Foxcroft GR, and Haynes NB. Evidence that the onset of the breeding season in the ewe may be independent of decreasing plasma prolactin concentrations. *J. Reprod. Fertil.* 1985; 75:237-246.

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