

01684

4
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFFECTOS DEL FOTOPERIODO ARTIFICIAL SOBRE
LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA DE LA
OVEJA PELIBUEY

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS

(Reproduccion Animal)

P R E S E N T A:

ANTONIO ISMAEL PORRAS ALMERAYA

ASESORES:

M.V.Z., D.V.M. JAVIER VALENCIA MENDEZ
M.V.Z., Ph D. LUIS ALBERTO ZARCO QUINTERO



MEXICO, D. F.

1999

273582

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.

DEDICATORIAS

A mis padres Ismael y Carmen.

A mi esposa Aida.

A mis hijos Alberto, Hayali y Paulina.

A mi hermana Araceli y su familia Edgar, Karen, Neuss y Edgar Jr.

A mis otras hermanas María y Candita.

A todos mis maestros y compañeros del "Colegio México", del "Centro Universitario México" y de la "Universidad Nacional Autónoma de México".

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi gratitud a :

Los Dres. Javier Valencia Méndez y Luis Alberto Zarco Quintero asesores del presente trabajo, por su valioso apoyo para la realización del mismo.

A los Dres. José Manuel Berruecos V, Everardo González P, Leonel Martínez R, Rodolfo Rodríguez M, Ivette Rubio G, Javier Valencia M, Luis Zarco Q, miembros del Comité Tutorial, por su participación en los Seminarios de Evaluación y en la revisión final del presente trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la ayuda prestada a través de la beca otorgada (registro No. 34006).

A la Agencia Internacional de Energía Atómica por el apoyo recibido a través de los "Kits" de progesterona para llevar a cabo las determinaciones hormonales.

Al personal del Centro de Enseñanza Práctica, Investigación y Extensión en Rumiantes (CEPIER) de la FMVZ-UNAM por la ayuda prestada para el uso de sus instalaciones.

A la Dra. Angélica Salas del Laboratorio de Hormonas Proteicas del Centro de Neurobiología de la UNAM por la donación de las hormonas estándares.

Al MVZ MPA Jorge Armando Alvarez del Centro de Enseñanza Práctica, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical de la UNAM por la ayuda prestada para conseguir los animales que se emplearon en este trabajo.

Al PhD Douglas Foster, Profesor de la Universidad de Michigan por la donación de los implantes con 17β estradiol, así como la ayuda prestada para su posterior elaboración.

A MVZ Clara Murcia , MVZ Susana Rojas y MC Gerardo Perera por la ayuda prestada para llevar a cabo las determinaciones hormonales.

A la MVZ Xóchitl Hernández Martínez por su gran ayuda para la realización del presente estudio.

Al Dr. Pedro Ochoa Galván del Departamento de Genética y Estadística de la FMVZ-UNAM. Al Dr. Ignacio Méndez y Act. Alberto Molina Escobar del Instituto de Investigación en Matemáticas Aplicadas de la UNAM, por la ayuda prestada para la realización del análisis estadístico de la información.

A la Dra. María Luisa Fanjul Moles del Departamento de Cronobiología de la Facultad de Ciencias de la UNAM por su apoyo para la realización del presente estudio.

A mis compañeros del Departamento de Reproducción de la FMVZ-UNAM por el apoyo prestado durante la realización del presente estudio.

A Mónica, Jorge, Erika, Siddartha, Francisco, Elizabeth, Fernando, por el apoyo prestado en la realización del presente trabajo.

Y a todas aquellas personas que amablemente me brindaron su apoyo para alcanzar esta meta.

*Hay una estación para cada cosa
y un tiempo para cada propósito debajo del cielo.
Un tiempo para nacer, y un tiempo para morir
Un tiempo para plantar y otro tiempo para cosechar.*

Eclesiástes

LISTA DE CONTENIDO.

CAPÍTULO	PAGINA
I. Introducción	1
II. Revisión de literatura	5
III. Efectos del fotoperiodo artificial sobre la actividad ovárica de la oveja Pelibuey	
Pelibuey	41
3.1 Resumen	41
3.2 Introducción	42
3.3 Material y métodos	44
3.4 Resultados	48
3.5 Discusión	50
IV. Efectos del fotoperiodo artificial sobre la secreción de la hormona luteinizante en la oveja Pelibuey	69
4.1 Resumen	69
4.2 Introducción	70
4.3 Material y métodos	71
4.4 Resultados	76
4.5 Discusión	78
V. Efectos del fotoperiodo artificial sobre los niveles de prolactina plasmática de la oveja Pelibuey.	92
5.1 Resumen	92
5.2 Introducción	92
5.3 Material y métodos	94
5.4 Resultados	96
5.5 Discusión	96
VI. Discusión	100
VII. Literatura citada	106

RESUMEN

Porras Almeraya Antonio Ismael. Efectos del fotoperiodo artificial sobre la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey (asesores de tesis; MVZ, DVM. Javier Valencia Méndez y MVZ, PhD. Luis Zarco Quintero).

Se determinaron los efectos de la exposición a un fotoperiodo artificial alterno sobre la actividad ovulatoria y los patrones de secreción de hormona luteinizante (LH) y de prolactina (PRL) en ovejas Pelibuey. Se utilizaron 28 ovejas Pelibuey adultas, que se mantuvieron en un plano nutricional constante durante el estudio. Las ovejas del grupo testigo ($n=14$) permanecieron en condiciones de fotoperiodo natural ($19^{\circ} 13'$ latitud norte), y las del grupo tratado ($n=14$) fueron expuestas a un fotoperiodo artificial alterno, el cual consistió en aplicar durante dos años periodos de 90 días de exposición a fotoperiodos largos (16 h luz por 8 h oscuridad), seguidos por la exposición a fotoperiodos cortos (8 h luz por 16 oscuridad) durante el mismo tiempo. Los fotoperiodos largos se aplicaron durante el primero, tercero, sexto y octavo trimestres, mientras que los cortos se aplicaron en el segundo, cuarto, quinto y séptimo trimestres. Tres meses antes de iniciar el estudio la mitad de las ovejas de cada grupo fueron ovariectomizadas (ovx) y se les colocó un implante subcutáneo con 17β estradiol. En las ovejas intactas se determinó la actividad ovárica mediante la cuantificación de progesterona plasmática en muestras de sangre obtenidas cada cuarto día. En las ovejas ovariectomizadas se caracterizó la secreción de LH tomando muestras de sangre dos veces por semana durante el primer año. El patrón de secreción pulsátil de LH se determinó tomando muestras sanguíneas cada 15 minutos durante un periodo de 6 horas, procedimiento que se realizó entre 60 a 70 días después de iniciado un nuevo régimen de luz. En las ovejas ovx del grupo tratado se caracterizó el patrón de secreción de PRL mediante la toma de muestras dos veces a la semana durante el primer año de estudio. Las ovejas mantenidas en fotoperiodo natural presentaron un sólo periodo de anestro por año entre los meses de enero a julio. En contraste, las ovejas mantenidas en fotoperiodo artificial alterno manifestaron dos periodos de anestro por año. El promedio de días en anestro por año en el grupo testigo (86.3 ± 15.4 días; promedio \pm error estándar) fue menor al del grupo tratado (153.8 ± 12.4 días), ($P<0.05$). En general la aplicación de un fotoperiodo largo indujo el cese de la actividad ovárica a los 65.6 ± 7.2 días, mientras que el fotoperiodo corto estimuló el reinicio de la actividad ovárica a los 59.7 ± 3.3 días. Las ovejas en fotoperiodo natural presentaron los niveles más bajos de LH (≤ 8.0 ng/ml) durante los meses de diciembre a junio, y las concentraciones más altas (>8.0 ng/ml) de julio a noviembre. En contraste, en el grupo tratado las concentraciones más bajas de LH ocurrieron de enero a junio y un segundo periodo se presentó de septiembre a octubre, mientras que los niveles más altos de LH se detectaron en los meses de julio y agosto, y posteriormente de noviembre a diciembre. En este grupo se observó que las concentraciones de LH disminuían después de la aplicación de un calendario de días largos y se incrementaban con los de días cortos. El número de pulsos de LH solamente varió entre ventanas en las ovejas del grupo testigo, y entre grupos el número de pulsos de LH sólo varió en la octava "ventana de LH", ($P<0.05$). En tanto que la amplitud de los pulsos de LH varió significativamente entre "ventanas de LH" en ambos grupos, y entre grupos sólo en la "primera ventana de LH" se encontró una diferencia estadística ($P<0.05$). Los niveles plasmáticos de PRL variaron significativamente ($P<0.01$) por efecto del tipo de fotoperiodo aplicado,

registrándose las concentraciones más bajas durante los fotoperiodos cortos y las más altas durante la aplicación de los fotoperiodos largos. Los resultados del presente estudio demuestran que la oveja Pelibuey tiene estacionalidad reproductiva real influenciada por el fotoperiodo, que dicha estacionalidad se manifiesta independientemente de la disponibilidad de alimentos, y que en condiciones naturales el fotoperiodo provoca periodos relativamente cortos de inactividad ovárica que se presentan entre enero y julio. El fotoperiodo es capaz de afectar directamente la secreción de LH en ovejas Pelibuey ovariectomizadas y tratadas con implantes subcutáneos con 17β estradiol. Estos cambios se asociaron con la actividad ovulatoria de ovejas Pelibuey intactas. Finalmente, el fotoperiodo afecta directamente en la secreción de PRL en la oveja Pelibuey.

Summary

Antonio Ismael Porras Almeraya. **Effects of artificial photoperiod on reproductive activity in Pelibuey ewe (hair sheep).** (under supervision of Dr. Javier Valencia M. and Dr. Luis A. Zarco Q.).

The phenomenon of seasonal reproduction is widespread among animals. In sheep, as in many seasonal breeders, changes in photoperiod provide the main external cue to control fertility timing. Seasonal breeding in tropical hair sheep is considered to be different from that in wool breeds. In tropical or subtropical latitudes, spontaneous seasonality of reproductive activity is greatly reduced and environmental cues other than light are more important in influencing reproductive seasonality. The environmental cue most important is nutrition, which is influenced by forage availability and digestibility. The aim of this study was to examine whether changes in photoperiod regulate ovarian activity in Pelibuey sheep. Seven intact ewes and seven ovariectomized ewes, treated with 17β estradiol implants, were housed under artificial long day (16L:8D) and short-day (8L:16D) photoperiods, which were alternated every 90 days, during two years. Additionally, two similar groups (seven intact ewes and seven estradiol-treated ovariectomized ewes) were maintained outdoors under natural photoperiod ($19^{\circ} 13' \text{ NL}$). Ewes received a constant level of feeding during the whole experimental period. Under artificial photoperiod, intact ewes showed two breeding and two anestrus seasons each year. Long days caused anestrus in 65.6 ± 7.2 days (mean \pm s.e.m.) whereas short days induced the breeding season in 59.7 ± 3.3 days. Further, transitions between breeding seasons coincided with fluctuations in plasma luteinizing hormone (LH) in the estradiol-treated ovariectomized ewes. Plasma prolactin levels were also measured and the abrupt change from long to short days resulted in a progressive decrease in prolactin levels, while that from short to long days had the reverse effect. Ewes kept under natural daylength conditions showed one period of anestrus (86.3 ± 15.4 days) each year. For ovariectomized ewes, mean monthly LH plasma concentrations decreased during the anoestrus period and tended to be higher during the breeding season. It is concluded that, Pelibuey ewes have a true reproductive seasonality that is controlled by photoperiod. Under natural conditions Pelibuey ewes have periods of reduced anoestrus which independently of their nutritional status.

(Key words: seasonal reproduction, photoperiod, Pelibuey ewes, Hair sheep).

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Las razas ovinas originarias de latitudes altas presentan patrones reproductivos estacionales (Lindsay, 1991; Phillips, 1992). En contraste, varios autores consideran que las razas de origen cercano al ecuador, como la oveja de pelo denominada en México oveja Pelibuey o Tabasco, no presentan estacionalidad reproductiva, siendo capaces de reproducirse en cualquier época del año (Castillo *et al.*, 1972; Valencia *et al.*, 1975; González *et al.*, 1992a; Cruz *et al.*, 1994). Sin embargo, diversos estudios han encontrado que la oveja Pelibuey presenta en determinada época del año un periodo de actividad estral reducida (Valencia *et al.*, 1981; Heredia *et al.*, 1991b; González *et al.*, 1992a). González *et al.* (1991) sugirieron que las variaciones estacionales en la disponibilidad de alimentos pudieran ser la principal causa de la reducción de la actividad estral en este tipo de ovejas.

Sin embargo, en la actualidad se cuenta con evidencia que indica que posiblemente sí existe un efecto estacional independiente de la nutrición en la oveja Pelibuey. Heredia *et al.* (1991b) encontraron que ovejas Pelibuey mantenidas a lo largo del año en un plano nutricional adecuado disminuyeron su actividad estral desde finales de enero hasta fines de mayo, periodo durante el cual la manifestación del estro alcanzó su punto más bajo (15%), mientras que la actividad estral llegó a su valor más alto entre agosto y diciembre (90%).

También existen evidencias de que otros eventos reproductivos, como el inicio de la pubertad y el reinicio de la actividad ovárica posparto, pueden modificarse por efecto de la estación del año, aún en condiciones de alimentación constante. Se han encontrado diferencias importantes en la edad a la que alcanzan la pubertad las ovejas Pelibuey nacidas en diferentes épocas del año. Ponce de León *et al.* (1981) indican que la presentación del primer celo puberal en ovejas Pelibuey varía por efecto de la época de nacimiento. Al respecto, Rodríguez (1991) y Balcázar (1992) señalan que las ovejas Pelibuey nacidas en la primavera pueden comenzar a ciclar a los 6 meses de edad, con pesos de alrededor de 21 kg, mientras que las ovejas nacidas en otoño generalmente comienzan a ciclar hasta los 9 o más meses de edad, aún cuando su alimentación haya

sido adecuada y hubieran alcanzado los 21 kg desde meses antes. Esto probablemente se debe a que las ovejas nacidas en otoño y que son suplementadas alcanzan la edad y peso compatibles con la reproducción (6 meses y 21 kg respectivamente) durante los meses del año (marzo a mayo) en los que se ha descrito una disminución de la actividad reproductiva (Heredia *et al.*, 1991a,b), por lo que tienen que esperar hasta que la época del año sea adecuada para comenzar a ciclar.

En ovejas Pelibuey adultas también existen evidencias de estacionalidad reproductiva de origen no nutricional. Cortés (1993) encontró diferencias importantes en el intervalo entre el parto y el reinicio de la actividad ovárica de ovejas Pelibuey que parieron en diferentes épocas del año; 40.6 ± 3.1 días para ovejas paridas en verano, 77.3 ± 1.9 días en ovejas con parto en primavera, y 62.6 ± 6 días en ovejas que parieron en otoño e invierno, a pesar de que las ovejas se mantuvieron en estabulación y recibieron la misma cantidad y calidad de alimentos durante todo el año. Valencia *et al.* (1981) también encontraron que las ovejas Pelibuey que paren entre los meses de septiembre a abril presentan periodos de anestro posparto más largos que aquellas cuyo parto se realiza entre los meses de mayo a agosto, independientemente de limitantes nutricionales. Estos hallazgos sugieren que la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey es en gran parte independiente de la nutrición.

El hecho de que las diferencias estacionales anteriormente mencionadas se presenten a pesar de que se asegure una buena nutrición durante todo el año, sugiere que se trata de una verdadera estacionalidad reproductiva controlada por el fotoperiodo, como la que existe en diferentes razas ovinas productoras de lana, y no de una simple respuesta a una mayor o menor disponibilidad de forraje. Sin embargo, aún no existen estudios controlados en los que se haya evaluado directamente el fotoperiodo como variable principal, y determinar si este es capaz de afectar o no la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey.

En las ovejas productoras de lana se han utilizado principalmente dos metodologías para estudiar el efecto del fotoperiodo sobre la actividad reproductiva. La primera consiste en someter a las ovejas en estudio a un régimen de luz artificial opuesto

al que naturalmente está ocurriendo ("fotoperiodo inverso"). La segunda consiste en la aplicación de un "fotoperiodo alterno", consistente en la aplicación de un "fotoperiodo largo" (16 h luz por 8 h obscuridad) durante 90 a 120 días, seguido por la exposición a un "fotoperiodo corto" (16 h obscuridad por 8 h luz), con el objeto de inducir la manifestación de varios periodos de actividad ovárica y varios de anestro en un solo año. En ambos casos, la alteración de los patrones de actividad ovárica son considerados como evidencia de que la estacionalidad de la especie es controlada por el fotoperiodo (Yeates, 1949; Thwaites, 1965; Wodzicka-Tomaszewska *et al.*, 1967; Legan y Karsch, 1980).

Los efectos del fotoperiodo sobre la actividad reproductiva de la oveja son mediados por cambios en la sensibilidad hipotalámica a la retroalimentación negativa ejercida por el estradiol, lo que se refleja en cambios en la frecuencia y amplitud de los episodios de secreción de la hormona luteinizante (LH) (Karsch *et al.*, 1984). Al respecto, Goodman *et al.* (1982) emplearon ovejas ovariectomizadas para demostrar que la frecuencia en los episodios de secreción de LH se incrementaba durante la época reproductiva y disminuía en el anestro, considerando que dichos efectos se producían por la acción directa del fotoperiodo, independientemente de los esteroides gonadales. Estos cambios también ocurren al aplicar fotoperiodos artificiales controlados a ovejas ovariectomizadas (Karsch *et al.*, 1984), e incluso en hembras ovariectomizadas tratadas con implantes subcutáneos capaces de mantener en forma constante un nivel basal de estradiol (Goodman *et al.*, 1982). Estos hallazgos demuestran que el efecto inhibitorio del fotoperiodo durante el anestro se debe en parte a la capacidad del estradiol para deprimir los episodios de LH a nivel hipotalámico, mientras que el efecto estimulador del fotoperiodo consiste en la pérdida de dicha capacidad durante la estación reproductiva.

Por otra parte, el fotoperiodo también puede afectar la secreción de otras hormonas, como la prolactina, se conoce que en ovejas con estacionalidad reproductiva la secreción de prolactina se incrementa durante los días largos del año o cuando se someten a un fotoperiodo artificial largo, mientras que los días cortos del año o un fotoperiodo artificial corto la deprimen (Curlewis, 1992).

Por lo tanto, en caso de que la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey esté controlada por el fotoperiodo, la exposición a un fotoperiodo artificial alterno debe producir cambios en la actividad ovárica así como en los patrones de secreción de la hormona luteinizante y prolactina similares a los que se observan en ovejas productoras de lana.

Objetivos

Objetivo general

Determinar los efectos del fotoperiodo artificial sobre la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey.

Objetivos específicos

1. Estudiar el efecto de la exposición a fotoperiodos alternos sobre la actividad ovárica cíclica de ovejas Pelibuey intactas.

2. Estudiar el efecto de la exposición a fotoperiodos alternos sobre los patrones de secreción de la hormona luteinizante y prolactina en ovejas Pelibuey ovariectomizadas y tratadas con un implante subcutáneo conteniendo 17β estradiol.

Hipótesis

1. La actividad ovárica de ovejas Pelibuey mantenidas en un plano nutricional constante a través del año es modificada directamente por cambios en el fotoperiodo.

2. Los efectos del fotoperiodo sobre la actividad ovárica de la oveja Pelibuey debe reflejarse en cambios en la frecuencia y amplitud de los episodios de secreción de la hormona luteinizante.

3. El fotoperiodo es capaz de afectar la secreción de prolactina en la oveja Pelibuey; la exposición a fotoperiodos largos incrementará su secreción y disminuirá en los fotoperiodos cortos.

CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. INTRODUCCIÓN

Para 1992 el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática estimó en 3, 954, 508 la población ovina del país; el 95% del inventario está formado por ganado Criollo, y tan sólo un 5% por razas especializadas (Alvarez, 1995). La principal raza especializada es la Rambouillet, y en menor proporción las razas Suffolk, Corriedale, Hampshire, Dorset y Tabasco (Mason, 1980).

En la actualidad la producción ovina de México tiene características regionales como consecuencia de los diferentes tipos raciales predominantes en las distintas zonas del país. La región norteña se caracteriza por la producción de lana, en la zona centro predomina la producción de carne con base en la cría y engorda de ganado Criollo cruzado con razas ovinas de "cara negra" (Suffolk y Hampshire). En las áreas tropicales la producción se lleva a cabo con razas de pelo, como las denominadas en México, Tabasco o Pelibuey, y la Blackbelly o Panza Negra, debido a su capacidad de adaptación a estas regiones del país (Alvarez, 1995).

Los ovinos de pelo que se encuentran en América son originarios de la costa occidental de África, y fueron trasladados al continente americano durante los siglos XVI y XVII junto con los esclavos adquiridos para trabajar las tierras recientemente descubiertas por los españoles. Se considera que las primeras ovejas llegaron a las Antillas entre 1624 y 1657, de donde se distribuyeron a los diferentes lugares del continente (Rastogi *et al.*, 1980). A México los primeros ovinos de pelo llegaron por la península de Yucatán entre 1930 y 1940, procedentes de Cuba. Debido a su alta capacidad para vivir en un ambiente tropical húmedo, fueron desplazándose poco a poco hacia el oeste, a los estados de Tabasco y Veracruz (Mason, 1980). Actualmente se encuentran rebaños de ovinos de pelo en las costas del Golfo de México y del Pacífico, e incluso en diferentes lugares con clima templado (Cruz, 1995).

Las ovejas de pelo existen en varios países de Latinoamérica, sus fenotipos y genotipos son diversos. En México existen dos tipos raciales; la Pelibuey (Peligüey o

Tabasco) y la Blackbelly (Panza negra). Ruz (1966) sugiere que el origen del borrego Tabasco está en los ovinos Barbados "vientre negro", lo cual no se ha comprobado. Por su pelaje, que es semejante al de los bovinos, se les conoce en Cuba como ovinos "pelo de buey" o simplemente "pelibuey". Por su tipo de pelo y fenotipo general, frecuentemente son confundidos con cabras, aunque estas últimas pertenecen al género *Capra* y tienen 60 cromosomas, mientras que los ovinos Pelibuey pertenecen al género *Ovis* y tienen 54 cromosomas (Berruecos *et al.*, 1975).

2.2 ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA EN LA OVEJA

La selección natural permitió la adaptación de los mamíferos a los diferentes hábitats, favoreciendo que su reproducción ocurra armónicamente con las variaciones ambientales (Bronson y Heideman, 1994). De esta manera, la mayoría de los mamíferos que se han adaptado a vivir en climas fríos o templados tienen sus partos al inicio de la primavera, con el fin de optimizar la sobrevivencia de sus crías (Lincoln y Short, 1980; Lindsay, 1991). La necesidad de tener partos estacionales provocó que evolucionara un patrón reproductivo anual, caracterizado por la existencia de un periodo reproductivo y otro de anestro o inactividad ovárica. El intervalo entre la concepción y el parto propio de cada especie, marca el momento del año en que tiene lugar la época reproductiva. La gestación en la oveja tiene una duración aproximada de cinco meses, en consecuencia su estación reproductiva debe iniciar en otoño para permitir que los nacimientos ocurran durante la primavera (Lincoln y Short, 1980; Ortavant *et al.*, 1988).

Posiblemente esta estrategia se presenta en aquellas especies que viven en latitudes iguales o mayores a los 35°, donde los cambios en el medio ambiente (temperatura, precipitación pluvial, disponibilidad de alimentos) son contrastantes en las diferentes estaciones del año (Lindsay, 1991).

Existe evidencia que indica que la oveja silvestre se caracterizaba por tener una estación reproductiva corta. La mayoría de las razas de ovejas domésticas conservan un patrón estacional para su reproducción, aunque existe la posibilidad de encontrar individuos con la capacidad para reproducirse en cualquier época del año (Setchell, 1992). Es factible que la domesticación haya mejorado la eficiencia reproductiva de los

animales, en algunos casos reduciendo la edad a la pubertad, en otros incrementando el tamaño de la camada, y en otros reduciendo la estacionalidad reproductiva, al ser menos importante para la sobrevivencia (Setchell, 1992).

Bronson y Heideman (1994) señalan que existen variables extrínsecas (asociadas con los cambios estacionales en clima y disponibilidad de alimentos) e intrínsecas (asociadas con el tamaño corporal final, la duración de diferentes eventos reproductivos y la longevidad del individuo) que determinan que los animales desarrollen “estrategias” estacionales o no para su reproducción. Dichas estrategias están a su vez reguladas por una compleja interacción de factores físicos (fotoperiodo, temperatura, precipitación pluvial), nutricionales (disponibilidad de alimentos) y sociales (presencia del macho, prácticas de manejo o crianza).

2.2.1 Variaciones estacionales en la actividad reproductiva de la oveja

En general, es común que las razas ovinas originarias de latitudes extremas ($\geq 35^\circ$ de latitud norte o sur) tengan un anestro estacional superior a los cinco meses de duración, mientras que en las razas originarias de latitudes bajas (menores a los 35°) este periodo no suele superar los tres meses (Lindsay, 1991).

Scott (1977) ha clasificado a las razas ovinas por la duración de su época reproductiva en: a) Razas con estación reproductiva larga (algunos individuos pueden presentar actividad ovárica durante la época de anestro, aunque su incidencia es baja), como la Rambouillet, Merino, Dorset, y razas exóticas que se han desarrollado en regiones ecuatoriales. b) Razas con estación reproductiva corta o restringida; Southdown, Cheviot, Shropshire, y razas de lana larga que se originaron en Inglaterra y Escocia. c) Razas con estación reproductiva intermedia; Suffolk, Hampshire, Columbia, Corriedale, y todas las cruza que involucren ovejas de lana fina o Dorset.

Es claro que las razas ovinas que se originaron o habitan en latitudes extremas ($\geq 35^\circ$) presentan una marcada estacionalidad reproductiva controlada por el fotoperiodo (Phillips, 1992). En el caso de las razas originarias o adaptadas a vivir en latitudes bajas, generalmente se ha considerado que carecen de un “anestro estacional verdadero”. Sin

embargo, la información que existe sobre la actividad reproductiva anual en este tipo de ovejas es limitada, y en ocasiones difícil de interpretar debido a las diversas metodologías que se han utilizado para su estudio, por ejemplo:

a. Existen estudios que infieren que las ovejas originarias de latitudes bajas carecen de estacionalidad reproductiva debido a su capacidad para tener partos durante todo el año, aunque no siempre la distribución de la tasa de concepción mensual es uniforme (Thimonier y Chemineau, 1988).

b. Empleando material de rastro se ha podido detectar la presencia de estructuras ováricas durante todo el año en ovejas de la raza Yankasa en Nigeria, aunque se observó una mayor frecuencia durante la época de prelluvia y lluvias (Hambolu *et al.*, 1985).

c. La detección diaria de calores permitió observar la existencia de actividad estral constante en ovejas nativas de Kenya (Somali y Nandi), así como en ovejas de razas exóticas (Merino, Karakul y New Zealand Romney Marsh), adaptadas a la región de Kabete (1° 15'LS) (Carles y Kipngeno, 1986). Aunque también se han detectado diferencias en la actividad estral entre la época de lluvia y la de sequía en ovejas Yankasa en Nigeria (Igono *et al.*, 1982).

d. En los últimos años se ha podido estudiar la actividad ovárica a través del año mediante diversas técnicas; la laparoscopía hace posible la observación directa de las ovulaciones, y el radioinmunoanálisis permite el seguimiento del comportamiento de la progesterona. De esta forma, se ha podido constatar que las ovejas originarias de latitudes bajas también presentan periodos de anestro estacional, aunque estos son de menor duración que en las razas que habitan en las latitudes altas. Mediante el seguimiento hormonal de progesterona; González *et al.* (1980) encontraron que el periodo de inactividad sexual de la oveja Merino en España es de 2 a 3 meses. Saiz *et al.* (1980) estimaron que este periodo es de aproximadamente 97 a 114 días en ovejas de la raza Manchega Española. En el norte de África los periodos de inactividad son más cortos, Ammar-Kohdja y Brudieux (1982) observaron que en la raza Tadmidi de Argelia la

duración media del anestro fue de 52 días, pero en cierto número de ovejas el periodo de inactividad se reduce sólo a dos ciclos estrales.

2.2.2 Variaciones estacionales en la actividad reproductiva de la oveja en México

2.2.2.1 Ovejas de lana

En México se han realizado estudios para determinar la actividad reproductiva anual de diversas razas ovinas productoras de lana. Sus metodologías consistieron básicamente en determinar la actividad estral de las ovejas a lo largo del año, utilizando material de rastro o mediante la detección de estros con machos celadores. De esta manera Valencia *et al.* (1978) estudiaron la influencia de la estación del año (Estado de México, México 19° 44' LN) sobre la presentación de estros en ovejas Dorset, estas mostraron una disminución significativa en la presentación de celos en marzo, abril y mayo (41, 29 y 29% respectivamente) en relación con el mes de octubre, donde el 94.7% de las ovejas manifestaron estro. Los autores sugieren que aunque el comportamiento reproductivo de la mayoría de las ovejas Dorset mostró una tendencia estacional, no se puede hablar de un anestro estacional absoluto debido a que algunas ovejas mostraron una actividad estral continua. Utilizando la misma metodología, estos autores demostraron que ovejas Criollas encastadas con Suffolk presentaron una disminución en la presentación de estros en los meses de marzo y abril sin que existiera realmente un anestro profundo (Valencia *et al.*, 1980).

Serratos *et al.* (1985) determinaron la influencia de la época del año sobre la actividad reproductiva de la oveja Criolla utilizando material de rastro colectado en Zacatecas, México, a 21' 25° de latitud norte. Ellos encontraron una alta proporción de ovejas no gestantes con cuerpo lúteo activo durante los meses de junio a enero (del 37.2% a 83.3%) y una marcada disminución de febrero a mayo (del 24.7% al 1.6%). Además, observaron una mayor ocurrencia de concepciones entre los meses de agosto a enero, señalando que existe una clara influencia del mes del año en la actividad reproductiva de la oveja Criolla en México.

Urrutia (1991) estudió el inicio de la estación reproductiva de ovejas Rambouillet en Hidalgo, México (20° 21' LN). La determinación del mes de inicio de la actividad

ovárica se realizó mediante la detección de celos, dos veces al día, durante cinco meses (mayo a septiembre). El porcentaje mensual de ovejas en estro fue de 0.4% en mayo, 14.5% en junio, 25% en julio, 78.2% en agosto y de 93.9% en septiembre, encontrando diferencias estadísticas entre dichos porcentajes. El autor indica que estos resultados sugieren que las ovejas de la raza Rambouillet presentan una marcada tendencia a la estacionalidad reproductiva, a pesar de que México está ubicado en una latitud donde la fluctuación anual en la duración del día es reducida.

De Lucas *et al.* (1997) estudiaron el comportamiento reproductivo anual en ovejas de cinco razas (Romney Marsh, Corriedale, Rambouillet, Suffolk y Criollas). El estudio se realizó en el Estado de México (19° 17' LN). La observación de estros se realizó dos veces al día con el auxilio de machos con pene desviado. Los autores observaron una marcada estacionalidad de las razas Corriedale, Suffolk y Romney Marsh, las cuales no manifestaron actividad estral en los meses de marzo a junio. En tanto que, las ovejas Criollas y Rambouillet presentaron estros prácticamente durante todo el año de estudio.

Estos estudios muestran que la actividad reproductiva anual de diversas razas de ovejas en México decrece durante la primavera, y cabe recordar que en las latitudes donde se ubica México las variaciones anuales en el fotoperiodo no son muy marcadas. Esto significaría que los mecanismos neuroendocrinos responsables de sincronizar la reproducción con la época del año son muy sensibles a cambios ligeros en la longitud del fotoperiodo. Sin embargo, no existen estudios donde se haya evaluado directamente el efecto del fotoperiodo u otras variables sobre la actividad reproductiva en estas latitudes.

2.2.2.2 Ovejas Pelibuey

En los años setenta se publicaron estudios que señalan que la oveja pelibuey no presenta un patrón estacional para su reproducción, aunque los mismos basan sus conclusiones en el comportamiento de ciertos parámetros reproductivos, sin que estos se hubieran comparado al menos entre las diferentes épocas del año (Castillo *et al.*, 1972; Valencia *et al.*, 1975).

Valencia *et al.* (1981) determinaron la presentación anual de estros en ovejas Pelibuey en el estado de Yucatán, México (28° 58' LN). En el periodo de enero a abril el 17% de las ovejas presentaron celo, en contraste con el 95% y 100% de actividad estral en los periodos de mayo a agosto, y de septiembre a diciembre respectivamente. Los autores concluyeron que la hembra Pelibuey presenta estacionalidad reproductiva en esta latitud, independientemente de limitantes nutricionales.

Heredia *et al.* (1991b) encontraron una reducción significativa en la actividad estral de ovejas Tabasco durante marzo, abril y mayo, meses en los que hubo aproximadamente el 15% de ovejas en calor. En otro estudio, Heredia *et al.* (1991a) observaron una reducción significativa en la actividad estral durante la primavera aún en ovejas mantenidas en un plano nutricional elevado. Los autores en ambos casos señalan que las diferencias en la presentación de calores durante el año constituyen una evidencia de que el fenómeno de estacionalidad se manifiesta en las ovejas Tabasco explotadas en la península de Yucatán.

González *et al.* (1992a) señalan que ovejas Pelibuey mantenidas en condiciones constantes de nutrición (Tamaulipas, México 22° 29' LN), manifestaron diferencias significativas en la tasa de ovulación a lo largo del año. La proporción de ovejas ovulando fue significativamente menor en abril (20%) que en mayo y julio (86% y 83% respectivamente). Además, determinaron que la actividad estral mensual fue estadísticamente menor en abril (24%) comparada con agosto (97%) cuando se detectó la mayor proporción de hembras en estro. Los autores señalan que estas variaciones en la actividad estral anual no implican la existencia de un anestro estacional verdadero, y que dichas variaciones pudieran deberse a factores como la temperatura y humedad propios de esta región.

Cruz *et al.* (1994) estudiaron las variaciones estacionales en la presentación de estros en ovejas Pelibuey bajo condiciones de pastoreo en el trópico húmedo (estado de Veracruz, México 20° 4' LN). La presentación de estros se determinó mediante la detección de celos dos veces al día, durante un año. La manifestación de estros durante el año varió de 81.2% (abril) a 100% (agosto), sin que dichas variaciones fueran

significativas ($P>0.05$). Además, encontraron que el porcentaje de ovulaciones múltiples y óvulos fertilizados fue significativamente menor en abril, indicando que esto podría deberse a la baja disponibilidad y calidad de los forrajes presentes en la región entre febrero y mayo. Los autores concluyen que en el lugar donde se realizó el estudio, no hay diferencia en la presentación de celo atribuible a la época del año.

Sin embargo, Martínez *et al.* (1995) evaluaron en la misma explotación el efecto de las variaciones en el peso y la condición corporal sobre la actividad ovárica anual, la cual determinaron mediante el seguimiento de los niveles de progesterona. Las ovejas presentaron una menor actividad ovárica durante la primavera, a pesar de que en este periodo se registraron los mejores pesos y condiciones corporales, lo que sugiere que la disminución de la actividad ovárica no es mediada por deficiencias nutricionales, por lo que podría estar regulada por el fotoperiodo.

Además existe evidencia de que la estación del año puede afectar diversos eventos reproductivos de la oveja Pelibuey como la edad a la pubertad, la distribución de los partos a lo largo del año o el reinicio de la actividad ovárica posparto.

A. Pubertad

Se han encontrado diferencias importantes en la edad a la que alcanzan la pubertad las ovejas Pelibuey nacidas en diferentes épocas del año. Balcázar (1992) encontró que las ovejas Pelibuey nacidas en la primavera, y que son suplementadas pueden comenzar a ciclar a los 6 meses de edad, con pesos de alrededor de 21 kg. En cambio, las ovejas nacidas en la misma explotación durante el otoño generalmente comienzan a ciclar hasta los 9 o más meses de edad, aún cuando su alimentación haya sido adecuada y hubieran alcanzado los 21 kg desde meses antes (Rodríguez, 1991). Esto probablemente se debe a que las ovejas nacidas en otoño y que son suplementadas alcanzan la edad y peso compatibles con la reproducción (6 meses y 21 kg respectivamente) durante los meses del año (marzo a mayo) en los que se ha descrito una disminución de la actividad reproductiva (Valencia *et al.*, 1981; Heredia *et al.*, 1991ab), por lo que tienen que esperar hasta que la época del año sea adecuada para comenzar a ciclar.

Velázquez *et al.* (1995) estudiaron el efecto del nivel de suplementación alimenticia sobre la edad y peso al primer estro en ovejas Pelibuey nacidas en verano (julio y agosto), encontrando que la estación del año afecta el inicio de la pubertad en las ovejas Tabasco, independientemente del nivel de suplementación que estén recibiendo.

B. Época de partos

Ortega *et al.* (1981) evaluaron el efecto de la estación de nacimiento sobre la edad al primer parto y la distribución de partos a través del año en ovejas Pelibuey en Tamaulipas, México (22° 35' LN). Las edades al primer parto fueron de 442, 463, 434 y 427 días, para las hembras nacidas en primavera, verano, otoño e invierno respectivamente ($P < 0.10$); mientras que el número mensual de partos de enero a diciembre fue de 58, 48, 21, 36, 74, 48, 19, 13, 8, 38, 93 y 60 ($P < 0.001$). Los autores indican que las variaciones en la edad al primer parto y en la distribución de los mismos obedecen a factores nutricionales, y no a un efecto estacional mediado por el fotoperíodo.

Cruz *et al.* (1981) encontraron diferencias estadísticas en el intervalo entre partos (IP) de ovejas Pelibuey en la región de Veracruz, México (20° 4' LN); el IP fue mayor para aquellas ovejas que parieron en enero (227.3 ± 39.4 días) que para aquellas que lo hicieron en julio (188.3 ± 4.6 días), sugiriendo una posible influencia estacional en el IP. Posteriormente, Cruz *et al.* (1983) señalan que existe una marcada disminución en el número de partos en los meses de junio, julio y agosto; además, las ovejas que parieron en invierno tuvieron un intervalo significativamente mayor entre el parto y el primer estro, comparadas con aquellas que tienen su cría en otros meses del año.

C. Reinicio de la actividad ovárica posparto

Valencia *et al.* (1981) observaron que el intervalo parto a primer estro fue significativamente mayor en las ovejas Pelibuey que parieron de enero a abril (136.9 ± 49.2 días) o de septiembre a diciembre (164.4 ± 82.5 días), que aquellas que lo hicieron de mayo a agosto (88.4 ± 30.9 días), a pesar de que la alimentación fue igual en todas las épocas del año. Los autores concluyen que la hembra Pelibuey presenta estacionalidad reproductiva independientemente de limitantes nutricionales.

Hallazgos similares fueron encontrados por Cortés (1993), quién encontró diferencias importantes en el intervalo parto a reinicio de la actividad ovárica de ovejas Pelibuey que parieron en diferentes épocas del año (40.6 ± 3.1 días en verano, 77.3 ± 1.9 días en primavera y de 62.6 ± 6 días en otoño e invierno), a pesar de que las ovejas se mantuvieron en estabulación y recibieron la misma cantidad y calidad de alimentos durante el año. Estos hallazgos sugieren que la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey es en gran parte independiente de la nutrición. Sin embargo, en un estudio previo Feldman *et al.* (1988) no encontraron diferencias en el intervalo parto a primera ovulación en ovejas Pelibuey paridas en los inviernos de 1983 y 1984 (53.1 ± 13.5 y 35.3 ± 5 días respectivamente) y las paridas en el verano de 1984 (31.3 ± 4.6 días).

En resumen, es claro que las ovejas que habitan en latitudes altas ($\geq 35^\circ$) presentan estacionalidad reproductiva, la cual es regulada principalmente por el fotoperiodo. Las ovejas que habitan latitudes bajas ($< 35^\circ$), generalmente presentan estacionalidad reproductiva aunque menos marcada, como sucede con la oveja Pelibuey. Algunos autores consideran que los periodos de inactividad ovárica en ovejas originarias de latitudes bajas son debidas a variaciones en la disponibilidad de alimentos. Sin embargo, existen una buena cantidad de estudios en los que se ha demostrado efectos estacionales sobre diversas variables reproductivas en animales mantenidos en nutrición constante durante el año, lo que sugiere la existencia de estacionalidad reproductiva gobernada por el fotoperiodo. En el caso específico de la oveja Pelibuey no existen estudios que hayan evaluado directamente el efecto del fotoperiodo sobre la actividad ovárica.

2.2.3 Factores externos que regulan la estacionalidad reproductiva de la oveja

2.2.3.1 Factores físicos

A. Fotoperiodo

Los animales utilizan diversas "señales externas" que les permiten anticipar y adaptarse a las diferentes estaciones del año; de esta manera, los animales acumulan reservas de grasa antes del invierno, desarrollan pelajes adecuados a la estación, y las especies con estacionalidad reproductiva determinan el tiempo apropiado para su reproducción (Lincoln, 1992). Se conoce que el fotoperiodo es la principal variable

ambiental utilizada para tal fin, quizá porque a diferencia de otras, el ciclo luminoso anual es una variable "constante" de un año a otro, siendo el indicador más confiable de la época del año (Phillips, 1992).

Desde los años treinta se observó que el ciclo reproductivo de las ovejas se desfasaba e invertía cuando se cambiaban de hemisferio. Este hallazgo propició la realización de numerosos estudios para evaluar los efectos del ciclo luminoso sobre la actividad reproductiva (Sadleir, 1972). Dos tipos de experimentos han permitido demostrar que el fotoperiodo es el principal agente sincronizador de los ciclos reproductivos anuales en la oveja: El primer método experimental consiste en someter a las ovejas a un régimen de luz artificial opuesto al que naturalmente está ocurriendo (fotoperiodo inverso), en ovejas que presentan un patrón reproductivo estacional la aplicación de un fotoperiodo inverso logra desfasar e invertir su ciclo reproductivo (Yeates, 1949; Thwaites, 1965; Wodzicka-Tomaszewska *et al.*, 1967). Además se observó que la disminución en la cantidad de horas luz por día ocasionaba el inicio de la actividad ovárica, mientras que su incremento la deprimía. Esto originó que se clasificara a los ovinos como una especie de "días cortos" por su capacidad para reproducirse durante el otoño (cuando la longitud del día disminuye) (Sadleir, 1972; Lindsay, 1991).

El segundo método experimental consiste en la aplicación alterna de calendarios fijos de luz-obscuridad (fotoperiodo alterno), con el objeto de inducir la manifestación de varios periodos de actividad ovárica y varios de anestro en un tiempo determinado. Legan y Karsch (1980) compararon la actividad reproductiva anual de ovejas Suffolk mantenidas en condiciones naturales contra la de ovejas sometidas a un fotoperiodo alterno, es decir, combinaron un fotoperiodo largo (16 h luz por 8 h de obscuridad) durante 90 o 120 días, seguido por la exposición a un fotoperiodo corto (8 h obscuridad por 16 h de luz), observando el cese de la actividad ovárica en aquellas ovejas sometidas a fotoperiodos largos, mientras que los fotoperiodos cortos inducían dicha actividad. Con cualquiera de las dos metodologías la alteración de los patrones de actividad ovárica es considerada como evidencia de que la estacionalidad de la especie es controlada por el fotoperiodo (Levasseur y Thibault, 1980; Ortavant *et al.*, 1988).

Bronson y Heideman (1994) indican que posiblemente los mamíferos han desarrollado varias estrategias para utilizar al fotoperiodo como regulador de su actividad reproductiva estacional. En las ovejas, una posibilidad es que el ciclo reproductivo sea controlado por un ritmo endógeno circanual, el cual se sincroniza a través del fotoperiodo a los cambios estacionales en clima y disponibilidad de alimentos. Karsch *et al.* (1989) observaron que ovejas mantenidas en fotoperiodos artificiales constantes seguían mostrando ciclos periódicos de actividad hormonal, aunque la duración total del ciclo de actividad-inactividad tenía una duración menor al año. Ellos señalan que la oveja utiliza el fotoperiodo para ajustar a un año el largo de su ritmo reproductivo endógeno, así como para sincronizarlo con las variaciones estacionales en el clima y la disponibilidad de alimentos.

Al respecto, se conoce que ovejas que son trasladadas de latitudes altas ($\geq 35^\circ$ de LN o LS) a bajas ($< 35^\circ$ de LN o LS), o que son expuestas a fotoperiodos artificiales de tipo ecuatorial conservan su patrón reproductivo estacional, incluso después de varios años. Pijoan y Williams (1983) estudiaron el inicio y la duración de la estación reproductiva en ovejas de las razas Dorset Horn (DH) y North Country Cheviot (CH) bajo las condiciones de un fotoperiodo local (FL) de Potters Bar, Inglaterra ($51^\circ 43'$ LN) y bajo un fotoperiodo de tipo ecuatorial (FE), esto es 13 h luz por 11 h oscuridad, durante un año. Ellos encontraron diferencias estadísticas para el número total de ciclos estrales y de ovulaciones, siendo mayores en el FE que con FL, independientemente de la raza, debido principalmente a la baja actividad observada en el FL durante primavera y verano. Sin embargo, también encontraron "estacionalidad reproductiva" en aquellas ovejas Dorset y Cheviot mantenidas en un fotoperiodo ecuatorial, sugiriendo que esto pudiera deberse a la influencia de otros factores ambientales (temperatura, nutrición), e incluso a la persistencia de un ritmo endógeno interno, que quizá ejerce una influencia preponderante cuando los factores externos no son favorables.

Lindsay (1991) considera que la fotosensibilidad es una capacidad que han adquirido las razas de ovinos originarias de latitudes altas ($\geq 35^\circ$ latitud de LN o LS), y que está pobremente desarrollada en aquellas razas que habitan cerca de los trópicos. Sin embargo, esto es solamente una especulación, ya que prácticamente no existen

estudios sobre los efectos del fotoperiodo en el control de la estacionalidad reproductiva de las ovejas originarias de zonas meridionales.

B. Temperatura

Existe evidencia de que en aquellas especies en las que no existe un control endógeno de la temperatura corporal (vertebrados poiquilotérmicos) la termoperiodicidad generalmente domina a la fotoperiodicidad para la sincronización del ritmo reproductivo anual (Pévet, 1987). También existe evidencia que indica que la temperatura ambiental es capaz de interactuar con el fotoperiodo para sincronizar los ritmos reproductivos de vertebrados homeotérmicos; así por ejemplo, la actividad sexual del hamster dorado disminuye durante el otoño, cuando decrece la duración del día y la temperatura. Sin embargo, en condiciones de fotoperiodo corto la atrofia ovárica se presenta más rápido a medida que la temperatura ambiental es menor (Pévet, 1987).

Se desconoce el mecanismo neuroendocrino por el cual la temperatura pudiera actuar para regular la actividad reproductiva estacional. Se señala que la actividad de enzimas como la hidroxindol-O-metiltransferasa y la N-acetiltransferasa (enzimas involucradas en las síntesis de los 5-metoxi-indoles) disminuye cuando se somete a ratas a temperaturas elevadas (Nir *et al.*, 1975). Pévet (1987) señala que la melatonina y otros 5-metoxi-indoles pudieran estar implicados en mediar la información acerca de la temperatura.

Se ha sugerido que la temperatura ambiental pudiera ser una "señal" que permitiera modular el ritmo reproductivo estacional en la oveja (Thimonier y Chemineau, 1988), pero existe poca información. Al respecto, Wodzicka-Tomaszewska *et al.* (1967) estudiaron el efecto de la temperatura sobre la actividad reproductiva de ovejas Southdown y Merino sometidas a un fotoperiodo ecuatorial y a un régimen de temperatura invertido, encontrando que el ritmo reproductivo estacional persistió sin que la temperatura lo afectara.

La mayor parte de la información que existe sobre el efecto de la temperatura en la actividad reproductiva de ovejas, se enfoca a estudios que aplican temperaturas

elevadas por periodos limitados de tiempo, y determinan los efectos sobre ciertos eventos reproductivos. En general, las razas de ovejas que habitan en las zonas tropicales son menos sensibles a las temperaturas elevadas que aquellas razas de clima templado. Thimonier y Chemineau (1988) demostraron que ovejas Suffolk expuestas a temperaturas elevadas (22° a 30° C) durante la noche, tuvieron una menor fertilidad (25%) que la lograda por ovejas Pelibuey (74%). Esto fue atribuido a diferencias en la sensibilidad térmica de las ovejas, que se manifestaron en un incremento de su ritmo respiratorio y su temperatura rectal (100 vs 40 resp./min y 39.7° vs 38.8° C en las ovejas Suffolk vs Pelibuey respectivamente). Schillo *et al.* (1978) encontraron que la hipertermia causa una reducción en los niveles plasmáticos de hormona luteinizante (LH) en ovejas, aunque no lo suficiente como para explicar la baja fertilidad. Sawyer *et al.* (1979a) aplicaron temperaturas elevadas antes de la fecha esperada de estro, ocasionando una reducción en la incidencia de estros detectados, retraso en la manifestación del estro y en el pico preovulatorio de LH. Además, la temperatura elevada puede afectar la fertilización y la sobrevivencia embrionaria en las ovejas (Clarke y Tilbrook, 1992). Sawyer *et al.* (1979ab) observaron que si las ovejas Merino se sometían a temperaturas de 40° a 43° C después de su inseminación se ocasionaba una reducción en su índice de gestación. En un segundo experimento el estrés calórico se aplicó antes y después de la inseminación, resultando también en una pobre fertilidad. Sin embargo, todos estos efectos de las temperaturas extremas no pueden considerarse como un mecanismo de regulación normal, sino más bien una respuesta fisiológica a un estrés térmico excesivo, que normalmente no se presenta en la región de la cual se originaron dichas razas ovinas.

C. Precipitación pluvial

Las variaciones anuales en el fotoperiodo y en la temperatura ambiental son menores en las latitudes bajas (zonas ecuatoriales y tropicales). Sin embargo, en dichas regiones existen variaciones importantes en la precipitación pluvial. En los trópicos, es común que el patrón anual de lluvia tiende a ser marcadamente estacional (con uno o dos periodos definidos de lluvias); el resultado es una marcada estacionalidad en la disponibilidad de alimentos, que puede hacer necesaria la aparición de una estacionalidad reproductiva. Bajo tales circunstancias algunas especies pueden optar por una estrategia reproductiva de tipo "oportunista", es decir, la disponibilidad de alimentos determinará la

posibilidad de reproducirse o no, independientemente del fotoperiodo (Pévet, 1987; Bronson y Heideman, 1994).

Existen algunos estudios que sugieren una estrecha relación entre la distribución anual de lluvia y las tasas de concepción o de partos en zonas ecuatoriales. Hambolu *et al.* (1985) encontraron que la actividad ovárica de ovejas Yankasa en Nigeria era significativamente mayor durante la época de prelluvia y de lluvia que durante la estación de sequía, atribuible a una mayor disponibilidad de alimentos. Carles y Kipngeno (1985) señalan que en las zonas áridas es usual que las ovejas muestren anestro durante la estación seca.

En estas regiones el fotoperiodo tiene una variación mínima en el año, lo que hace suponer que el patrón anual de lluvia pueda ser considerado como una "señal" que permite sincronizar la actividad sexual, pero esto aún deberá demostrarse, así como el mecanismo neuroendocrino por el cual la lluvia pudiera regular el ciclo reproductivo (Pévet, 1987).

2.2.3.2 Factores Nutricionales

Bronson y Heideman (1994) señalan que la reproducción es un proceso que demanda energía y nutrientes, resultando evidente que los animales manifiesten una tendencia hacia la estacionalidad reproductiva en aquellos hábitats donde la disponibilidad de alimentos no sea constante durante el año, y serán estrictamente estacionales en lugares en los que la disponibilidad de alimentos varíe marcadamente. Además, señalan que la disponibilidad de alimento puede actuar como un factor próximo o último, es decir, la abundancia o escasez de alimento a corto plazo puede tener un efecto benéfico o detrimental en forma inmediata (factor próximo), mientras que las variaciones estacionales en su disponibilidad (largo plazo) determinan que los animales desarrollen o no una estrategia estacional para su reproducción (factor último).

En las ovejas existe información que indica que los niveles de gonadotropinas son menores en animales en pobres condiciones corporales (Rhind *et al.*, 1989). Thomas *et al.* (1990) encontraron que ovejas ovariectomizadas en pobres condiciones corporales

tuvieron niveles menores de LH (debido a una reducción en la frecuencia de secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas), pero esto no ocurrió en las ovejas intactas, en consecuencia el efecto nutricional actúa directamente en el sistema nervioso central independientemente del mecanismo de retroalimentación negativa ejercido por los esteroides ováricos. Findlay y Cummings (1976) señalan que la condición corporal de las ovejas también reduce las tasas de ovulación y de partos, sin que al parecer esté asociada con cambios en los niveles plasmáticos de las hormonas folículo estimulante y luteinizante.

En las ovejas el nivel de proteína en la dieta influye en su comportamiento reproductivo. Nottle *et al.* (1990) demostraron que la administración de "Lupin" (grano con alto contenido de proteína >30%) en varios periodos del ciclo estral incrementó la tasa ovulatoria de ovejas.

La actividad reproductiva puede afectarse debido a deficiencias de energía, proteína, minerales y vitaminas en la dieta, en este caso la disponibilidad de estos actuaría como un "factor inmediato", en tanto que la cantidad y calidad de alimentos disponible durante el año puede ser potencialmente una "señal" que permita sincronizar el ciclo reproductivo anual, aunque se desconoce cual sería el mecanismo neuroendocrino implicado (Pévet, 1987).

Por otra parte, es conocido que el consumo de ciertas plantas puede modificar la actividad gonadal anual de ciertos herbívoros y omnívoros; Flowerdew (1973) encontró que en roedores "woodland" la estación reproductiva puede extenderse o continuar durante el invierno si en el otoño hubo buena disponibilidad de alimentos. También se conoce que existen variaciones estacionales en la proteína contenida en los forrajes que posiblemente esté involucrada en las variaciones de la actividad reproductiva anual de los herbívoros (Pévet, 1987).

Algunas plantas denominadas como "predictoras" son capaces de sintetizar durante ciertos periodos de su desarrollo sustancias como la 6-metoxibenzoxazolina que actúa directamente sobre la actividad gonadal en algunas especies de roedores (*Microtus*

montana), en los cuales induce la madurez sexual aún durante su anestro invernal (Sanders *et al.*, 1981). Yuwiler y Winters (1985) encontraron que dicha sustancia posee una estructura química semejante a los 5-metoxi-indoles, siendo capaz de estimular *in vitro* la biosíntesis de melatonina por la glándula pineal de la rata. Es evidente que de estas observaciones no se pueden derivar conclusiones definitivas, además de que la glándula pineal es parte de un complejo sistema responsable de sintetizar melatonina y otros 5-metoxi-indoles, los cuales probablemente estén implicados en los procesos de adaptación al medio ambiente.

Además, es posible que la disponibilidad de alimentos solamente actúe como una señal inmediata en especies de gestación muy corta, como los roedores, ya que en especies con gestación muy larga no habría garantía de que una buena disponibilidad de alimentos durante la concepción signifique que habrá buena alimentación meses después, al ocurrir el parto.

2.2.3.3 Factores sociales

Bronson y Heideman (1994) señalan que los factores sociales pueden interactuar con el fotoperiodo, temperatura o la disponibilidad de alimentos, para desencadenar el inicio o la finalización de la estación reproductiva, aunque también pueden tener una marcada influencia durante la estación reproductiva. En el primer caso las "señales" sociales pueden actuar por diferentes vías sensoriales (táctiles, auditivas olfativas), modulando procesos reproductivos específicos, como la ovulación. En el segundo caso la señales sociales (principalmente la rivalidad social) pueden originar un estado de estrés capaz de alterar su actividad reproductiva.

Un ejemplo es el llamado "efecto macho", el cual consiste en introducir machos a grupos de hembras anéstricas previamente aisladas de los mismos, para estimular el inicio de la actividad ovárica (Knight *et al.*, 1978). También se ha demostrado que la presencia de hembras en estro (efecto hembra) puede estimular el inicio de la actividad ovárica en ovejas en anestro (Zarco *et al.*, 1995).

En los animales domésticos, las prácticas de crianza y manejo a menudo originan respuestas estresoras que pueden afectar eventos reproductivos, como son el inicio de la pubertad, el reinicio de la actividad ovárica posparto, la expresión del estro, la relación entre el inicio del estro y la ovulación, la tasa de ovulación y la sobrevivencia embrionaria (Clarke y Tilbrook, 1992).

La información sobre los efectos de agentes estresores es contradictoria; Rhind *et al.* (1984) señalan que el transporte o el hostigamiento con perros no afectan el pico preovulatorio de LH o la tasa ovulatoria de ovejas. Branden y Moule (1964) observaron que la aplicación de diferentes estresores (transporte, restricción, presencia de perros) a ovejas anéstricas, a menudo estimulaba la ovulación, aunque esta no se acompañaba por el estro. Por otra parte, Doney *et al.* (1976) encontraron que la mortalidad embrionaria fue mayor en aquellas ovejas sometidas al transporte, al transferirlas a un lugar nuevo, o bien cuando eran hostigadas por perros.

En resumen, la principal "señal externa" que utiliza la oveja para definir el inicio o cese de su estación reproductiva es el fotoperiodo, pero no se descarta la posibilidad de que utilice otras señales (temperatura, precipitación pluvial, disponibilidad de alimentos o factores sociales), la importancia de cada una dependerá de la raza y la latitud donde habitan (Lindsay, 1991).

2.3 REGULACIÓN FOTONEUROENDOCRINA DE LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA DE LA OVEJA

2.3.1 Los esteroides ováricos como reguladores internos de la actividad reproductiva

2.3.1.1 Actividad del eje hipotálamo-hipófisis-ovario

En el hipotálamo se localizan diversos núcleos donde se lleva a cabo la síntesis y liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), decapeptido que estimula la liberación tanto de la hormona folículo estimulante (FSH) como de la hormona luteinizante (LH) por la adenohipófisis (Karsch, 1984).

Estos núcleos hipotalámicos son responsables de recibir, procesar y responder a las diferentes "señales" ambientales externas e internas, a través de la secreción de GnRH (Karsch, 1984). Levine *et al.* (1982) demostraron que la liberación de GnRH se realiza en forma pulsátil, y que a la vez cada pulso de GnRH origina una descarga pulsátil de LH; los núcleos hipotalámicos responsables de este tipo de secreción integran el llamado "centro generador de pulsos de GnRH".

En la actualidad se conoce que la secreción pulsátil de LH se modifica durante el ciclo estral de la oveja (Karsch, 1984). En la fase folicular existe un aumento progresivo en la frecuencia de secreción LH, el cual se inicia con la caída abrupta de la progesterona después de la luteolisis, ya que durante la fase lútea la progesterona inhibe potentemente la secreción de LH (Baird y Scaramuzzi, 1976). Este cambio en la secreción de LH, permite la maduración folicular final y un incremento sostenido en la secreción de estradiol, el cual es necesario para desencadenar la liberación preovulatoria de LH, y posteriormente la ovulación (McNatty *et al.*, 1981; McNeilly *et al.*, 1982).

La importancia del incremento de la frecuencia de los pulsos de LH durante el ciclo estral ha sido demostrada en diversos experimentos en los cuales se aplica en forma pulsátil LH (McNeilly *et al.*, 1982) o GnRH (McLeod *et al.*, 1982) a ovejas anovulatorias (prepúberes o en anestro estacional). En ambos casos se produce un cambio en el patrón de secreción de LH, de uno propio de la fase lútea del ciclo estral, a otro característico de la fase folicular capaz de desencadenar la serie de eventos preovulatorios y la ovulación.

Goodman y Karsch (1980) indican que los esteroides ováricos son los factores primarios que regulan la secreción de GnRH y LH por el centro generador de pulsos. Estos autores demostraron que la ovariectomía durante la fase lútea ocasiona un incremento marcado en la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH; y que la administración de progesterona a niveles propios de la fase lútea prevenía el incremento en la frecuencia de los pulsos de LH, aunque no disminuía la amplitud de los mismos. En contraste, la aplicación de niveles fisiológicos de estradiol en esos animales ocasionaba una marcada reducción en la amplitud de los pulsos de LH sin disminuir su frecuencia (Goodman y Karsch, 1980).

Estos hallazgos permiten inferir que durante el ciclo estral la frecuencia de los pulsos de LH es modulada principalmente por la progesterona, la cual actúa a nivel del hipotálamo prolongando el intervalo entre las descargas de GnRH. Mientras que la amplitud de los pulsos de LH durante la fase lútea estaría limitada por el estradiol, que actúa, al menos en parte, sobre la hipófisis, disminuyendo la respuesta a cada pulso de GnRH (Goodman y Karsch, 1980). Además, Karsch *et al.* (1983) encontraron que durante la fase folicular el estradiol contribuye a acelerar la frecuencia de los pulsos de LH.

2.3.1.2 Eventos endocrinos que regulan el momento de la ovulación en la oveja

Karsch (1984) propuso el siguiente modelo para explicar cómo los esteroides ováricos regulan el momento de la ovulación. Los niveles elevados de progesterona durante la fase lútea causan una baja frecuencia en los pulsos de GnRH y LH. Al mismo tiempo, los niveles basales de estradiol permiten limitar la amplitud de los pulsos de LH. Por lo tanto, la progesterona presente durante la fase lútea impide que la ovulación ocurra al limitar la frecuencia de secreción de LH. La actividad del generador de pulsos de GnRH se incrementa cuando cesa el bloqueo ocasionado por la progesterona, aumentando la frecuencia en los pulsos de GnRH y LH, sin embargo, la amplitud en los pulsos de LH se mantiene baja debido a la presencia continua de estradiol. La consecuencia de una alta frecuencia y una baja amplitud en los pulsos de LH es una elevación sostenida de LH, necesaria para promover la maduración folicular final y un incremento sostenido de las concentraciones de estradiol, el cual inducirá la liberación preovulatoria de LH necesaria para desencadenar la ovulación (Karsch, 1984).

2.3.1.3 Eventos endocrinos durante el ciclo reproductivo anual de la oveja.

En la estación reproductiva la secreción pulsátil de LH varía de acuerdo con cada etapa del ciclo estral. En la fase lútea el número de pulsos de LH es bajo (un pulso cada 3 a 4 horas) debido a la acción inhibitoria de la progesterona (Goodman y Karsch, 1980). En la fase folicular cesa el bloqueo de la progesterona con la regresión del cuerpo lúteo, incrementándose la frecuencia de los pulsos de LH, lo que desencadena los eventos preovulatorios que finalizarán con la ovulación (McNeilly *et al.*, 1982). En consecuencia, la ovulación durante la estación reproductiva ocurrirá debido a un incremento en la actividad del generador de pulsos de GnRH.

En la época de anestro, la frecuencia en los pulsos de LH es menor (un pulso cada 8 a 12 horas) por lo que el estímulo gonadotrópico es insuficiente para desencadenar los eventos necesarios para que la ovulación ocurra (Karsch, 1984). Esta reducción en la frecuencia de secreción de LH ocurre en la época de anestro a pesar de que durante la misma no existen cuerpos lúteos ni niveles elevados de progesterona. Diversos estudios han demostrado que durante la época de anestro el estradiol, por sí solo, tiene la capacidad de inhibir la secreción pulsátil de LH (Legan *et al.*, 1977; Legan y Karsch, 1980). La capacidad del estradiol para inhibir la secreción de LH es baja durante la época reproductiva, pero se incrementa a medida que se aproxima la época de anestro, hasta que adquiere la capacidad de inhibir casi totalmente la secreción de LH durante el anestro. Posteriormente, durante la transición a la época reproductiva vuelve a disminuir el poder inhibitorio del estradiol, permitiendo la restauración de la actividad ovárica en el animal (Goodman y Karsch, 1980; Goodman *et al.*, 1982). Así, la estacionalidad reproductiva en la oveja es controlada por cambios en la sensibilidad hipotalámica a la retroalimentación negativa ejercida por el estradiol (Legan *et al.*, 1977).

Además de los factores internos (esteroides ováricos) que regulan la secreción de LH, esta también es susceptible de ser modificada por factores ambientales externos (fotoperiodo, presencia del macho), lo que significa que dichos factores gobiernan la actividad ovárica a través de su influencia sobre la secreción de LH (Legan y Karsch, 1979).

2.3.2 El fotoperiodo como regulador externo de la actividad reproductiva

2.3.2.1 Efecto del fotoperiodo sobre la actividad reproductiva estacional

Sadleir (1972) señala que desde los años treinta se observó que el ciclo reproductivo de las ovejas se desfasaba e invertía cuando se cambiaban de un hemisferio a otro. Yeates (1949) demostró que la inversión del ciclo luminoso anual ocasionaba que la actividad sexual de la oveja también se invirtiera. Desde entonces se acepta que el fotoperiodo es el principal factor externo que regula la actividad reproductiva estacional de la oveja.

Posteriormente, se observó que la disminución de la longitud del día estimulaba el inicio de la actividad reproductiva (Ducker *et al.*, 1970), mientras que el incremento de la longitud del día la inhibía (Ducker y Bowman, 1970). De la misma manera, bajo condiciones de fotoperiodo artificial los días cortos inducen un periodo de actividad sexual, en tanto que los días largos inhiben dicha actividad (Legan y Karsch, 1980). Por esta razón, la oveja es clasificada como una especie de "días cortos" debido a que su periodo reproductivo inicia al final del verano cuando la longitud del día disminuye, y termina al final del invierno cuando se incrementa la longitud del día.

Sin embargo, esta "simetría anual" entre el ciclo reproductivo y el fotoperiodo es sumamente rara en vertebrados que poseen estacionalidad reproductiva, y la oveja no es la excepción (Robinson y Karsch, 1984). Al respecto, Robinson y Karsch (1984) observaron en ovejas Suffolk (localizadas a 42° de LN) que el inicio de su estación reproductiva ocurría cuando la longitud del día era 2.5 h mayor que cuando iniciaba su anestro. Los autores indican que esta falta de simetría entre los ciclos anuales del fotoperiodo y de la actividad reproductiva no se debe a que las ovejas inicien su anestro debido a que la longitud del día se incrementa, sino a que las mismas pierden su capacidad para responder al fotoperiodo prevaleciente (días cortos), es decir se vuelven fotorrefractarias.

A. Fotorrefractariedad

La fotorrefractariedad ha sido definida como la pérdida temporal de la capacidad de respuesta al fotoperiodo prevaleciente (Nicholls *et al.*, 1989). Diversos estudios han demostrado que la exposición continua a "días cortos" después del solsticio de invierno no prolonga más la actividad sexual de las ovejas, ni tampoco la exposición continua a "días largos" después del solsticio de verano prolonga más el periodo de inactividad sexual (Worthy y Haresign, 1983; Robinson y Karsch, 1984). Es decir, que el inicio o cese de la actividad sexual se produce no por limitantes de fotoperiodo, sino porque los animales se vuelven fotorrefractarios al mismo.

Karsch *et al.* (1986) señalan que la fotorrefractariedad es consecuencia de un déficit postpineal en el procesamiento del mensaje fotoperiódico debido a la pérdida en la

capacidad de respuesta a la melatonina, que ocasiona el cese de la actividad reproductiva bajo condiciones ambientales naturales, sin que exista un cambio o modificación del patrón circadiano de secreción de melatonina. Dichos estudios establecieron que el momento preciso para el inicio o cese de la actividad sexual de la oveja dependen de este fenómeno de fotorrefractoriedad, y que el fotoperiodo prevaleciente en el momento en que las ovejas cambian su estado reproductivo es de menor importancia.

Nicholls *et al.* (1989) estimaron que en condiciones de fotoperiodo natural el desarrollo y expresión de la fotorrefractoriedad requiere de aproximadamente 8 meses (30 a 32 semanas) en ovejas Welsh Mountain. Aunque en ovejas sometidas a cambios abruptos de fotoperiodo artificial (16 h luz por 8 h obscuridad y viceversa) solamente se requieren 18 semanas para obtener una respuesta (Malpaux *et al.*, 1988). Esto sugiere que los cambios repentinos de fotoperiodo permiten la expresión más rápida de este fenómeno de fotorrefractoriedad, que los cambios graduales que ocurren en condiciones naturales.

Nicholls *et al.* (1989) también demostraron que la duración de un fotoperiodo inductivo de la actividad ovárica afecta la duración de la siguiente estación reproductiva, aunque no afecta la duración del periodo refractario que inhibe la actividad sexual. Además demostraron que este periodo fotorrefractorio no es un fenómeno absoluto, sino que puede superarse al reducir nuevamente la longitud del día.

Malpaux *et al.* (1989) demostraron la importancia de los días largos como reguladores del inicio de la actividad sexual de ovejas Suffolk. Encontraron que el incremento en la duración del fotoperiodo que ocurre entre los solsticios de invierno y verano es necesario para que la época reproductiva pueda ocurrir en el otoño, y que el momento inicial de exposición a este incremento en el fotoperiodo provee una señal importante a la oveja para determinar el comienzo de su actividad sexual. Además, ellos confirmaron que el momento en que se inicia la estación reproductiva no depende de la disminución del fotoperiodo después del solsticio de verano.

Por lo tanto, bajo condiciones naturales el inicio de la estación reproductiva de la oveja no es una respuesta directa a la reducción en la longitud del día después del solsticio de verano. Por el contrario, el periodo reproductivo inicia espontáneamente en conjunción con una pérdida en la capacidad de respuesta a los efectos inhibitorios provocados por los días largos del verano. Es decir, que la "historia fotoperiódica" de la oveja es indispensable para que pueda responder a un determinado fotoperiodo. Así, un animal no responderá a los días cortos si antes no ha recibido un periodo de días largos suficientemente grande como para hacerse insensible a ellos (Worthy y Haresign, 1983; Robinson y Karsch, 1984; Malpaux *et al.*, 1989).

B. El fotoperiodo como sincronizador del ritmo reproductivo endógeno circanual

La tendencia de la oveja para mantenerse "oscilando" entre periodos de actividad sexual y de anestro, independientemente del fotoperiodo, ha sido ilustrada en diversos estudios. Así, ovejas con enucleación de ojos (Legan y Karsch, 1983), pinealectomizadas (Bittman *et al.*, 1983; Karsch *et al.*, 1986), o bajo condiciones constantes de fotoperiodo (Karsch *et al.*, 1989), son capaces de mantener una actividad reproductiva cíclica debido a la existencia de un ritmo endógeno circanual independiente del fotoperiodo. Sin embargo, con el tiempo las oscilaciones entre el periodo reproductivo y el de anestro tienden a desincronizarse del ciclo luminoso anual (Robinson y Karsch, 1988). En consecuencia, el ritmo reproductivo de la oveja, mas que estar siendo generado por cambios en la longitud del día, es sincronizado por dichos cambios.

Se han planteado varias hipótesis para explicar cómo la oveja utiliza el fotoperiodo para medir las variaciones diarias y anuales en la iluminación. Diversos estudios han demostrado que la oveja no necesita percibir constantemente la luz, porque posee un ciclo circadiano de fotosensibilidad que le permite registrar y responder a los estímulos luminosos sólo en ciertas horas del día (fases fotosensibles). Por lo tanto, la oveja no registra la longitud del día por el tiempo total de exposición a la luz, sino a través del registro de la iluminación en puntos especiales durante el día (Thimonier, 1981; Ortavant *et al.*, 1988).

Los experimentos sobre "interrupción de la noche" han permitido demostrar la existencia de este ciclo interno de fotosensibilidad en la oveja. En estos se aplica a las ovejas un periodo de 8 h de luz repartidos en dos fases; la primera con una duración de 7 h (el principio de esta fase es considerado como el alba), la segunda de 1 h (denominada "flash" o descarga repentina de luz), que es ofrecida a mayor o menor distancia del alba (Ravault y Ortavant, 1977). De esta forma, se ha podido demostrar que las ovejas que reciben el flash de luz 16 o 17 h después del alba sufren un cese de su actividad sexual igual que las ovejas sometidas a 16 h de luz continua (es decir un "día largo"). Por el contrario, cuando se cambia el flash de forma que ocurra entre 8 a 12 h después del alba la actividad sexual se reanuda. En el primer caso la oveja considera estar en días largos, y en el segundo caso en días cortos, lo que confirma que la longitud del día no es medida por la duración total de exposición a la luz. Desde el punto de vista práctico se puede controlar la reproducción ovina utilizando este ciclo interno de fotosensibilidad (Thimonier, 1981).

Aunado a lo anterior, también se han estudiado cuáles son los requerimientos de fotoperiodo para sincronizar el ritmo reproductivo a un periodo de 365 días. Observaciones de Robinson y Karsch (1988) sugirieron que no se requería el ciclo completo del fotoperiodo para ajustar el ritmo reproductivo anual, debido a que la oveja se vuelve insensible a la acción del fotoperiodo ambiental alrededor de los solsticios de verano e invierno. Woodfill *et al.* (1991) confirmaron que la oveja no requiere registrar todos los cambios anuales en la duración del día para sincronizar sus ritmos circanuales, especialmente en lo referente a la actividad neuroendocrina asociada con la reproducción. Estos autores probaron la efectividad del ciclo fotoperiodico anual (en las diferentes estaciones del año) para la sincronización de la actividad reproductiva anual, observando que dicho ritmo es sincronizado con mayor efectividad por las señales fotoperiodicas de los días largos percibidas alrededor del solsticio de verano, comprobando que la exposición a una señal fótica en una porción relativamente corta del año es efectiva para sincronizar su ritmo reproductivo (Woodfill *et al.*, 1994).

2.3.2.2 El fotoperiodo como regulador del centro generador de pulsos de GnRH

La actividad del "centro generador de pulsos de GnRH" es altamente susceptible de ser regulada por variables ambientales externas, además del control interno que ejercen los esteroides. El estímulo olfatorio y el luminoso son las variables externas que han recibido particular atención en la oveja. En relación al estímulo luminoso, se conoce que la longitud del día durante el año es capaz de regular la actividad anual del generador de pulsos (Karsch *et al.*, 1984). Al respecto se han descrito dos efectos del fotoperiodo; en ambos casos, la influencia de los esteroides ováricos se eliminó ovariectomizando a las ovejas:

A. Efecto directo del fotoperiodo

Goodman *et al.* (1982) monitorearon el patrón de secreción pulsátil de LH durante el ciclo reproductivo anual de ovejas ovariectomizadas (ovx) y en fotoperiodo natural. En verano la frecuencia de los pulsos de LH fue baja (3 pulsos en un periodo de 3 horas) y de mayor amplitud, en contraste, en el invierno el número de pulsos fue mayor (6 pulsos en un periodo de 3 horas) aunque de menor amplitud. En otros estudios se ha demostrado que dichos cambios pueden ocurrir también en hembras ovariectomizadas sometidas a fotoperiodos artificiales (Karsch *et al.*, 1984). En ambos casos, se considera que dicho efecto es producido por acción directa de la luz sobre el generador de pulsos del hipotálamo.

B. Retroalimentación negativa de esteroides

Un segundo efecto del fotoperiodo se observa en ovejas ovariectomizadas y tratadas con implantes subcutáneos capaces de liberar estradiol en forma constante, para mantener niveles basales del mismo (Goodman *et al.*, 1982; Martin *et al.*, 1983b). Goodman *et al.* (1982) observaron que durante el anestro dicho tratamiento provocaba una ausencia de pulsos de LH (durante 8 horas de monitoreo) a pesar de que las ovejas mantuvieron una alta capacidad de respuesta al GnRH (administrado en dosis reducidas por vía exógena), mientras que en la estación reproductiva se observó una alta frecuencia en los pulsos de LH, lo que indica que dicho esteroide pierde su capacidad para deprimir la actividad del generador de pulsos en la época reproductiva.

Estudios adicionales han demostrado que esta variación en la capacidad del estradiol para estimular o suprimir la actividad del generador de pulsos puede reproducirse aún en ovejas sometidas a fotoperiodos artificiales controlados (Karsch *et al.*, 1984). Estos hallazgos permiten concluir que el efecto inhibitorio del fotoperiodo durante el anestro se debe en parte al aumento de la capacidad del estradiol para deprimir la frecuencia de los pulsos de LH a nivel hipotalámico, mientras que el efecto estimulador del fotoperiodo consiste en la pérdida de dicha capacidad durante la estación reproductiva.

En consecuencia, el cambio en la efectividad del estradiol para suprimir la actividad del generador de pulsos constituye la base para comprender los cambios estacionales que ocurren para regular la secreción de gonadotropinas (Legan *et al.*, 1977; Martin *et al.*, 1983b).

Los hallazgos anteriormente expuestos han permitido plantear el siguiente modelo para explicar el efecto del fotoperiodo sobre la actividad ovárica estacional de la oveja (Karsch *et al.*, 1984): En la estación reproductiva, los días cortos estimulan (acción inductora) la actividad del generador de pulsos, incrementándose la frecuencia en los pulsos de GnRH y LH necesarios para desencadenar los eventos preovulatorios. La ovulación ocurrirá 3 a 4 días después de la luteolisis (Karsch, 1984). Durante el anestro estacional, los días largos inhiben (acción supresora) la actividad del generador de pulsos, volviéndose altamente sensible al efecto inhibitor del estradiol circulante, lo que resulta en una disminución drástica en las descargas de GnRH y en una baja frecuencia en los pulsos de LH, insuficiente para desencadenar los eventos preovulatorios que conducen a la ovulación (Karsch *et al.*, 1984).

Por lo tanto, la transición entre la estación reproductiva y el anestro o viceversa, es consecuencia directa de cambios en la frecuencia de liberación de LH determinados por el centro generador de pulsos de GnRH/LH. Este modelo es similar al planteado para explicar el control de la ovulación, la principal diferencia radica en que la progesterona determina el tiempo de la ovulación durante el ciclo estral, mientras que el estradiol

establecerá el inicio o cese de la actividad reproductiva anual, en función a los cambios en la sensibilidad del generador de pulsos al estradiol (Karsch *et al.*, 1984).

2.3.2.3 Mecanismo fotoneuroendocrino que regula la estacionalidad reproductiva de la oveja

A. Transmisión del fotoperiodo vía fotorreceptor a glándula pineal

En los roedores, el estímulo luminoso es transmitido al hipotálamo de la siguiente forma; la luz activa los fotorreceptores de la retina, y la señal es transmitida vía tracto monosináptico al núcleo supraquiasmático del hipotálamo. A partir de dicho núcleo, la señal fótica es retransmitida al núcleo paraventricular, eventualmente al ganglio cervical superior y después a la glándula pineal (Cruz, 1993). La pineal convierte la señal nerviosa en una señal endocrina, produciendo y liberando melatonina. La melatonina permite modular la actividad del eje reproductivo en respuesta a las variaciones estacionales del fotoperiodo (Lincoln, 1992).

a. Localización del fotorreceptor

La relación entre el fotoperiodo y la glándula pineal se establece por la existencia de una vía neural, a lo largo de la cual viajan los estímulos desencadenados por la luz desde los fotorreceptores retinianos hasta la glándula pineal. Aunque existen vertebrados en los cuales la luz penetra a través del cráneo e incide sobre los fotorreceptores extrarretinianos localizados en la parte profunda del cerebro (Follet, 1978).

Legan y Karsch (1983) demostraron que la oveja requiere principalmente de sus fotorreceptores retinianos para captar el estímulo luminoso que le permitirá regular su ciclo reproductivo anual. Aunque la oveja también puede recibir información indirecta del fotoperiodo, vía señales olfatorias generadas por la presencia del macho (Martin *et al.*, 1983a). Además, una oveja privada del fotoperiodo o de la presencia del macho es capaz de seguir manifestando actividad reproductiva estacional; Legan y Karsch (1983) señalan que ovejas a las cuales se les provoca ceguera son capaces de seguir presentando estacionalidad reproductiva en las épocas acostumbradas del año, sugiriendo que podría deberse a la existencia de un ritmo endógeno circanual que normalmente está sincronizado con la luz, y que "correría libremente" en su ausencia.

b. Tracto monosináptico retino-hipotalámico

En la oveja existe una vía monosináptica denominada tracto retino-hipotalámico que une la retina con el núcleo supraquiasmático del hipotálamo (Legan y Winans, 1981). El núcleo supraquiasmático ha sido descrito como un reloj biológico que controla los ritmos circadianos endógenos, y que permite regular la estacionalidad reproductiva de diversas especies. Existe evidencia que la denervación de esta área altera el ciclo reproductivo anual en la oveja (Pau *et al.*, 1982). Se desconoce si la neuronas del núcleo supraquiasmático de la oveja se proyectan al núcleo paraventricular, y de aquí se transmita la información al ganglio cervical superior como sucede en el hamster (Cruz, 1993). Aunque se conoce que la glándula pineal de la oveja si recibe la señal fótica vía ganglio cervical superior (Lincoln, 1979).

B. Glándula pineal y melatonina

Existen dos características que hacen única a la glándula pineal, una es su capacidad para sintetizar melatonina en forma rítmica, en un periodo de 24 horas (ritmo circadiano) y en cantidad considerable. La otra, es su relación con las vías y estructuras nerviosas que participan en la transmisión de la información fótica. Ambas características le permiten mediar los cambios gonadales inducidos por el fotoperiodo en varias especies de mamíferos que poseen reproducción estacional (Cruz, 1993).

Al producir melatonina la glándula pineal convierte la información nerviosa relativa al ciclo de luz-obscuridad en una señal hormonal. Existen estudios que han demostrado que la enucleación de los ojos (Legan y Karsch, 1983), la destrucción del núcleo supraquiasmático (Jackson *et al.*, 1986) y la denervación o remoción de la glándula pineal (Lincoln, 1979; Bittman y Karsch, 1984), alteran la secreción de melatonina al bloquear la respuesta al fotoperiodo (Lincoln, 1992). Sin embargo, dichos tratamientos quirúrgicos no previenen la expresión de los ritmos endógenos circanuales o la respuesta a otro tipo de variables ambientales, como la temperatura, disponibilidad de alimentos o factores sociales, por lo que las ovejas pinealectomizadas pueden mostrar actividad reproductiva estacional a largo plazo (Lincoln *et al.*, 1989).

La melatonina es una indolamina cuya vía biosintética comprende primero la síntesis de serotonina, la cual depende de la disponibilidad del aminoácido esencial triptofano y de su captación desde la circulación hacia el pinealocito. La conversión de serotonina a melatonina está bajo el control de un mecanismo neural exclusivo (Cruz, 1993).

Rollag y Niswender (1976) fueron los primeros en determinar la existencia de un ritmo circadiano de secreción de melatonina en la oveja, el cual está íntimamente relacionado con el ciclo de luz-obscuridad, de tal forma, que durante la escotofase (periodo de obscuridad) los niveles de melatonina y de las enzimas implicadas en su síntesis están aumentadas, en tanto que los niveles de serotonina disminuyen; esta situación se revierte durante la fotofase (periodo de luz). Maeda y Lincoln (1990) probaron que los ciclos artificiales de luz-obscuridad alteran en forma similar la secreción de melatonina en la oveja.

Rollag *et al.* (1978) encontraron que la aplicación de luz artificial durante la escotofase suprime rápidamente la secreción de melatonina. En consecuencia, la luz es el agente inhibitor más activo que causa una supresión severa en la producción de melatonina. Dicha inhibición persiste durante todo el tiempo de exposición a la luz, y si esta se extiende por varios días se logra la ausencia continua de este ritmo. No se ha observado que factores tales como la alimentación, la temperatura o algún otro factor ambiental puedan influir en este ritmo circadiano (Cruz, 1993).

Por el contrario, se señala que cuando los animales son mantenidos en obscuridad total o son cegados, es decir, se les priva de aferencias fóticas, los ritmos diarios de serotonina, melatonina y enzimas involucradas en su síntesis, persisten con una longitud del periodo cercana a las 24 horas. Si el animal es mantenido en obscuridad por periodos más prolongados (varias semanas) el ritmo diario de melatonina sigue ocurriendo, pero ya no coincide con fase alguna del ciclo de luz-obscuridad (Cruz, 1993).

Rollag *et al.* (1978) encontraron que la cantidad de melatonina liberada varía entre las diferentes estaciones del año, asociada a los cambios anuales en el fotoperiodo. Ellos

señalan que la duración del periodo de secreción de melatonina es el parámetro más importante que permite codificar la longitud del día, y percibir los cambios anuales en el fotoperiodo. De esta forma, los niveles elevados de melatonina durante la noche son un índice directo de la duración del periodo de oscuridad, ya sea en forma natural o artificial. Aunque lo más importante del ciclo de luz-oscuridad es el tiempo durante el cual los niveles de melatonina permanecen elevados, y no la cantidad máxima de melatonina que se alcanza durante la escotofase.

C. Funciones de la melatonina

En la oveja, los cambios en el fotoperiodo permiten poner a tiempo los ciclos estacionales de diferentes eventos biológicos, además del ciclo reproductivo anual. Estos ciclos incluyen el de crecimiento y muda de pelo, el crecimiento y depósito de grasa corporal, y la producción láctea (Lincoln, 1992). Esta diversidad de cambios pueden ser manipulados con una apropiada administración de melatonina, es decir, que los cambios en el fotoperiodo son mediados a través de la inducción de cambios en la secreción de melatonina por la glándula pineal (Lincoln, 1992).

La evidencia experimental es consistente con el hecho de que la melatonina afecta la actividad secretora de diferentes tipos celulares de la adenohipófisis. Por ejemplo, la administración de melatonina a carneros altera la secreción de LH y FSH por los gonadotrópos, modificando la actividad de las gónadas (Lincoln y Ebling, 1985). La melatonina puede afectar la secreción de prolactina por los lactotrópos, lo cual está ligado al ciclo de crecimiento y muda de pelo (Lincoln y Ebling, 1985). La melatonina también influye en la secreción de β endorfinas a partir de los cortitropos o melanotrópos, las cuales han sido asociadas con la regulación del ciclo estacional del peso corporal y engorda (Lincoln y Ssewanyana, 1989).

En relación a la función que la melatonina desempeña como mediadora entre el fotoperiodo y la actividad reproductiva estacional de la oveja, Karsch *et al.* (1984) señalan que quizá la melatonina actúe modificando la sensibilidad del hipotálamo a la acción del estradiol. Esto implicaría una acción tanto inductiva como supresora de la actividad ovárica, según la longitud de los días. La interrogante de cómo la melatonina pudiera

mediar respuestas tan contrarias originó la realización de dos tipos de experimentos; el primero para encontrar cómo la melatonina pudiera tener un efecto inductivo de la actividad ovárica por acción de los días cortos. El segundo para determinar si la melatonina podría reestablecer el efecto supresivo de los días largos.

a. La melatonina inductora de la actividad reproductiva

Karsch *et al.* (1984) demostraron que la melatonina desempeña un papel inductor de la actividad ovárica en ovejas con estacionalidad reproductiva. Ovejas ovariectomizadas (ovx) y tratadas con implantes subcutáneos que contenían estradiol fueron pinealectomizadas a la mitad de su estación reproductiva. Aproximadamente un mes antes de iniciar su época de anestro, a las ovejas del grupo tratado se les administró melatonina en un patrón similar al que ocurre durante los días largos, mientras que los animales del grupo testigo no recibieron melatonina. Además, ambos grupos estuvieron expuestos a un fotoperiodo largo (16 h de luz por 8 h de oscuridad) por 90 días; observando que los niveles de LH cayeron abruptamente a niveles no detectables en las ovejas de los dos grupos.

Posteriormente, en ambos grupos se aplicó un fotoperiodo corto (16 h de oscuridad por 8 h de luz) durante 90 días, y las ovejas del grupo tratado recibieron melatonina en un patrón característico de días cortos. Los niveles de LH permanecieron indetectables en el grupo testigo (comprobando que la pinealectomía abolió la actividad reproductiva que desencadenan los días cortos), mientras que los niveles de LH se incrementaron notablemente en el grupo tratado. Estos hallazgos evidencian que la glándula pineal, a través de la melatonina, controla la actividad reproductiva desencadenada por los días cortos.

b. La melatonina supresora de la actividad reproductiva

El mismo grupo de investigadores demostró que la melatonina también participa en mediar la respuesta inhibitoria que tiene el fotoperiodo sobre la actividad ovárica. Empleando la misma metodología, excepto que la secuencia de los tratamientos se invirtió, es decir, a la mitad del anestro las ovejas ovariectomizadas de ambos grupos fueron pinealectomizadas y se les aplicó implantes con estradiol. El programa de luz inició

con un fotoperiodo corto y las ovejas del grupo tratado recibieron infusiones nocturnas de melatonina propias de días cortos. Posteriormente, se administró un fotoperiodo largo y las infusiones se adecuaron a un patrón propio de días largos. En este caso, sólo en las ovejas del grupo tratado ocurrió una caída marcada en los niveles de LH, concluyendo que la melatonina media el efecto supresivo que tienen los días largos sobre la actividad reproductiva, así como el efecto inductivo que tienen los días cortos.

D. Sitios de acción de la melatonina

La melatonina puede actuar a diferentes niveles del eje reproductivo, aunque se conoce que su principal actividad la ejerce en el sistema nervioso central (SNC). Al respecto, se conoce que el tratamiento con melatonina induce cambios significativos en la liberación de GnRH (Malpaux *et al.*, 1996). Viguié *et al.* (1995) observaron que ovejas ovariectomizadas, tratadas con estradiol y expuestas a la acción inhibitoria de los días largos presentaban una baja frecuencia de pulsos de GnRH y LH (un pulso cada 6 horas), la posterior inserción de un implante con melatonina incrementó marcadamente la frecuencia de pulsos de GnRH y LH (10 pulsos cada 6 horas), efecto que se observó 40 a 50 días después de aplicado el implante. Karsch *et al.* (1984) señalan que las variaciones en la frecuencia de los pulsos de GnRH/LH son las responsables de las modificaciones en la actividad gonadal, que se observan con los cambios anuales en el fotoperiodo.

a. Localización de los receptores de melatonina

En la oveja se han realizado estudios para localizar los sitios de acción de la melatonina. Utilizando hormona marcada es posible identificar las áreas de afinidad, y en consecuencia detectar las células blanco de la melatonina. La *pars tuberalis* (PT) de la adenohipófisis es un sitio donde se detecta consistentemente una alta concentración de melatonina marcada (Bittman y Weaver, 1990). Reppert *et al.* (1994) encontraron una alta densidad de sitios receptores para melatonina en la PT, lo que no ocurre con otros sitios de la adenohipófisis (Skinner y Robinson, 1995). Malpaux *et al.* (1996) señalan que el hecho de que la PT posea una gran cantidad de receptores a melatonina, y esté ubicada en una posición intermedia entre el hipotálamo y la hipófisis, ha originado que se le considere como el sitio de acción más relevante de la melatonina en su papel de reguladora de la actividad reproductiva.

En el SNC se han identificado otros sitios de unión específicos para la melatonina, en áreas del hipocampo y del *septum* lateral, aunque no comparables con los de PT (Bittman, 1993). En las áreas hipotalámicas involucradas en la síntesis y liberación de péptidos que regulan la actividad secretora de la adenohipófisis, se han encontrado pocos sitios de unión (Bittman y Weaver, 1990).

b. Determinación de los sitios de acción de la melatonina

La inserción de microimplantes con melatonina en diferentes partes del eje hipotálamo-hipófisis ha permitido identificar los sitios de acción de esta indolamina. Además, sus efectos se han comparado con el comportamiento de ovejas testigo, a las cuales se les administra melatonina en forma periférica, o bien con el de ovejas expuestas a la acción de días cortos.

Lincoln y Maeda (1992) colocaron microimplantes con melatonina en el hipotálamo mediobasal (HMB) o en el área preóptica (APO), de carneros expuestos a días largos. El tratamiento en el HMB resultó en un incremento prematuro en la secreción de LH y FSH y en la reactivación del eje reproductivo, pero esto no sucedió cuando se colocó en el APO. Además, los microimplantes colocados en el HMB también afectaron la secreción de prolactina y de β -endorfinas, alterando los ciclos de crecimiento y muda de pelo, así como el ciclo de peso corporal.

Malpaux *et al.* (1993) aplicaron el mismo tratamiento en ovejas (ovariectomizadas y con implantes conteniendo estradiol), encontrando que sólo los microimplantes colocados en el HMB pudieron producir un estímulo en la secreción de LH similar al que ocurre en animales bajo tratamiento de días cortos o con implantes subcutáneos a base de melatonina. Tampoco se descarta la posibilidad de que la melatonina liberada por estos implantes pudiera haberse difundido a la PT, área cercana al HMB y que contiene una alta concentración de receptores para dicha hormona (Lincoln, 1992; Malpaux *et al.*, 1996). Malpaux *et al.* (1995) encontraron que la melatonina liberada directamente sobre la PT no modifica la secreción de LH en ovejas, en contraste con los implantes colocados en HMB. Estos hallazgos proporcionan evidencia suficiente de que el sitio de acción de la

melatonina es HMB y no la PT, lugar donde se traducen los efectos de esta indolamina sobre el eje neuroendocrino que regula la reproducción (Malpaux *et al.*, 1996).

Es de particular interés conocer cómo el HMB, siendo un área con una baja cantidad de receptores a melatonina, sea su principal sitio de acción; Malpaux *et al.* (1996) sugieren que quizá existan diferentes subtipos de receptores de melatonina que pudieran originar respuestas de diferente intensidad, y quizá la PT sea responsable de mediar la respuesta de la melatonina sobre otro tipo de actividad fisiológica, por ejemplo los cambios estacionales en la secreción de prolactina (Malpaux *et al.*, 1995).

E. Mecanismos de acción de la melatonina

Se han propuesto dos modelos para explicar el mecanismo de acción de la melatonina. El primero señala que la melatonina ejerce su efecto primario sobre la red neural responsable de la secreción de catecolaminas y/o opiodes en el hipotálamo medio basal (Rasmussen, 1991; Lincoln y Maeda, 1992). Estas células modulan la actividad neurosecretora de las neuronas del hipotálamo que tienen terminales en la eminencia media (EM), las cuales secretan sus productos directamente en el sistema portal hipotalámico-hipofisario para regular la actividad de los diferentes tipos celulares de la adenohipófisis. Por ejemplo, la melatonina puede afectar la liberación de catecolaminas y/o opiodes peptídicos en el hipotálamo, para regular la secreción pulsátil de GnRH que a su vez afecta la liberación de LH y FSH, hormonas que regularán la actividad gonadal (Rasmussen, 1991; Lincoln y Maeda, 1992). Havern *et al.* (1990) encontraron que los sistemas dopaminérgicos inhiben la secreción de GnRH/LH y pudieran desempeñar un papel en la supresión de la época reproductiva de la oveja, actuando en el HMB. Lincoln y Ssewanyana (1989) señalan que los cambios en la actividad de los sistemas opioenergicos están asociados a la regulación de la secreción pulsátil de GnRH/LH, los cuales se consideran parte del mecanismo fisiológico que media los efectos del fotoperiodo sobre el eje reproductivo.

El segundo modelo plantea que la acción primaria de la melatonina es sobre la *pars tuberalis* de la hipófisis. Morgan y Williams (1989) señalan que la PT produce un factor(es) desconocido en respuesta a la melatonina, que afecta la función secretora de la

adenohipófisis. Este factor pudiera actuar en la vecindad de la eminencia media o en otros sitios del SNC, que influyen sobre el control hipotalámico de la glándula pituitaria, o puede actuar localmente sobre las células de esta glándula. Lincoln (1992) indican que la β -endorfina se encuentra en la PT en una concentración elevada, y que podría ser uno de los factores que ejerciera un efecto marcado sobre el SNC.

Aunque la melatonina finalmente modifica la secreción de GnRH, una acción directa sobre sus células productoras parece improbable por tres razones: 1a. La distribución de las neuronas liberadoras de GnRH no coincide con los sitios de acción identificados para la melatonina. 2a. La respuesta tan prolongada entre la aplicación de la melatonina y su respuesta en términos de liberación de GnRH/LH sugiere un mecanismo de regulación complejo. 3a. Posiblemente la más importante, es que varios neurotransmisores han sido implicados en dicha regulación (Malpoux *et al.*, 1996).

CAPÍTULO III. EFECTOS DEL FOTOPERIODO ARTIFICIAL SOBRE LA ACTIVIDAD OVÁRICA DE LA OVEJA PELIBUEY

3.1 Resumen

El objetivo del presente estudio fue comparar la actividad ovárica de la oveja Pelibuey bajo condiciones de fotoperiodo natural (19° 13' latitud norte) y en condiciones de fotoperiodo artificial alterno, el cual consistió en aplicar durante dos años periodos de 90 días de exposición a fotoperiodos largos (16 h luz por 8 h de oscuridad, "día largo"), seguidos por la exposición a fotoperiodos cortos (8 h luz por 16 h oscuridad, "día corto"). Los fotoperiodos largos se aplicaron durante el primero, tercero, sexto y octavo trimestres, y los fotoperiodos cortos en el segundo, cuarto, quinto y séptimo trimestres. Se utilizaron 14 ovejas de la raza Pelibuey con una edad y peso promedio de 3 años y 36 kg respectivamente, los animales se mantuvieron en un plano nutricional constante durante el tiempo de estudio. La mitad de las ovejas permanecieron en confinamiento expuestas al fotoperiodo natural (grupo testigo) y las restantes fueron sometidas al fotoperiodo artificial alterno (grupo tratado), para lo cual se empleó una cámara de luz controlada provista con lámparas en cantidad suficiente para proveer una iluminación de 350 lux de intensidad. La actividad ovárica se determinó mediante la cuantificación de progesterona plasmática en muestras de sangre obtenidas cada cuarto día. Se consideró que la ovulación había ocurrido cuando al menos dos muestras consecutivas tuvieron valores ≥ 1 ng/ml, y que una oveja se encontraba en anestro cuando los niveles de progesterona se mantuvieron basales (<1 ng/ml) durante siete o más muestreos consecutivos. Adicionalmente se cuantificaron las concentraciones plasmáticas de cortisol, para verificar que el manejo a que estuvieron expuestas las ovejas del grupo tratado no originara un estado de estrés constante que interfiriera con su actividad reproductiva. Para tal fin, se tomaron muestras sanguíneas cada quince días durante el primer año de estudio. La progesterona y el cortisol se cuantificaron por medio de radioinmunoanálisis en fase sólida. Las ovejas mantenidas en fotoperiodo natural presentaron un sólo periodo de anestro por año, el cual se presentó entre los meses de enero a julio. En contraste, las ovejas mantenidas en fotoperiodo artificial alterno manifestaron dos periodos de inactividad ovárica por año. El promedio de días en anestro por año en el grupo testigo (86.3 ± 15.4 días; promedio \pm error estándar) fue

significativamente menor al del grupo tratado (153.8 ± 12.4 días), ($P < 0.05$). En general, se observó que la aplicación de un fotoperiodo largo inducía el cese de la actividad ovárica en un tiempo promedio de 65.6 ± 7.2 días, mientras que la aplicación de un fotoperiodo corto estimulaba el reinicio de la actividad ovárica a los 59.7 ± 3.3 días. Por otra parte, los niveles promedio de cortisol plasmático se ubicaron entre los 5.6 a 16.1 ng/ml, dentro del rango considerado como normal (5 a 20 ng/ml). Los resultados demuestran que el fotoperiodo es capaz de afectar en forma directa la actividad ovárica de la oveja Pelibuey.

3.2 Introducción

En los ovinos existen razas que presentan patrones estacionales para su reproducción, tal es el caso de aquellas razas que tuvieron su origen en latitudes altas ($\geq 35^\circ$ latitud norte o sur), (Lindsay, 1991; Phillips, 1992). Al respecto, se conoce que el ciclo luminoso anual (fotoperiodo) es la principal variable ambiental que sincroniza la actividad reproductiva estacional en este tipo de animales (Lindsay, 1991). En contraste, se considera que las razas de origen cercano al ecuador, como la oveja de pelo denominada en México oveja Pelibuey o Tabasco, no presentan estacionalidad reproductiva, siendo capaces de reproducirse en cualquier época del año (Castillo *et al.*, 1972; Valencia *et al.*, 1975; González *et al.*, 1992a; Cruz *et al.*, 1994). Aunque, en diversos estudios han encontrado que la oveja Pelibuey presenta anualmente “un periodo de actividad estral reducida” (Valencia *et al.*, 1981; Heredia *et al.*, 1991b; González *et al.*, 1992a).

Se ha sugerido que la reducción de la actividad estral en ovejas Pelibuey no obedece a una estacionalidad real, sino que es una respuesta a deficiencias nutricionales (González *et al.*, 1991). Sin embargo, en la actualidad se cuenta con evidencia que indica que posiblemente si existen efectos estacionales sobre la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey que son independientes de la nutrición. Heredia *et al.* (1991b) encontraron que ovejas Pelibuey mantenidas a lo largo del año en un plano nutricional adecuado disminuyeron su actividad estral desde finales de enero hasta fines de mayo, periodo durante el cual la manifestación del estro llegó a su punto más bajo (15%), mientras que en el periodo de agosto a diciembre la actividad estral alcanzó su valor más alto (90%). Evidencia adicional indica que otros eventos reproductivos como el inicio de la pubertad

(Rodríguez, 1991; Balcázar, 1992) y el reinicio de la actividad ovárica posparto (Valencia *et al.*, 1981; Cortés, 1993) pueden modificarse por efecto de la estación del año aún cuando los animales se mantengan en el mismo plano de nutrición durante todo el año.

El hecho de que las diferencias estacionales en el comportamiento reproductivo se presenten a pesar de que se asegure una buena nutrición durante el año, sugiere que se trata de una verdadera estacionalidad reproductiva regida por el fotoperiodo, y no de una simple respuesta a una mayor o menor disponibilidad de alimento. Sin embargo, aún no existen estudios en los que se haya evaluado directamente si el fotoperiodo es capaz de afectar la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey. El esclarecimiento de dicha situación es indispensable para establecer las medidas más adecuadas para manipular su reproducción (sistemas de manejo hormonal o de bioestimulación), ya que estas dependerán de si la estacionalidad de la oveja es dependiente o no del fotoperiodo.

En las ovejas productoras de lana se han utilizado dos metodologías para estudiar el efecto del fotoperiodo sobre la actividad reproductiva. La primera consiste en someter a las ovejas en estudio a un régimen de luz artificial opuesto al que naturalmente está ocurriendo (fotoperiodo inverso). La segunda consiste en la aplicación alterna (fotoperiodo alterno) de un "fotoperiodo largo" (16 h de luz por 8 h de oscuridad, "día largo") durante 90 días, seguido por la exposición a un "fotoperiodo corto" (16 h de oscuridad por 8 h de luz, "día corto"), durante otros 90 días, repitiéndose esta alternancia varias veces con el objeto de inducir la manifestación de varios periodos de actividad ovárica y varios periodos de anestro en un solo año. En ambos casos, la alteración de los patrones de actividad ovárica en respuesta al fotoperiodo artificial es considerada como evidencia de que la estacionalidad de la especie es controlada por el fotoperiodo (Yeates, 1949; Thwaites, 1965; Wodzicka-Tomaszewska *et al.*, 1967; Legan y Karsch, 1980).

En caso de que la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey esté regida por el fotoperiodo, la exposición a un fotoperiodo artificial alterno debe producir cambios en la actividad ovárica, similares a los que se observan en ovejas productoras de lana. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar a través de las determinaciones de

progesterona la actividad ovárica de ovejas Pelibuey sometidas durante dos años a un régimen alterno de fotoperiodos largos y cortos.

3.3 Material y métodos

3.3.1 Localización

El presente trabajo se realizó en el Centro de Enseñanza Práctica, Investigación y Extensión en Rumiantes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, localizado en la delegación Tlalpan, en el Distrito Federal. Su localización por coordena geográfica es 19° 13' de latitud norte y 99° 8' de longitud oeste, a una altitud de 2800 msnm. El clima de la región es del tipo C(W) b(ij), es decir semifrío-semihúmedo con lluvias en verano, con precipitación pluvial anual en un rango de 800 a 1200 mm y una temperatura media anual de 10°C (García, 1981).

3.3.2 Animales y alimentación

Se utilizaron 14 ovejas de la raza Pelibuey con edad promedio de 3 años y peso vivo promedio de 36 kg al inicio del estudio. El sistema de alimentación estuvo compuesto por heno de avena a voluntad, ensilaje de maíz a razón de 1 kg/animal/día, alimento concentrado a base de sorgo (300 g/animal/día), agua y sales minerales *ad libitum*. El peso de las ovejas se determinó cada semana.

3.3.3 Diseño experimental

Los animales se dividieron aleatoriamente en dos grupos: Grupo testigo; las ovejas de este grupo (n=7) permanecieron en corrales abiertos, expuestas al fotoperiodo natural durante los dos años de estudio (diciembre de 1994 a noviembre de 1996).

El grupo tratado (n=7) se sometió a un fotoperiodo artificial alterno, el cual consistió en la aplicación de un "fotoperiodo largo" (16 h de luz y 8 h de oscuridad, "día largo") durante 90 días, seguido por la exposición a un "fotoperiodo corto" (16 h de oscuridad y 8 h de luz, "día corto") durante los siguientes noventa días, repitiéndose esta alternancia en varias ocasiones. Los fotoperiodos largos se aplicaron durante el primero, tercero, sexto y octavo trimestres, mientras que en el segundo, cuarto, quinto y séptimo trimestres se aplicó un fotoperiodo corto.

Para la aplicación del calendario de luz artificial se utilizó una cámara de luz controlada consistente en un cuarto totalmente aislado de la luz natural que contó con iluminación artificial suministrada por lámparas de luz fluorescente, calculadas para suministrar una intensidad de iluminación de 350 lux a nivel de la cabeza del animal, conectadas a un interruptor automático de tiempo que permitía simular a voluntad días cortos o días largos. En los fotoperiodos largos la luz se encendía desde las 5:00 am hasta las 21:00 pm, mientras que en los fotoperiodos cortos la luz se administraba desde las 8:00 am hasta las 16:00 pm. Las ovejas se sacaban diariamente de la cámara de luz controlada de las 8:00 am hasta las 15:00 pm cuando retornaban a la misma, independientemente del tipo de fotoperiodo que estuvieran recibiendo, es decir que la cámara de luz permitió complementar el régimen luminoso natural cuando se aplicaba un fotoperiodo largo, ó aislar a las ovejas de la luz natural al aplicar un fotoperiodo corto.

3.3.4 Análisis de laboratorio

De todas las ovejas se obtuvieron muestras de sangre cada cuarto día, por punción de la vena yugular en tubos heparinizados que se mantuvieron en refrigeración (4°C) hasta el momento de su centrifugación (3500 rpm durante 10 min), que se realizó dentro de la primera hora después de obtenida la muestra. El plasma fue separado y mantenido en congelación (-20° C) hasta su posterior análisis. Para determinar los niveles plasmáticos de progesterona las muestras se procesaron por radioinmunoanálisis en fase sólida (Pulido *et al.*, 1991).

Se consideró que una oveja ovuló cuando las concentraciones de progesterona fueron iguales o mayores a 1 ng/ml en por lo menos dos muestreos consecutivos (Rodríguez, 1991). Se consideró que una oveja estaba en anestro cuando las concentraciones de progesterona permanecieron por debajo de 1 ng/ml durante siete o más muestreos consecutivos. Durante el tiempo de estudio no se utilizaron machos para determinar la actividad estral de las ovejas.

Adicionalmente se cuantificaron las concentraciones plasmáticas de cortisol, para verificar que el manejo a que estuvieron expuestas las ovejas del grupo tratado (confinamiento en la cámara de fotoperiodo, cambios abruptos de luz cada trimestre) no

originara un estado de estrés constante que interfiriera con su actividad reproductiva. Para tal fin, se seleccionaron al azar tres ovejas del grupo testigo (# 2, 4 y 10) y cinco ovejas del grupo tratado (# 16, 18, 20, 22 y 28), en las cuales se tomaron muestras sanguíneas cada quince días durante el primer año de estudio. El cortisol plasmático se cuantificó por medio de un radioinmunoanálisis en fase sólida (Berardinelli *et al.*, 1992).

3.3.5 Análisis de resultados

Los efectos de tratamiento, año y oveja sobre la duración del anestro se determinaron mediante el análisis univariado de mediciones repetidas, con un diseño de parcelas divididas empleando el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = M + T_i + O_j(T_i) + A_k + (T_iA_k) + E_{ijk}$$

donde;

Y_{ijk} = variable de respuesta (días en anestro)

M = Media general

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento (fotoperiodo natural o artificial)

$O_j(T_i)$ = Efecto de la j -ésima oveja dentro del i -ésimo tratamiento

A_k = Efecto del k -ésimo año

T_iA_k = Efecto de la interacción entre el i -ésimo tratamiento y el k -ésimo año

E_{ijk} = Error aleatorio.

El mismo análisis estadístico se empleó para determinar los efectos de estación del año, oveja y año de estudio sobre el número de ciclos ovulatorios, únicamente en las ovejas que estuvieron en fotoperiodo natural, utilizando el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = M + ES_i + O_j(ES_i) + A_k + (ES_iA_k) + E_{ijk}$$

donde;

Y_{ijk} = variable de respuesta (número de ciclos ovulatorios)

M = Media general

ES_i = Efecto de la i -ésima estación del año

$O_j(ES_i)$ = Efecto de la j-ésima oveja dentro de la i-ésima estación del año

A_k = Efecto del k-ésimo año

ES_iA_k = Efecto de la interacción entre la i-ésima estación del año y el k-ésimo año

E_{ijk} = Error aleatorio.

En las ovejas del grupo tratado el efecto del trimestre de aplicación del tratamiento sobre el número de ciclos ovulatorios se determinó por medio del análisis de varianza para un diseño en bloques aleatorios, utilizando el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = M + B_i + TR_j + E_{ij}$$

donde;

Y_{ij} = variable de respuesta (número de ciclos ovulatorios)

M = Media general

B_i = Efecto debido al i-ésimo bloque (oveja)

TR_j = Efecto del j-ésimo trimestre

E_{ij} = Error aleatorio.

También se utilizó el análisis de varianza para un diseño en bloques aleatorios, para determinar el efecto de la aplicación de un nuevo régimen de luz artificial sobre el tiempo requerido para el inicio o cese de la actividad ovárica, después la aplicación de un fotoperiodo corto (segundo, cuarto y séptimo trimestres) o un fotoperiodo largo (primero, tercero, sexto y octavo trimestres), se analizaron en forma independiente los trimestres de días cortos y de días largos. Se empleó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = M + B_i + TR_j + E_{ij}$$

donde;

Y_{ij} = variable de respuesta (tiempo de respuesta para el inicio o cese de la actividad ovárica)

M = Media general

B_i = Efecto debido al i-ésimo bloque (oveja)

TR_j = Efecto de la j-ésimo trimestre (días cortos o días largos)

E_{ij} = Error aleatorio.

Se utilizó estadística descriptiva para estimar si los valores de cortisol plasmático se ubicaron dentro del rango considerado normal. Además se utilizó el análisis de varianza para un diseño completamente al azar para comparar los niveles de cortisol entre los fotoperiodos largos (primer y tercer trimestres) y los fotoperiodos cortos (segundo y cuarto trimestre) aplicando el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = M + T_i + E_{ij}$$

donde;

Y_{ij} = variable de respuesta (nivel de cortisol)

M = Media general

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento (fotoperiodo largo o corto)

E_{ij} = Error aleatorio.

3.4 Resultados

Al inicio de este estudio una oveja del grupo testigo murió. Durante el desarrollo del trabajo dos ovejas del grupo testigo (# 6 y 8) y dos del grupo tratado (# 24 y 26) quedaron gestantes, debido a que indebidamente se utilizaron para prácticas de reproducción. En consecuencia se perdió la información de estas ovejas a partir de su último ciclo ovulatorio hasta que reiniciaron su actividad ovárica después del parto.

En el cuadro 3.1 se muestra el peso promedio mensual de las ovejas del grupo testigo y tratado. Las ovejas de ambos grupos mantuvieron su peso corporal durante los dos años de estudio.

En las figuras 3.1 a 3.7 se muestran las concentraciones individuales de progesterona a lo largo del estudio, en general se observó que las ovejas expuestas al fotoperiodo natural tuvieron un solo periodo de anestro de duración variable, durante el invierno y la primavera, mientras que las ovejas mantenidas en fotoperiodo artificial respondieron a los cambios en el fotoperiodo con cambios en la actividad ovárica.

La actividad ovárica anual de cada grupo fue diferente (cuadro 3.2); las ovejas del grupo testigo en fotoperiodo natural, presentaron sólo un periodo de inactividad ovárica por año; en el primer año este se detectó entre los meses de enero a mayo, con una duración de 63.7 ± 18.8 días (promedio \pm error estándar). En el segundo año el anestro se manifestó entre los meses de febrero a julio, con una duración de 109.0 ± 20.5 días.

En contraste, las ovejas del grupo tratado con fotoperiodo artificial tuvieron dos periodos de inactividad ovárica por año. El primer año, las ovejas presentaron un primer periodo de anestro entre los meses de enero a mayo (85.5 ± 19.6 días) que correspondió a los dos meses de fotoperiodo largo y tres meses de fotoperiodo corto, y un segundo periodo entre los meses de agosto a noviembre (54.7 ± 8.2 días) correspondientes a un mes de fotoperiodo largo y tres de fotoperiodo corto, para un total anual de 140.2 ± 21.7 días de anestro. Para el segundo año, se detectó un primer periodo de inactividad ovárica entre los meses de marzo y agosto (123.7 ± 7.9 días) que abarcó un ciclo completo de fotoperiodo largo y casi la totalidad del fotoperiodo corto siguiente, y un segundo periodo en los meses de octubre a diciembre (43.7 ± 4.9 días) correspondientes a fotoperiodo largo, para un total anual de 167.5 ± 11.1 días de anestro.

El número de días en anestro varió significativamente por efecto del tratamiento (86.3 ± 15.4 días en el grupo mantenido en fotoperiodo natural y de 153.8 ± 12.4 días en el grupo mantenido en fotoperiodo artificial), y por efecto del año de (102.0 ± 19.6 días para el primer año y de 138.2 ± 15.4 días en el segundo año). No se encontraron diferencias estadísticas para la interacción tratamiento y año, ni tampoco para un posible efecto de oveja (anexo 3.1).

En ambos grupos se determinó el número de ciclos ovulatorios que presentaron las ovejas; en el grupo mantenido en fotoperiodo natural se comparó el número de ciclos ovulatorios que presentaron las ovejas en cada estación del año, encontrando un número significativamente menor de ciclos durante la primavera (2.62 ± 0.7 ciclos ovulatorios; promedio \pm error estándar) que en las restantes estaciones del año (verano 5.12 ± 0.12 ; otoño 4.87 ± 0.12 ; invierno 4.25 ± 0.45), ($P < 0.01$). También se detectaron diferencias significativas para el efecto oveja y la interacción entre estación y año ($P < 0.05$) (anexo

3.2). En el grupo tratado se encontró un efecto de trimestre y oveja sobre el número de ciclos ovulatorios (cuadro 3.3 y anexo 3.3).

También se estimó para el grupo tratado el tiempo promedio requerido para el inicio o cese de la actividad ovárica, a partir del inicio de un nuevo régimen de luz artificial ("días cortos" o "días largos"). En general, las ovejas respondieron a los cambios de fotoperiodo a los 63.1 ± 4.4 días, independientemente si el tratamiento consistió en la aplicación de días largos o cortos. Se observó que la aplicación de un fotoperiodo largo inducía el cese de la actividad ovárica en un tiempo promedio de 65.6 ± 7.2 días (cuadro 3.4), mientras que la aplicación de un fotoperiodo corto estimulaba el reinicio de la actividad ovárica a los 59.7 ± 3.3 días (cuadro 3.5).

El tiempo promedio de respuesta a un fotoperiodo corto fue similar en los tres trimestres evaluados (62.2 ± 6.5 , 54.7 ± 5.1 y 62.2 ± 6.4 días para el segundo, cuarto y séptimo trimestres respectivamente) (cuadro 3.5), observándose sólo un efecto significativo de bloque (oveja) (anexo 3.4b). En cambio, el tiempo de respuesta a un fotoperiodo largo varió entre trimestres (58.7 ± 13.8 , 100.0 ± 4.8 , 31.5 ± 2.5 y 72.2 ± 4.9 días para los trimestres primero, tercero, sexto y octavo respectivamente) ($P < 0.01$) (cuadro 3.4 y anexo 3.4a).

Los niveles promedio de cortisol plasmático se ubicaron en un rango de 5.6 a 16.1 ng/ml en todas las ovejas, independientemente del grupo a que pertenecían. En el cuadro 3.6 se muestran los niveles de cortisol en las ovejas del grupo testigo y tratado respectivamente. En general, la concentración media de cortisol durante los fotoperiodos largos fue de 9.72 ± 0.99 ng/ml (promedio \pm error estándar) y de 11.3 ± 1.03 ng/ml en los fotoperiodos cortos ($P > 0.05$).

3.5 Discusión

En este estudio se demostró que la aplicación de un calendario de luz artificial alterno (días largos y días cortos) provocó que las ovejas presentaran periodos de inactividad ovárica (anestro) desfasados de su patrón reproductivo natural, lo cual constituye una prueba incuestionable de que la oveja Pelibuey es capaz de responder al

fotoperiodo. Así, la aplicación de un fotoperiodo artificial alterno permitió que las ovejas del grupo tratado manifestaran dos periodos de actividad ovárica y dos de anestro cada año. Como resultado el número promedio de días en anestro fué significativamente mayor en las ovejas del grupo tratado (153.8 ± 12.4 días) que en las ovejas del grupo testigo (86.3 ± 15.4 días).

Algunos autores han sugerido que la estacionalidad reproductiva en la oveja Pelibuey puede deberse a diferencias en la disponibilidad de alimento a lo largo del año (González *et al.*, 1991; Cruz *et al.*, 1994). En el presente estudio, la mayoría de las ovejas mantenidas en fotoperiodo natural dejaron de ciclar durante la primavera de ambos años (figuras 3.1 a 3.3), a pesar de que los animales se mantuvieron en buenas condiciones corporales y con alimentación adecuada durante el tiempo de estudio. Y aunado a que en esta latitud ($19^{\circ} 13'$ LN) las variaciones anuales en el largo del día no exceden las 2.15 h, por lo que el número promedio de ciclos ovulatorios durante la primavera (2.62) fue menor a los que se presentaron en las otras estaciones del año.

Al respecto, Martínez *et al.* (1995) indican que ovejas Pelibuey en pastoreo presentaron su menor actividad ovárica durante la primavera, a pesar de que fue precisamente en dicha época cuando se registraron los mejores pesos y condiciones corporales de los animales, lo que sugiere que la disminución de la actividad ovárica está principalmente asociada a el fotoperiodo, y no a una mayor o menor disponibilidad de alimentos. Esto coincide con diversos estudios realizados en México, los que señalan que la oveja Pelibuey presenta anualmente un "periodo de actividad estral reducida" entre los meses de enero y mayo (Valencia *et al.*, 1981; Heredia *et al.*, 1991ab; González *et al.*, 1992a). Es evidente que la reducción de la actividad estral detectada en otros estudios es consecuencia de los cambios en la actividad ovárica, la cual fue posible detectar en el presente trabajo gracias al seguimiento continuo de los niveles plasmáticos de progesterona.

En el presente trabajo el periodo de inactividad ovárica en las hembras mantenidas en fotoperiodo natural tuvo una duración promedio de 86.3 ± 15.4 días, lo que representa un periodo de anestro corto (2.8 meses) si se compara con el que se presenta

en la mayoría de la razas de ovejas productoras de lana, como la Ile de France (Thimonier y Mauleon, 1969), Romanov y Solognote (Land *et al.*, 1973), Scottish Blackface, y Finnish Landrace (Wheeler y Land, 1977), en las cuales la época de anestro suele tener una duración superior a los cinco meses. Sin embargo, también existen razas productoras de lana que presentan anestros de corta duración, comparables a los encontrados en este estudio, tales como la Merino (González *et al.*, 1980), la Manchega Española (Saiz *et al.*, 1980), y la Tadmit (Ammar-Khodja y Brudieux, 1982). En México existe información limitada sobre la duración del anestro en diferentes razas ovinas. De Lucas *et al.* (1997) encontraron una marcada estacionalidad reproductiva en ovejas Corriedale, Suffolk y Romney Marsh las cuales no manifestaron actividad estral entre los meses de marzo a julio (19° 17'LN), mientras que ovejas Rambouillet y Criollas presentaron estros prácticamente durante todo el año.

La existencia de anestros tan breves en la oveja Pelibuey mantenida en fotoperiodo natural ocasiona que pueda reiniciar su actividad reproductiva aún antes del solsticio de verano, como ocurrió en el primer año de este estudio, situación contradictoria porque tradicionalmente la oveja ha sido considerada como especie de "días cortos" por su capacidad para reproducirse cuando la cantidad de horas luz disminuye (Hulet y Shelton, 1980; Levasseur y Thibault, 1980). Esta tendencia de las ovejas Pelibuey para comenzar a ciclar cuando los días son más largos es uno de los argumentos que se han utilizado para señalar que su estacionalidad no es controlada por el fotoperiodo. Sin embargo, en el presente estudio es evidente que la exposición a fotoperiodos largos provocó inicialmente una inhibición de la actividad ovárica. Es posible que después de unos meses de exposición al fotoperiodo largo se produzca un fenómeno de fotorrefractoriedad similar, pero más rápido, al que se ha descrito en ovejas Suffolk (Robinson *et al.*, 1985b; Malpoux *et al.*, 1989). Esto implicaría que en condiciones naturales la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey no se inicia por la exposición a un fotoperiodo corto, sino por una pérdida de sensibilidad al fotoperiodo largo, lo cual puede ocurrir aún antes del solsticio de verano. Una vez iniciado el anestro, el fotoperiodo corto sería necesario para mantener por tiempo suficiente la época de actividad reproductiva, ya que en el presente trabajo se demostró que el periodo de actividad ovárica fue más prolongado cuando las ovejas permanecieron durante seis meses consecutivos en

fotoperiodos cortos (151.7 ± 6.9 días; promedio \pm error estándar) que cuando solo permanecieron tres meses en días cortos (110 ± 9.9 días).

En relación al tiempo que necesitaron las ovejas expuestas a un fotoperiodo artificial para responder a los cambios de luz; Hulet y Shelton (1980) indican que se necesitan de 9 a 25 semanas para que un tratamiento con luz artificial tenga efecto; el intervalo medio a la respuesta en este estudio se ubica en el límite inferior del rango señalado (63.1 ± 4.4 días). En general se observó que la aplicación de un fotoperiodo corto estimulaba el inicio de la actividad ovárica en un tiempo promedio de 59.7 ± 3.3 días. Las ovejas estuvieron expuestas a fotoperiodos cortos en tres ocasiones, sin que hubiera diferencias estadísticas en el tiempo de respuesta. En cambio sí hubo diferencias significativas en el caso de la exposición a fotoperiodos largos, observándose que la respuesta al tratamiento fue más tardía cuando las ovejas solamente habían estado expuestas previamente a fotoperiodos cortos durante tres meses (100.0 ± 4.8 días en el tercer trimestre y de 72.2 ± 4.9 días en el octavo trimestre), comparado con la respuesta obtenida en el primer trimestre de estudio (58.7 ± 13.8 días), cuando las ovejas llevaban tiempo expuestas a un fotoperiodo natural decreciente, y con la respuesta obtenida en el sexto semestre (31.5 ± 2.5 días) cuando las ovejas habían sido mantenidas en un fotoperiodo artificial corto durante los seis meses anteriores. Esto podría indicar que también existe un fenómeno de fotorrefractoriedad hacia el fotoperiodo corto, pero podrían requerirse alrededor de seis meses de exposición para que esta refractoriedad se pueda expresar. En condiciones naturales esto permitiría que las ovejas después de haber estado expuestas al fotoperiodo decreciente durante seis meses (junio a diciembre), respondieran con relativa rapidez (uno o dos meses) a la exposición de un fotoperiodo creciente que se produce a partir del 22 de diciembre, por lo que dejarían de ciclar en enero o febrero, tal como ocurrió en algunas ovejas del presente estudio.

En ambos grupos la duración del periodo de inactividad ovárica varió marcadamente entre ovejas (rango de 18 a 189 días). Esto podría explicar por qué la oveja Pelibuey ha sido considerada carente de estacionalidad reproductiva, ya que la existencia en algunas ovejas de anestros tan cortos da una imagen de aparente actividad estral continua. Se detectaron dos ovejas (una de cada grupo) que tuvieron actividad

ovárica continua, aunque solamente durante uno de los dos años de estudio. En forma semejante, Saiz *et al.* (1980) encontraron en ovejas de la raza Manchega individuos que presentaron periodos reducidos de anestro (40 días) e incluso la existencia de ovejas con la capacidad para ciclar continuamente. Thimonier y Mauleon (1969) señalan que la duración de la época reproductiva es variable debido a un efecto de raza, pero también dentro de una raza existe variación individual, siendo posible encontrar individuos con periodos reducidos de anestro. Adicionalmente, Wheeler y Land (1977) indican que la estacionalidad reproductiva no es una condición de “todo o nada”, es decir, existe la posibilidad de encontrar individuos que presenten actividad estral y ovulatoria en cualquier época del año. Esta variabilidad podría facilitar la realización de programas de selección genética que permitiesen desarrollar una línea de ovejas Pelibuey que efectivamente tuvieran actividad reproductiva continua.

Por otra parte, se conoce que un estado de estrés crónico puede afectar adversamente la actividad reproductiva de las ovejas (Moberg, 1985). En este estudio las concentraciones promedio de cortisol plasmático se ubicaron dentro del rango considerado como normal (5 a 20 ng/ml; Dobson, 1983), en todas las ovejas. Tampoco se encontraron variaciones significativas en los niveles de cortisol durante los fotoperiodos cortos o largos, que indicara un estado de estrés, especialmente durante la exposición a días largos. Por lo tanto, se puede descartar que las condiciones de manejo a las que estuvieron expuestas las ovejas del grupo tratado originaran un estado de estrés crónico capaz de afectar la actividad ovulatoria. En consecuencia, los periodos de anestro detectados en este estudio son producto del estímulo luminoso aplicado.

En conclusión los resultados del presente estudio demuestran que la oveja Pelibuey tiene estacionalidad reproductiva real regida por el fotoperiodo, que dicha estacionalidad se manifiesta independientemente de la disponibilidad de alimentos, y que en condiciones naturales el fotoperiodo provoca periodos relativamente cortos de inactividad ovárica que se presentan entre enero y julio. Adicionalmente, los resultados sugieren la necesidad de estudiar los mecanismos de fotorrefractoriedad que parecen determinar las fechas de inicio y terminación de la actividad reproductiva en esta raza ovina.

Cuadro 3.1 Peso promedio mensual en ovejas Pelibuey sometidas a condiciones de fotoperiodo natural o artificial durante dos años.

Mes (Año)	Fotoperiodo natural Promedio \pm error estándar*	Fotoperiodo artificial Promedio \pm error estándar
Diciembre (1994)	38.64 \pm 1.1	34.58 \pm 1.13
Enero (1995)	40.20 \pm 1.02	36.35 \pm 1.23
Febrero	41.61 \pm 0.95	38.08 \pm 1.30
Marzo	43.17 \pm 0.95	38.49 \pm 1.28
Abril	44.35 \pm 0.94	40.76 \pm 1.16
Mayo	45.90 \pm 0.98	40.35 \pm 0.92
Junio	45.87 \pm 0.85	40.16 \pm 0.92
Julio	45.38 \pm 0.93	40.42 \pm 0.95
Agosto	46.31 \pm 0.93	41.07 \pm 0.91
Septiembre	46.97 \pm 0.96	41.44 \pm 0.90
Octubre	46.79 \pm 0.82	42.13 \pm 0.93
Noviembre	46.42 \pm 0.83	40.99 \pm 0.86
Diciembre	44.38 \pm 1.13	40.71 \pm 0.91
Enero (1996)	43.63 \pm 1.34	39.97 \pm 0.84
Febrero	43.55 \pm 1.47	40.24 \pm 0.86
Marzo	43.50 \pm 1.41	41.24 \pm 0.87
Abril	43.05 \pm 1.59	40.81 \pm 1.05
Mayo	42.10 \pm 1.68	40.70 \pm 1.22
Junio	40.93 \pm 1.54	40.81 \pm 1.17
Julio	40.30 \pm 1.36	40.24 \pm 1.12
Agosto	41.95 \pm 1.28	40.99 \pm 1.11
Septiembre	42.43 \pm 1.31	41.44 \pm 1.13
Octubre	43.12 \pm 1.15	42.46 \pm 1.12
Noviembre	41.67 \pm 1.27	41.74 \pm 0.90

* Los valores son promedio \pm error estándar expresados en kg.

Cuadro 3.2 Duración del anestro en ovejas Pelibuey expuestas a un fotoperiodo natural o fotoperiodo artificial.

Grupo (Fotoperiodo)	n	Año	Primer periodo de anestro (días) $\bar{x} \pm e.e.*$	Segundo periodo de anestro (días) $\bar{x} \pm e.e.$	Días en anestro por año $\bar{x} \pm e.e.$	Promedio anual de días en anestro por grupo (n) ** $\bar{x} \pm e.e.$
Testigo (fotoperiodo natural)	4	1	63.7 \pm 18.8	No se presentó	63.7 \pm 18.8	86.3 \pm 15.4 (8)
	4	2	109.0 \pm 20.5	No se presentó	109.0 \pm 20.5	
Tratado (fotoperiodo artificial)	4	1	85.5 \pm 19.6	54.7 \pm 8.2	140.2 \pm 21.7	153.8 \pm 12.4 (8)
	4	2	123.7 \pm 7.9	43.7 \pm 4.9	167.5 \pm 11.1	

* Los valores son promedio \pm error estándar expresados en días.

** Las diferencias en los promedios anuales de días en anestro son estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

Cuadro 3.3 Número de ciclos ovulatorios en ovejas Pelibuey mantenidas en condiciones de fotoperiodo artificial alterno.

Trimestre y tipo de fotoperiodo		
aplicado	n	Media \pm error estándar
1°		
Días largos	4	3.0 ^{ab} \pm 0.7
2°		
Días cortos	4	3.25 ^{ab} \pm 0.75
3°		
Días largos	4	5.0 ^a \pm 0.0
4°		
Días cortos	4	3.5 ^a \pm 0.64
5°		
Días cortos	4	5.0 ^a \pm 0.0
6°		
Días largos	4	1.25 ^b \pm 0.25
7°		
Días cortos	4	3.5 ^a \pm 0.50
8°		
Días largos	4	4.0 ^a \pm 0.40

^{ab} Valores de columna que no comparten literal son estadísticamente significativos ($P < 0.01$).

3.4 Tiempo requerido para el cese de la actividad ovárica de ovejas Pelibuey expuestas a fotoperiodos artificiales largos (16 h luz por 8 h oscuridad).

Trimestre de aplicación del fotoperiodo largo	n	Intervalo (días) desde la aplicación del fotoperiodo al cese de la actividad ovárica. promedio ± error estándar
1° (diciembre 1994 a febrero 1995)	4	58.7 ^{ab} ± 13.8
3° (junio a agosto 1995)	4	100.0 ^c ± 4.8
6° (marzo a mayo 1996)	4	31.5 ^a ± 2.5
8° (septiembre a noviembre 1996)	4	72.2 ^{bc} ± 4.9

^{a b c} Para fotoperiodos largos, valores de columna que no comparten literal son significativamente diferentes (P < 0.01).

Cuadro 3.5 Tiempo requerido para el inicio de la actividad ovárica de ovejas Pelibuey expuestas a fotoperiodos artificiales cortos (8 h luz por 16 h oscuridad).

Trimestre de aplicación del fotoperiodo corto.	n	Intervalo (días) desde la aplicación del fotoperiodo al inicio de la actividad ovárica. promedio ± error estándar
2° (marzo a mayo 1995)	4	62.2 ± 6.5 *
4° (septiembre a noviembre 1995)	4	54.7 ± 5.1
5° (diciembre 1995 a febrero 1996)	4	Ya estaban ciclando, continuaron haciéndolo.
7° (junio a agosto 1996)	4	62.2 ± 6.4

* Los promedios no son estadísticamente diferentes (P > 0.05).

Cuadro 3.6 Promedio anual de cortisol plasmático de ovejas Pelibuey mantenidas en fotoperiodo natural o en fotoperiodo artificial.

Número de oveja	Tipo de Fotoperiodo	Nivel de cortisol (ng/ml) promedio \pm error estándar	Valor mínimo mensual	Valor máximo mensual.	Intervalo de confianza al 95% para la media.
2	Natural	8.7 \pm 1.5	2.7	19.5	5.4 a 11.9
4	Natural	5.6 \pm 0.9	0.2	10.5	2.3 a 8.9
10	Natural	16.1 \pm 2.1	5.6	28.3	12.8 a 19.4
16	Artificial	13.6 \pm 1.6	6.2	26.0	10.5 a 16.8
18	Artificial	11.3 \pm 1.8	1.2	21.1	8.2 a 14.5
20	Artificial	9.8 \pm 1.6	0.4	19.7	6.6 a 13.0
22	Artificial	9.4 \pm 1.3	1.1	16.7	6.2 a 12.6
28	Artificial	8.4 \pm 1.3	0.7	18.5	5.2 a 11.6

Figura 3.1 Actividad ovárica de ovejas Pelibuey nº 2 y 4 mantenidas en fotoperiodo natural durante dos años.

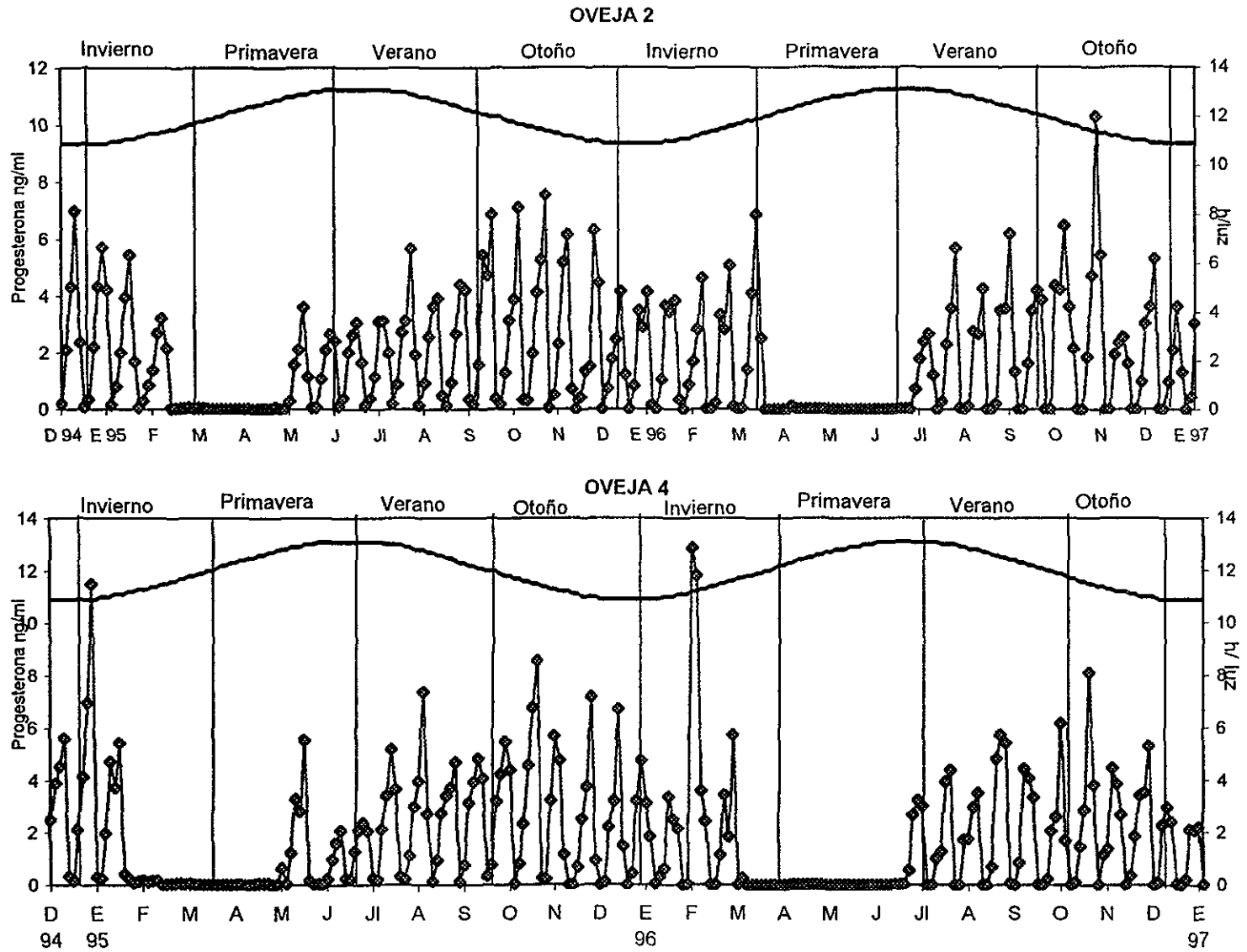


Figura 3.2 Actividad ovárica de ovejas Pelibuey n° 6 y 8 mantenidas en fotoperiodo natural durante dos años.

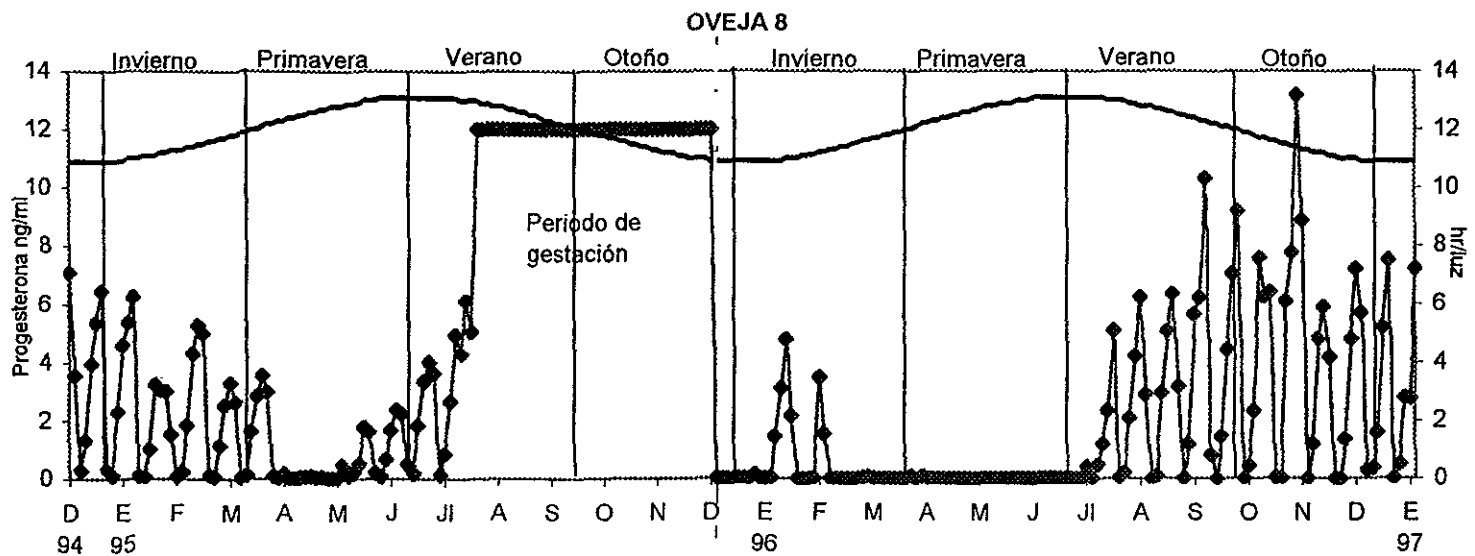
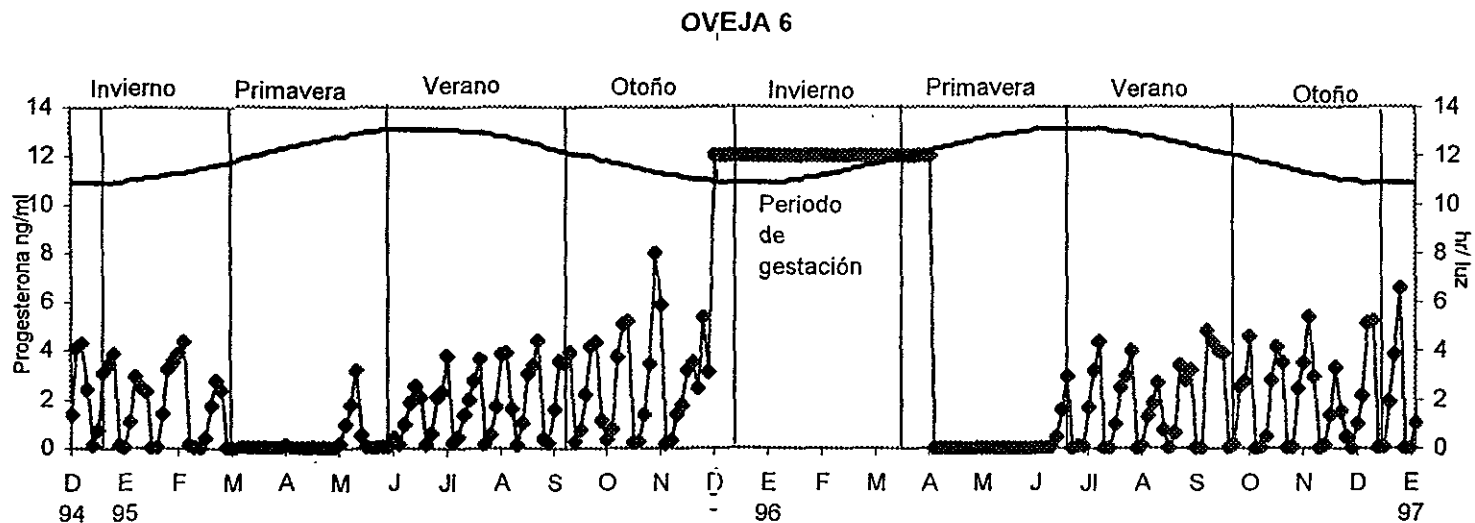


Figura 3.3 Actividad ovárica de ovejas Pelibuey nº 10 y 12 mantenidas en fotoperiodo natural durante dos años.

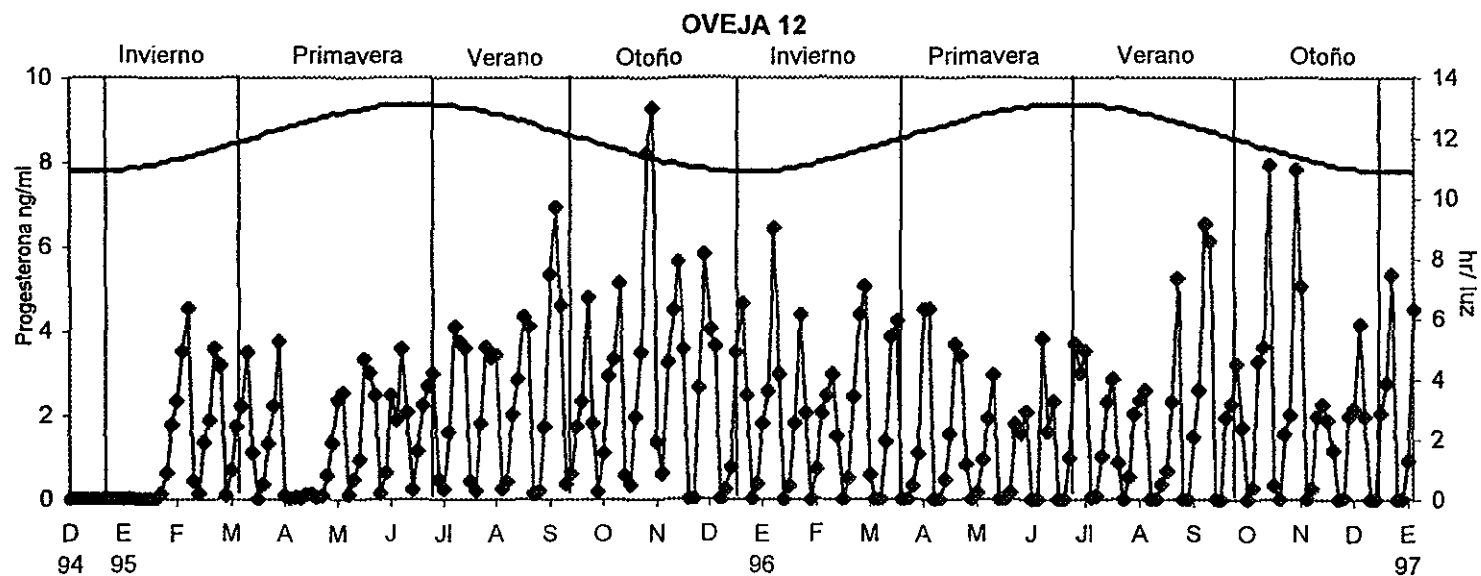
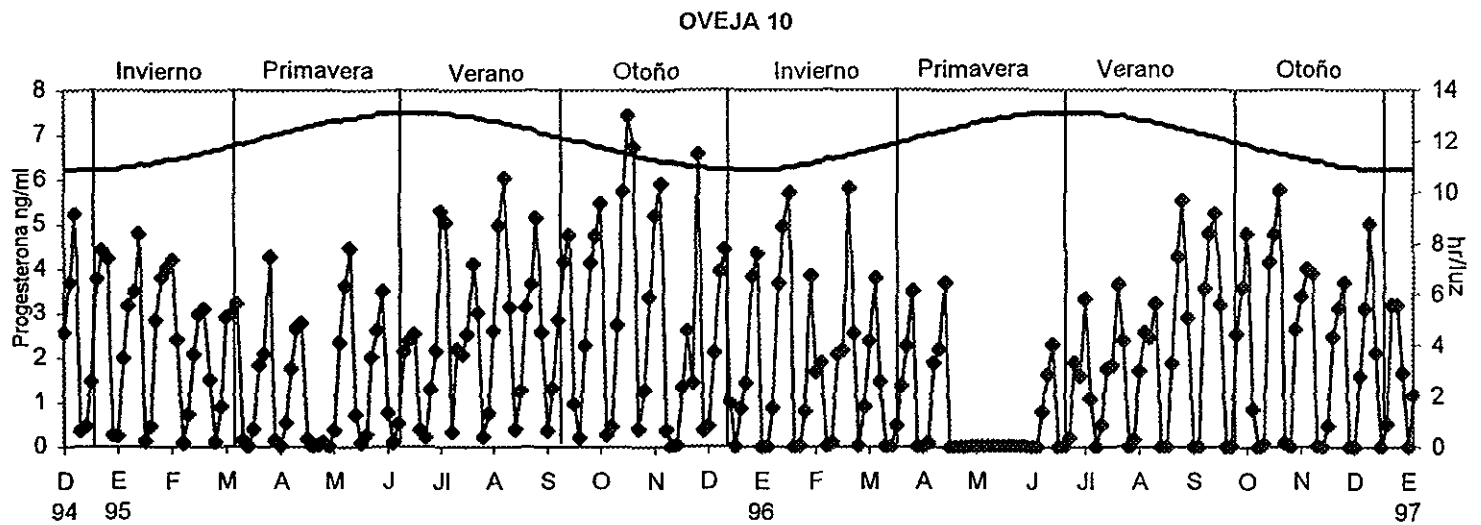
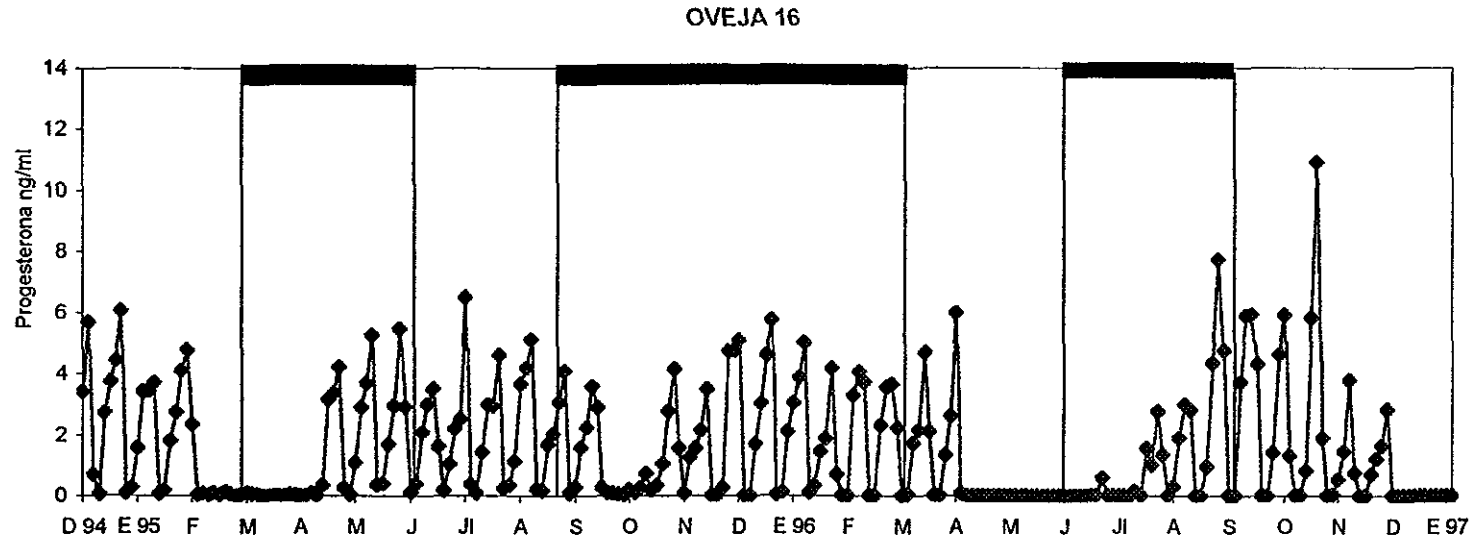


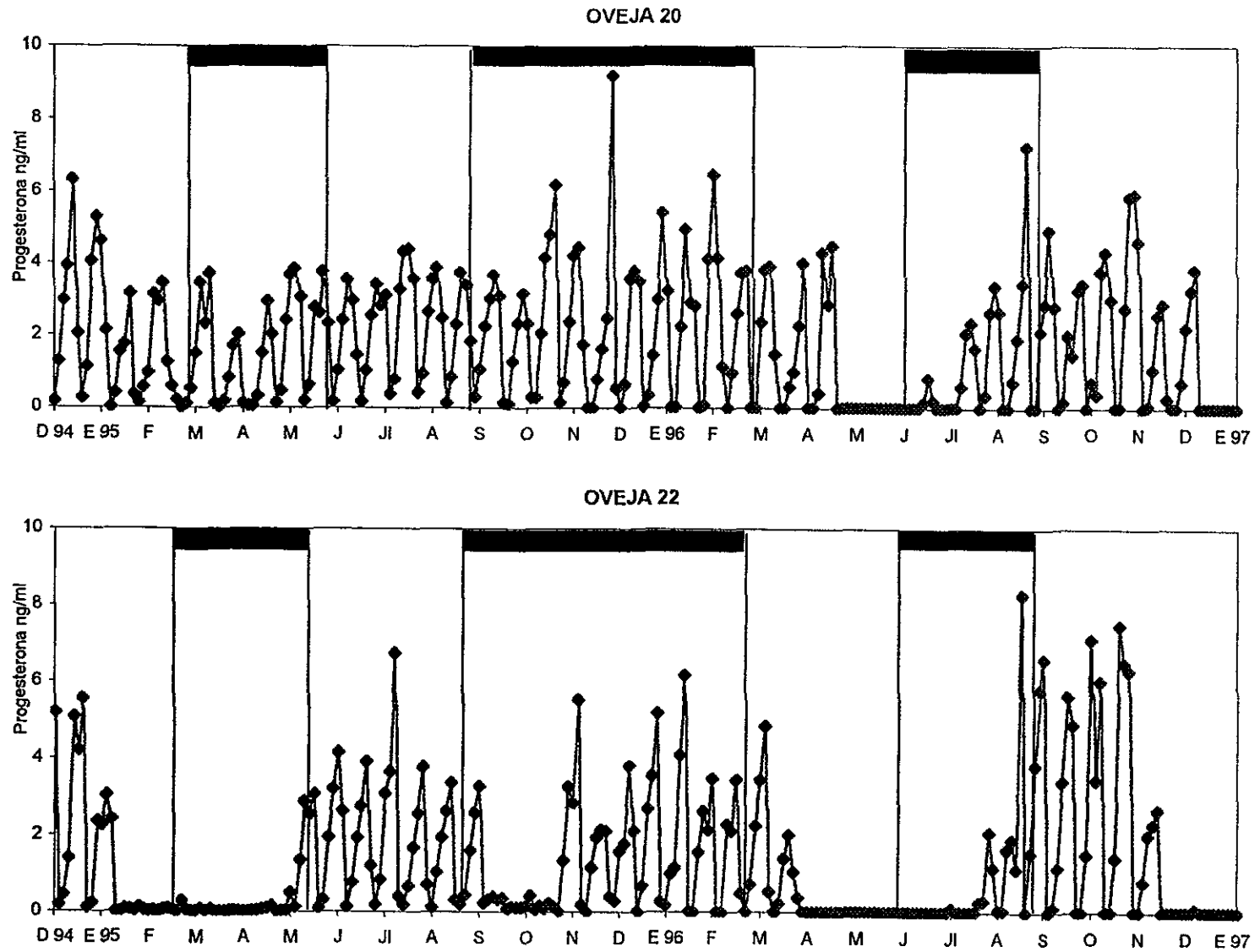
Figura 3.4 Actividad ovárica de ovejas Pelibuey n° 16 y18 mantenidas en fotoperiodo artificial durante dos años.



63

Los periodos de exposición a "días cortos" (8 h luz por 16 h de oscuridad) se representan por una barra negra en la parte superior de cada figura, los demás periodos corresponden a "días largos" (16 h luz por 8 h oscuridad).

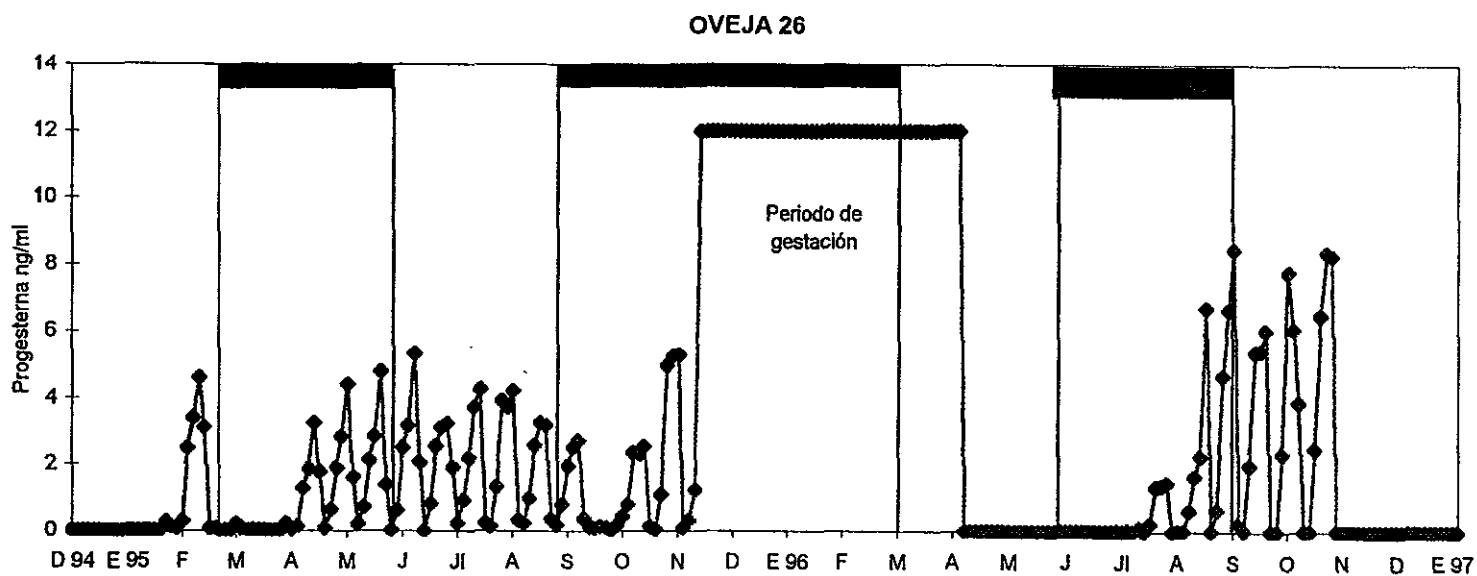
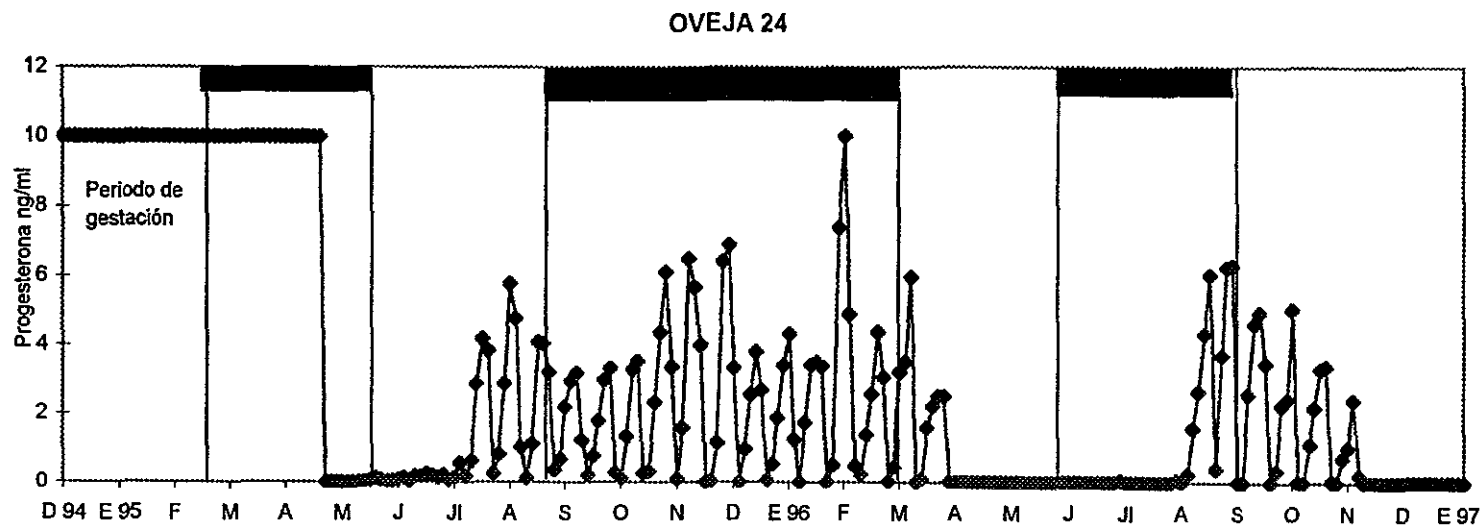
Figura 3.5 Actividad ovárica de ovejas Pelibuey n° 20 y 22 mantenidas en fotoperiodo artificial durante dos años.



64

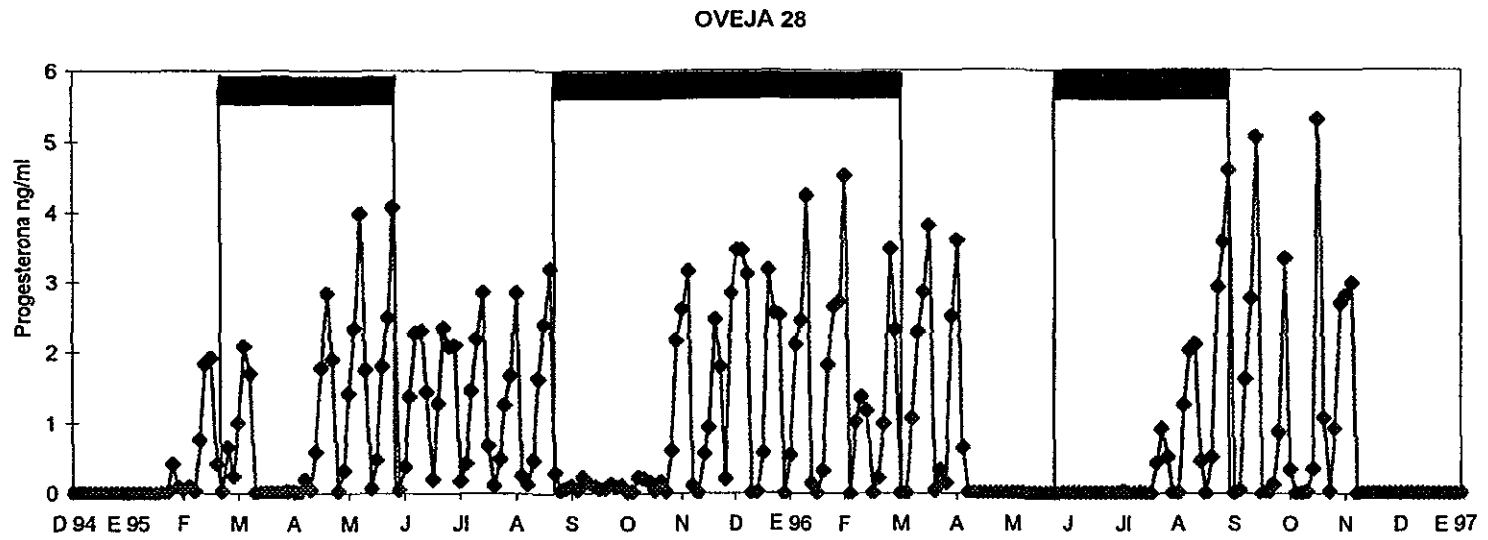
Los períodos de exposición a "días cortos" (8 h luz por 16 h oscuridad) se representan por una barra negra en la parte superior de cada figura, los demás periodos corresponden a "días largos" (16 h luz por 8 h oscuridad).

Figura 3.6 Actividad ovárica de ovejas Pelibuey n° 24 y 26 mantenidas en fotoperiodo artificial durante dos años.



Los periodos de exposición a "días cortos" (8 h luz por 16 h oscuridad) se presentan por una barra negra en la parte superior de cada figura, los demás periodos corresponden a "días largos (16 h luz por 8 h de oscuridad).

Figura 3.7 Actividad ovárica de la oveja Pelibueya nº 28 mantenida en fotoperiodo artificial durante dos años.



Los periodos de exposición a "días cortos (8 h luz por 16 h oscuridad) se presentan por una barra negra en la parte superior de cada figura, los demás periodos corresponden a "días largos" (16 h luz por 8 h de oscuridad).

Anexo 3.1 Análisis de varianza para la duración del anestro en ovejas Pelibuey sometidas a condiciones de fotoperiodo natural o fotoperiodo artificial alterno.

Fuente de variación.	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Pr > F
Tratamiento	1	18225.00	18225.00	24.10	0.0027
Ovejas (Tratamiento)	6	11985.70	1997.62	2.64	0.1311
Año	1	5256.25	5256.25	6.95	0.0387
Tratamiento por año	1	324.00	324.00	0.43	0.5370
Error	6	4536.75	756.112		

Anexo 3.2 Análisis de varianza para el número de ciclos ovulatorios en ovejas Pelibuey en condiciones de fotoperiodo natural.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Pr > F
Estación del año	3	30.34	10.11	21.58	0.0001
Oveja (Estación del año)	12	27.62	2.30	4.91	0.0050
Año	1	0.03	0.03	0.07	0.8006
Estación por año	3	7.84	2.61	5,58	0.0125
Error	12	5.62	0.46		

Anexo 3.3 Análisis de varianza para el número de ciclos ovulatorios de ovejas Pelibuey mantenidas en fotoperiodo artificial alterno

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Pr > F
Trimestres de aplicación.	7	40.37	5.76	11.14	0.0001
Oveja (Bloque)	3	12.62	4.20	8.13	0.0009
Error	21	10.87	0.51		

Anexo 3.4.a Análisis de varianza para el tiempo requerido para el cese de la actividad ovárica en ovejas Pelibuey expuestas a fotoperiodos largos (16 h luz por 8 h oscuridad)

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Pr > F
Trimestres de luz	3	9749.25	3249.75	12.78	0.0014
Oveja (bloque)	3	668.25	222.75	0.88	0.4889
Error	9	2288.25	254.2		

g

Anexo 3.4.b. Análisis de varianza para el tiempo requerido para el inicio de la actividad ovárica en ovejas Pelibuey expuestas a fotoperiodos cortos (8 h luz por 16 h oscuridad).

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Pr > F
Trimestres de oscuridad	2	150.0	75	1.67	0.2257
Oveja (bloque)	3	1046.25	348.75	7.75	0.0174
Error	6	270.0	45.0		

CAPÍTULO IV. EFECTOS DEL FOTOPERIODO ARTIFICIAL SOBRE LA SECRECIÓN DE LA HORMONA LUTEINIZANTE EN LA OVEJA PELIBUEY

4.1 Resumen

El objetivo del presente estudio fue caracterizar el patrón de secreción anual de la hormona luteinizante (LH) en ovejas Pelibuey ovariectomizadas, tratadas por medio de un implante subcutáneo con 17β estradiol, y mantenidas en condiciones de fotoperiodo natural ($19^{\circ} 13'$ latitud norte) o en fotoperiodo artificial alterno. El fotoperiodo artificial alterno consistió en aplicar durante dos años periodos de 90 días de exposición a fotoperiodos largos (16 h luz por 8 h oscuridad), seguidos por la exposición a fotoperiodos cortos (8 h luz por 16 h oscuridad). Los fotoperiodos largos se aplicaron en el primero, tercero, sexto y octavo trimestres, mientras que durante el segundo, cuarto, quinto y séptimo trimestres se aplicó un fotoperiodo corto. Se utilizaron catorce ovejas Pelibuey; la mitad de las ovejas permanecieron en confinamiento expuestas al fotoperiodo natural (grupo testigo) y las restantes se sometieron al fotoperiodo artificial alterno (grupo tratado). El patrón de secreción de LH anual se caracterizó colectando muestras de sangre dos veces por semana durante el primer año de estudio. La secreción pulsátil de LH se determinó mediante la toma de muestras de sangre cada 15 minutos por un periodo de 6 horas, procedimiento que se realizó entre 60 a 70 días después de haber iniciado un nuevo régimen de luz (fotoperiodo largo o corto). Se utilizó el programa Pulse Analysis Program (PULSAR) para determinar el número y la amplitud de los pulsos de LH. Las ovejas en fotoperiodo natural presentaron variaciones estacionales en los niveles de LH, en la primavera se registraron los niveles más bajos de LH (4.6 ± 0.4 ng/ml; media \pm error estándar), seguidos por un incremento marcado durante el verano (11.7 ± 1.1 ng/ml) para posteriormente disminuir durante el otoño (9.5 ± 0.5 ng/ml) e invierno (6.8 ± 0.3 ng/ml), ($P < 0.001$). Se detectaron cambios significativos en la frecuencia y la amplitud de los pulsos de LH entre las diferentes "ventanas para LH". En las ovejas en fotoperiodo artificial alterno se observó que las concentraciones de LH disminuían después de la aplicación de días largos y aumentaban con los días cortos. Para las ovejas del grupo tratado el número de pulsos de LH no varió entre las "ventanas para LH" ($P > 0.05$), sólo la amplitud de los pulsos de LH varió significativamente entre "ventanas para LH". Se concluye que el fotoperiodo es capaz de afectar directamente la secreción de LH en

ovejas Pelibuey ovariectomizadas y tratadas con implantes subcutáneos con 17β estradiol. Sin embargo, las variaciones en el patrón de secreción pulsátil de LH no fueron lo suficientemente claras para poder explicar las variaciones en las concentraciones medias de LH. En ambos grupos, los cambios en los niveles de LH estuvieron asociados con la actividad ovulatoria de ovejas Pelibuey intactas.

4.2 Introducción

Yuthasastrakosol *et al.* (1977) demostraron la existencia de variaciones anuales en la secreción de la hormona luteinizante (LH) asociadas con la actividad reproductiva de la oveja, detectando que los niveles de LH son mayores en la estación reproductiva y menores en el anestro. Además, señalaron que la liberación de LH se realiza en forma episódica, y por lo tanto, las variaciones anuales observadas son producto de modificaciones en el patrón de secreción pulsátil.

En ovejas de razas fuertemente estacionales, Goodman y Karsch (1980) encontraron que la frecuencia y la amplitud de los pulsos de LH varían con cada etapa del ciclo estral; la fase lútea se caracteriza por una disminución en la frecuencia de los pulsos de LH (un pulso cada 3 a 4 horas) y un incremento en su amplitud, debido principalmente a la acción inhibitoria que ejerce la progesterona. En la fase folicular, al cesar el bloqueo ejercido por la progesterona se incrementa la frecuencia de los pulsos de LH, aunque decrece su amplitud. El aumento en la frecuencia desencadena los eventos preovulatorios que finalizarán con la ovulación (McNeilly *et al.*, 1982). En la época de anestro la frecuencia de los pulsos de LH es reducida (un pulso cada 8 a 12 horas). Como resultado el estímulo hormonal es insuficiente para desencadenar la ovulación aún en ausencia de progesterona. En este caso, el estradiol por si solo es capaz de inhibir la secreción pulsátil de LH (Legan *et al.*, 1977; Legan y Karsch, 1980; Goodman y Karsch, 1980; Goodman *et al.*, 1982). Por lo tanto, se considera que la estacionalidad reproductiva en la oveja se rige por cambios en la sensibilidad hipotalámica a la retroalimentación negativa ejercida por el estradiol (Legan *et al.*, 1977).

Goodman *et al.* (1982) estudiaron el efecto del fotoperiodo sobre el patrón anual de secreción pulsátil de LH, utilizando ovejas Suffolk ovariectomizadas (ovx) para eliminar el

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

En contraste con la vasta información que existe acerca de la influencia del fotoperiodo sobre el patrón de secreción anual de LH en diversas razas ovinas de lana, esta es muy escasa para la oveja de pelo denominada en México, oveja Pelibuey (González *et al.*, 1992a). Solamente existe evidencia sobre la existencia de variaciones estacionales en la secreción de LH en machos Pelibuey (González *et al.*, 1992b). En consecuencia, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto del fotoperiodo sobre la secreción de la hormona luteinizante en ovejas Pelibuey ovariectomizadas y tratadas con 17β estradiol, mantenidas en condiciones de fotoperiodo natural o en fotoperiodo artificial alterno.

4.3 Material y métodos

4.3.1 Localización

El trabajo se realizó en el Centro de Enseñanza Práctica, Investigación y Extensión en Rumiantes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), ubicado en la delegación Tlalpan, D.F., su localización por coordenadas geográficas es de $19^{\circ} 13'$ de latitud norte y $99^{\circ} 8'$ de longitud oeste, a una altitud de 2800 msnm. El clima de la región es del tipo C(W) b(ij), es decir, semifrío-semihúmedo con lluvias en verano, una precipitación pluvial de 800 a 1200 mm y una temperatura media anual de 10°C (García, 1981).

4.3.2 Animales y alimentación

Se utilizaron catorce ovejas de la raza Pelibuey con edad y peso promedio de 3 años y 36.3 kg respectivamente, al iniciar el estudio. El sistema de alimentación estuvo compuesto por paja de avena a voluntad, ensilaje de maíz a razón de 1 kg/animal/día, alimento concentrado a base de sorgo (300 g/animal/día), sales minerales, y agua a libre acceso. La dieta se mantuvo constante durante el tiempo de estudio. El peso de las ovejas se determinó cada semana.

4.3.3 Diseño experimental

Tres meses antes de iniciar el estudio todas las ovejas fueron ovariectomizadas y se les aplicó un implante subcutáneo con la capacidad para mantener concentraciones basales de 17β estradiol (3 a 5 pg/ml) durante un año (Karsch *et al.*, 1973). Al finalizar el primer año de estudio se renovaron los implantes de cada oveja.

Los animales se dividieron aleatoriamente en dos grupos; las ovejas del grupo testigo (n=7) permanecieron en un corral abierto expuestas al fotoperiodo natural propio de los 19° 13' L.N., donde la diferencia entre el día más largo y el más corto del año no excede las 2.15 h. Las ovejas del grupo tratado (n=7) se sometieron a un fotoperiodo artificial alterno, el cual consistió en la aplicación de un "fotoperiodo largo" (16 h luz por 8 h oscuridad) durante 90 días, seguido por la exposición a un "fotoperiodo corto" (8 h luz por 16 h oscuridad) durante el mismo tiempo, repitiéndose esta alternancia por dos años. Los fotoperiodos largos se aplicaron durante el primero, tercero, sexto y octavo trimestres, mientras que en el segundo, cuarto, quinto y séptimo trimestres se aplicó un fotoperiodo corto.

Para aplicar el calendario de luz artificial se utilizó una cámara de luz controlada, consistente en un cuarto totalmente aislado de la luz natural, que contó con iluminación artificial administrada por lámparas de luz fluorescente, calculadas para suministrar una intensidad de iluminación de 350 lux a nivel de la cabeza del animal, y conectadas a un interruptor automático de tiempo que permitió simular a voluntad días cortos y días largos. Las ovejas se sacaban diariamente a un corral a las 8:00 am y regresaban a la cámara de fotoperiodo a las 15:00 pm, independientemente del tipo de fotoperiodo que estuvieran

recibiendo. Cuando las ovejas estaban en fotoperiodo largo la iluminación se completaba encendiendo las luces de la cámara desde las 5:00 am hasta que los animales salían, y desde que regresaban a la cámara hasta las 21:00 pm, de esta forma los animales estaban expuestos continuamente a la luz desde las 5:00 am hasta las 21:00 pm. En el caso de los fotoperiodos cortos la luz solo se encendía cuando las ovejas regresaban a la cámara hasta las 16:00 pm, resultando en una exposición a la luz desde las 8:00 am hasta las 16:00 pm.

4.3.4 Toma de muestras sanguíneas y análisis de laboratorio

En las ovejas de ambos grupos, el patrón anual de secreción de LH se caracterizó colectando muestras de sangre dos veces por semana (martes y viernes entre las 10:00 y 12:00 horas), durante el primer año de estudio. En ambos grupos, la secreción pulsátil de LH se determinó tomando muestras de sangre cada 15 minutos durante 6 horas continuas (esta metodología será referida en adelante como "ventana para LH"), cada ventana se tomó entre 60 a 70 días después exponer a las ovejas del grupo tratado a un nuevo fotoperiodo (largo o corto). Durante los dos años de estudio se tomaron muestras para siete ventanas (no se tomaron muestras en el quinto trimestre), (cuadro 4.1). Se empleó el programa Pulse Analysis Program (PULSAR) para estimar el número de pulsos que ocurrieron en un periodo de 6 horas, así como la amplitud de los mismos (Merriam y Wachter, 1982).

El funcionamiento de los implantes se monitoreó colectando muestras de sangre cada quince días para cuantificar los niveles plasmáticos de 17β estradiol en las ovejas de ambos grupos.

En cada caso las muestras de sangre se obtuvieron por punción yugular en tubos heparinizados que se mantuvieron en refrigeración (4°C) hasta el momento de su centrifugación (3500 rpm durante 10 min), que se realizó dentro de la primera hora después de obtenida la muestra. El plasma colectado se mantuvo congelado (-20°C) hasta su análisis.

Los niveles plasmáticos de LH ovina se cuantificaron por medio de un radioinmunoanálisis heterólogo en fase líquida, utilizando como estándar y hormona marcada la NIADDK-oLH-1-2, (AFP707-IB), la cual se marcó empleando el método de iodogen (Perera *et al.*, 1996a). Se utilizó como primer anticuerpo el anti-LH (CM2bDEA-Ib) donado por el Banco de Hormonas Proteicas del Centro de Neurobiología de la UNAM, utilizando una dilución de trabajo de 1/32000, con un porcentaje de unión del 20 al 30% (Perera *et al.*, 1996b). La sensibilidad del ensayo fue de 0.125 ng/ml, los coeficientes de variación intraensayo fueron de 3.11% (0.547 ± 0.017 ng/ml ; promedio \pm desviación estándar) para la dosis baja, de 12.70% (2.51 ± 0.319 ng/ml) para la dosis media y de 3.66% (12.89 ± 0.472 ng/ml) para la dosis alta. Mientras que los coeficientes de variación interensayo fueron; para la dosis baja de 11.68% (0.534 ± 0.062 ng/ml), media de 15.02% (2.65 ± 0.399 ng/ml) y alta de 8.07% (12.90 ± 1.041 ng/ml).

Para verificar que los implantes estuvieran liberando suficiente estradiol, los niveles plasmáticos de 17β estradiol se determinaron empleando un Kit comercial de DPC (Diagnostics Products Corporation, Los Angeles, U.S.A.), validado en el Laboratorio de Endocrinología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM., siguiendo el protocolo descrito por Turzillo y Fortune (1990). La sensibilidad del ensayo fue de 0.312 pg/ml, el coeficiente de variación intraensayo para la dosis baja fue de 13.16% (0.370 ± 0.048 pg/ml), y para la dosis alta de 1.08% (42.893 ± 0.466 pg/ml). El coeficiente interensayo para la dosis baja fue de 12.12% (0.525 ± 0.063 pg/ml) y para la dosis alta de 4.81% (42.141 ± 2.02 pg/ml).

4.3.5 Análisis estadístico

El patrón de secreción anual de LH se analizó en forma independiente para ambos grupos (testigo y tratado). En ambos grupos se evaluó el efecto del mes del año y el de oveja sobre los niveles plasmáticos de LH por medio del análisis de varianza para un diseño en bloques aleatorios, empleando el siguiente modelo estadístico:

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

donde;

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

M = Media general

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

ME_j = Efecto del j-ésimo mes del año

E_{ij} = Error aleatorio.

Además, entre grupos (testigo y tratado) se comparó mes por mes los niveles de medios de LH, utilizando primero una prueba para determinar la homogeneidad de las dos varianzas y posteriormente se aplicó una prueba de "t-student".

Por otras parte, el patrón de secreción pulsátil de LH se analizó en forma independiente para cada grupo (testigo y tratado). En ambos grupos se evaluaron las variaciones en el patrón de secreción pulsátil de LH (el número y la amplitud en los pulsos de LH) entre las "ventanas para LH", por medio del análisis de varianza para un diseño en bloques aleatorios empleando el siguiente modelo estadístico:

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

donde;

Y_{ij} = variable de respuesta (número o amplitud de los pulsos de LH)

M = Media general

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

V_j = Efecto de la j-ésima "ventana para LH"

E_{ij} = Error aleatorio.

Entre grupos se comparó para cada ventana el número y la amplitud de los pulsos de LH, utilizando primero una prueba para determinar la homogeneidad de las dos varianzas y posteriormente se aplicó una prueba de "t-student".

En los casos donde fue necesaria la comparación de promedios esta realizó mediante una Prueba de Tukey. Se utilizó el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS) para correr los respectivos análisis estadísticos.

4.4 Resultados

El cuadro 4.2 muestra el peso promedio mensual de las ovejas para cada grupo durante el tiempo de estudio. Se puede observar que con excepción de un moderado aumento de peso durante los primeros dos o tres meses de estudio las ovejas mantuvieron un peso constante.

4.4.1 Patrón anual de secreción de la hormona luteinizante en ovejas mantenidas en fotoperiodo natural y en fotoperiodo artificial alterno

Las concentraciones plasmáticas de LH de la oveja 19 presentaron valores inusualmente elevados en todos los muestreos (promedio de 40 ng/ml), por tal motivo los datos de esta oveja se descartaron de los respectivos análisis estadísticos.

En la figura 4.1 se muestra el comportamiento anual en la secreción de LH para cada oveja del grupo testigo. Individualmente, las ovejas tuvieron variaciones significativas en los niveles mensuales de LH ($P < 0.01$), observándose que en la mayoría de las ovejas las concentraciones de LH se redujeron desde enero o febrero hasta mayo, para comenzar a elevarse en junio y alcanzar sus máximos niveles entre agosto y septiembre. Por grupo, las ovejas mantenidas en fotoperiodo natural presentaron variaciones mensuales significativas ($P < 0.01$) en sus niveles plasmáticos de LH, las concentraciones más bajas (≤ 8.0 ng/ml) correspondieron para los meses de diciembre a junio y las más altas (> 8.0 ng/ml) para los meses de julio a noviembre (figura 4.2). Al agrupar los datos por estaciones del año, se observó que los niveles de LH fueron más bajos durante la primavera (4.6 ± 0.4 ng/ml; media \pm error estándar), seguidos por un incremento marcado durante el verano (11.7 ± 1.1 ng/ml) para posteriormente disminuir durante el otoño (9.5 ± 0.5 ng/ml) e invierno (6.8 ± 0.3 ng/ml), ($P < 0.01$).

En la figura 4.3 se presenta el perfil anual de secreción de LH para cada oveja del grupo en fotoperiodo artificial alterno. Individualmente, las ovejas presentaron variaciones

significativas en los niveles mensuales de LH ($P < 0.01$). En general, es posible observar que en la mayoría de las ovejas del grupo tratado las concentraciones de LH disminuían después de la exposición a un calendario de días largos, y se incrementaban después de someterlas a un calendario de días cortos. También por grupo, las ovejas mantenidas en fotoperiodo artificial alterno presentaron variaciones mensuales significativas ($P < 0.01$) en sus niveles plasmáticos de LH (figura 4.4). Pero en este caso las concentraciones más bajas de LH (≤ 8.0 ng/ml) ocurrieron en los meses de enero a junio y también en septiembre y octubre. Mientras que los niveles más altos de LH (> 8.0 ng/ml) se detectaron en los meses de julio, agosto, noviembre y diciembre (figura 4.4).

Entre grupos se comparó mes por mes las concentraciones de LH, solamente se encontró diferencia estadística para el mes de mayo cuando la concentración de LH fue mayor para el grupo en fotoperiodo artificial (5.52 ± 1.07 ng/ml) que en el grupo con fotoperiodo natural (3.07 ± 0.43), (cuadro 4.3).

4.4.2 Patrón de secreción pulsátil de la hormona luteinizante en ovejas sometidas a un fotoperiodo artificial alterno y en fotoperiodo natural

En el grupo testigo, el número de pulsos de LH varió por efecto de la oveja así como entre "ventanas para LH" ($P < 0.05$), (cuadro 4.4). En la octava "ventana de LH" el número de pulsos fue mayor (7.85 pulsos de LH en 6 h) que para la primera, cuarta y sexta ventanas (5.57, 5.42 y 5.42 pulsos en 6 h, respectivamente). Mientras que la amplitud de los pulsos de LH varió significativamente tanto por los efectos de oveja como de "ventana para LH" (cuadro 4.5). En las ovejas del grupo tratado el número de pulsos de LH no varió por los efectos de "ventana para LH" o de oveja (cuadro 4.4), sólo la amplitud de los pulsos de LH varió significativamente entre "ventanas para LH" (cuadro 4.5).

Entre grupos el número de pulsos de LH varió significativamente ($P < 0.05$) sólo en la octava "ventana de LH" (cuadro 4.4). La amplitud de los pulsos de LH sólo varió entre los promedios de la primera ventana ($P < 0.01$), (cuadro 4.5).

4.4.3 Comportamiento del implante subcutáneo conteniendo 17β estradiol

En general los promedios mensuales de 17β estradiol fueron menores a los 4 pg/ml. En el cuadro 4.6 se presenta el promedio mensual de 17β estradiol para las ovejas de ambos grupos durante los dos años de estudio.

4.5 Discusión

4.5.1 Patrón de secreción de la hormona luteinizante en ovejas mantenidas en fotoperiodo natural

Las ovejas mantenidas en fotoperiodo natural presentaron variaciones mensuales significativas en las concentraciones de LH plasmática, los niveles más bajos se registraron durante los meses de diciembre a junio y los más altos de julio a noviembre, este tipo de variaciones en la secreción de LH ha sido descrito en diversos estudios (Legan *et al.*, 1977; Legan y Karsch, 1980; Thimonier, 1981; Webster y Haresign, 1983; Kennaway *et al.*, 1984). Sin embargo, la información acerca del patrón de secreción anual de LH en ovejas Pelibuey es escasa. González *et al.* (1992b) encontraron que machos Pelibuey localizados a $22^{\circ} 19'$ de latitud norte y mantenidos en un plano nutricional adecuado, presentaron variaciones estacionales en los niveles circulantes de LH y testosterona. Es evidente que este tipo de oveja presenta fluctuaciones anuales en la secreción de LH, posiblemente originadas por un patrón endógeno circanual como se ha demostrado para otro tipo de ovejas (Karsch *et al.*, 1989).

Thimonier y Mauléon (1970) demostraron que las variaciones anuales en la secreción de LH están asociadas con la actividad reproductiva de la oveja, de tal forma, que las concentraciones hipofisarias de LH son un 50% más bajas durante el anestro profundo, que en la época reproductiva. En un estudio similar, Legan *et al.* (1977) indican que las ovejas con estacionalidad reproductiva poseen un patrón anual de secreción de LH que se caracteriza por niveles indetectables durante el anestro, y concentraciones elevadas en la época reproductiva. Por lo tanto, el inicio de la época reproductiva es reflejo del incremento marcado en la concentración de LH (Legan *et al.*, 1977), mientras que un descenso gradual de la misma antecede al anestro (Chemineau *et al.*, 1995). En este trabajo la secreción anual de LH se relacionó con la actividad reproductiva de las ovejas no ovariectomizadas y en fotoperiodo natural (capítulo III); las cuales presentaron

un periodo de anestro entre los meses de enero a mayo, lapso en que se detectaron las menores concentraciones de LH, mientras que su actividad reproductiva ocurrió cuando los niveles de LH se mantuvieron altos.

Por otra parte, Yuthasastrakosol *et al.* (1975, 1977) indican que los cambios estacionales en la concentración de LH se deben a que las descargas pulsátiles de esta hormona son menos frecuentes durante el anestro que en la época reproductiva. En este estudio se encontró que el número de pulsos de LH de la octava "ventana de LH" (7.85 pulsos de LH en 6 h) fue significativamente mayor que el obtenido en la primera, cuarta y sexta "ventanas de LH" (5.57, 5.42 y 5.42 pulsos de LH en 6h, respectivamente). El número de pulsos de LH fue menor en los muestreos realizados en enero y abril (primera y sexta "ventanas de LH), meses en los que la concentración media de LH fue menor. Sin embargo, esta relación no se cumplió para el cuarto y octavo muestreo los cuales se realizaron en noviembre mes en el que se registraron concentraciones elevadas de LH. En general, no se observaron diferencias marcadas en el número de pulsos de LH entre las diferentes ventanas (rango de 5.42 a 7.85 pulsos en 6 h), esto quizá podría deberse a que las ventanas para LH se realizaron siguiendo el mismo calendario planeado para las ovejas del grupo tratado, y no uno propio, que hubiese considerado aspectos como el ciclo luminoso anual o los cambios en la actividad ovárica de ovejas intactas y en fotoperiodo natural, para poder precisar el momento más apropiado para la toma de cada ventana, especialmente para detectar cambios en la secreción pulsátil de LH asociados con la época de anestro, la cual es de corta duración en este tipo de oveja.

4.5.2 Efecto del fotoperiodo artificial sobre la secreción de la hormona luteinizante

En ovejas con estacionalidad reproductiva es posible inducir cambios marcados en la secreción de LH al exponerlas a fotoperiodos artificiales (Legan y Karsch, 1980; Karsch *et al.*, 1984). Legan y Karsch (1980) demostraron que la aplicación de un fotoperiodo largo (16 h luz por 8 h oscuridad, durante 90 días) provocaba una disminución en la secreción de LH en ovejas ovariectomizadas y tratadas con estradiol, al mismo tiempo que inducía el cese de la actividad reproductiva en ovejas intactas alojadas en la misma cámara de fotoperiodo. En cambio, la exposición a un fotoperiodo corto (8 h luz por 16 h oscuridad, por 90 días) estimuló la secreción de LH y el inicio de la actividad

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

reproductiva. En el presente estudio se observó que en la mayoría de las ovejas del grupo tratado las concentraciones de LH disminuían después de la exposición a un calendario de días largos, y se incrementaban después de someterlas a un calendario de días cortos. Esto originó que el grupo tratado presentará dos periodos con bajas concentraciones de LH, el primero entre los meses de enero a junio y un segundo periodo de septiembre a octubre. Este comportamiento se relacionó con la actividad reproductiva de las ovejas intactas que permanecieron en la misma cámara de fotoperiodo (capítulo III), las cuales tuvieron un primer periodo de anestro desde enero hasta finales de mayo, y un segundo periodo de inactividad ovárica desde final de agosto hasta principios de noviembre.

Karsch *et al.* (1984) indican que el fotoperiodo es la principal variable ambiental que regula la actividad del centro generador de pulsos de GnRH y de LH, así los días cortos incrementan la frecuencia de secreción de LH, necesaria para desencadenar la actividad reproductiva de la oveja, mientras que los días largos deprimen dicha secreción (efecto independiente de esteroides). En tanto que los esteroides son los principales moduladores internos de la actividad pulsátil de LH, siendo el estradiol el principal inhibidor de la frecuencia de los pulsos de LH durante el anestro (efecto esteroide dependiente), (Goodman y Karsch, 1980; Goodman *et al.*, 1981; Goodman *et al.*, 1982; Joseph *et al.*, 1992). La actividad de los esteroides ha sido estudiada utilizando ovejas ovariectomizadas con o sin tratamiento de estradiol; observando que las ovejas ovariectomizadas presentan un pulso de LH cada hora durante el anestro y estos se incrementan a dos pulsos en el mismo tiempo en la época reproductiva (Montgomery *et al.*, 1985; Robinson *et al.*, 1985a). Sin embargo, el efecto sobre la pulsátilidad de LH es más dramático cuando se emplean ovejas ovariectomizadas y tratadas con estradiol, en las cuales se presenta 1 pulso cada 12 a 24hs durante el anestro y un pulso cada 30 min en la época reproductiva (Karsch *et al.*, 1984).

Este último modelo experimental se utilizó en el presente estudio, y aunque permitió detectar cambios en las concentraciones plasmáticas promedio de LH en la ovejas de ambos grupos, no se registraron cambios significativos en la frecuencia de los pulsos de LH de las ovejas del grupo tratado. En este trabajo se emplearon implantes de

3cm de largo por 0.32 cm de diámetro interno, los cuales de acuerdo a la literatura son capaces de mantener en la oveja concentraciones de 3 a 5 pg/ml de 17β estradiol en forma constante (Karsch *et al.*, 1973). Sin embargo, en el presente trabajo las concentraciones de estradiol se mantuvieron en niveles más bajos, por lo tanto es posible que la falta de concentraciones adecuadas de estradiol durante el anestro no hubieran permitido deprimir totalmente los niveles de LH, ni reducir la frecuencia de los pulsos de LH como ha sido señalado en otros estudios (Goodman *et al.*, 1982; Karsch *et al.*, 1984; Joseph *et al.* 1992).

En diversas investigaciones se ha demostrado que ovejas ovariectomizadas sin tratamiento con estradiol presentan variaciones estacionales en la secreción pulsátil de LH, lo cual indica un efecto directo del fotoperiodo sobre la secreción de esta gonadotropina, independiente de la acción de los esteroides (Goodman *et al.*, 1982; Joseph *et al.*, 1992). En un estudio similar, González *et al.* (1992b) encontraron variaciones estacionales en la concentración de LH y testosterona en machos Pelibuey castrados y sin tratamiento con esteroides. En consecuencia, es posible que los cambios detectados en las concentraciones de LH en el presente estudio sean principalmente producto de un efecto directo del fotoperiodo, por lo que podrían observarse aún cuando las concentraciones de estradiol hayan sido insuficientes para alterar en mayor grado la secreción de LH.

Se concluye que el fotoperiodo es capaz de afectar directamente la secreción de LH en ovejas Pelibuey ovariectomizadas y tratadas con implantes subcutáneos con 17β estradiol. En ambos grupos, los cambios en los niveles de LH estuvieron asociados con la actividad ovulatoria de ovejas Pelibuey intactas. Sin embargo, las variaciones en el patrón de secreción pulsátil de LH no fueron lo suficientemente claras para poder explicar las variaciones en la concentraciones medias de LH.

Cuadro 4.1 Calendario de la toma de muestras sanguíneas (“ventanas”) para caracterizar el patrón de secreción pulsátil de la hormona luteinizante en ovejas Pelibuey (ovariectomizadas y tratadas con 17 β estradiol).

Fotoperiodo	Nº ventana o trimestre	Intervalo (días) entre el cambio de fotoperiodo y la toma de muestras sanguíneas
Largo*	1	60
Corto**	2	70
Largo	3	70
Corto	4	67
Corto	5	No se muestreó
Largo	6	61
Corto	7	70
Largo	8	63

* Fotoperiodo largo: 16 h luz por 8 h oscuridad.

** Fotoperiodo corto: 8 h luz por 16 h oscuridad.

Cuadro 4.2 Peso promedio mensual de ovejas Pelibuey (ovariectomizadas y tratadas con 17 β estradiol) sometidas a condiciones de fotoperiodo natural o fotoperiodo artificial alterno.

Mes (Año)	Fotoperiodo natural Promedio \pm error estándar*	Fotoperiodo artificial Promedio \pm error estándar
Diciembre (1994)	37.27 \pm 0.73	35.39 \pm 0.52
Enero (1995)	38.73 \pm 0.70	37.61 \pm 0.50
Febrero	39.77 \pm 0.67	39.02 \pm 0.57
Marzo	40.89 \pm 0.81	40.03 \pm 0.58
Abril	42.73 \pm 0.94	41.95 \pm 0.65
Mayo	43.09 \pm 0.98	42.60 \pm 0.67
Junio	42.98 \pm 1.07	42.98 \pm 0.64
Julio	43.00 \pm 1.03	41.27 \pm 0.36
Agosto	44.10 \pm 0.96	41.93 \pm 0.68
Septiembre	43.78 \pm 0.98	41.99 \pm 0.68
Octubre	43.74 \pm 1.03	42.72 \pm 0.63
Noviembre	42.51 \pm 1.06	41.23 \pm 0.61
Diciembre	41.73 \pm 1.19	40.46 \pm 0.61
Enero (1996)	40.59 \pm 1.07	39.66 \pm 0.55
Febrero	40.89 \pm 1.01	39.77 \pm 0.50
Marzo	40.93 \pm 0.98	41.10 \pm 0.63
Abril	41.63 \pm 1.07	42.16 \pm 0.65
Mayo	41.17 \pm 1.02	42.19 \pm 0.66
Junio	40.41 \pm 1.09	41.93 \pm 0.68
Julio	38.87 \pm 0.99	40.83 \pm 0.66
Agosto	39.26 \pm 1.04	40.98 \pm 0.59
Septiembre	39.64 \pm 1.11	42.29 \pm 0.76
Octubre	42.98 \pm 1.05	42.13 \pm 1.03
Noviembre	42.98 \pm 1.10	41.39 \pm 0.85

* Los valores son promedio \pm error estándar expresados en kg

Cuadro 4.3 Promedio mensual de la hormona luteinizante en ovejas Pelibuey (ovariectomizadas y tratadas con 17 β estradiol) expuestas a condiciones de fotoperiodo natural o en fotoperiodo artificial.

Mes	Hormona luteinizante en plasma (ng/ml)	
	Promedio \pm error estándar	
	Fotoperiodo natural (n)	Fotoperiodo artificial (n)
Diciembre	7.52 ^a \pm 2.03 (7)	8.90 ^a \pm 1.71 (6)
Enero	8.00 ^a \pm 1.90 (7)	7.87 ^a \pm 1.60 (6)
Febrero	6.15 ^a \pm 1.80 (7)	6.46 ^a \pm 1.66 (6)
Marzo	4.70 ^a \pm 0.79 (7)	3.74 ^a \pm 0.36 (6)
Abril	4.88 ^a \pm 0.62 (7)	4.55 ^a \pm 0.62 (6)
Mayo	3.07 ^a \pm 0.43 (7)	5.52 ^b \pm 1.07 (6)
Junio	6.47 ^a \pm 0.76 (7)	6.49 ^a \pm 1.03 (6)
Julio	10.47 ^a \pm 0.49 (7)	10.43 ^a \pm 1.99 (6)
Agosto	13.34 ^a \pm 0.43 (7)	11.05 ^a \pm 2.38 (6)
Septiembre	11.71 ^a \pm 0.40 (7)	7.90 ^a \pm 2.05 (6)
Octubre	9.44 ^a \pm 0.36 (7)	6.55 ^a \pm 1.92 (6)
Noviembre	10.43 ^a \pm 0.82 (7)	12.79 ^a \pm 2.47 (6)

^{ab} Valores entre columnas que no comparten literal son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

 Meses de aplicación de un fotoperiodo largo (16 h luz por 8 h oscuridad).

 Meses de aplicación de un fotoperiodo corto (8 h luz por 16 h oscuridad).

Cuadro 4.4 Número de pulsos de hormona luteinizante en ovejas Pelibuey (ovariectomizadas y tratadas con 17β estradiol) sometidas a un fotoperiodo natural o en fotoperiodo artificial alterno.

Número de ventana	Tipo de fotoperiodo (Mes de muestreo)	Número de pulsos de LH en 6 h	
		Promedio \pm error estándar (n)	
		Fotoperiodo natural	Fotoperiodo artificial
1	Largo (enero)	5.57 ^b \pm 0.61 (7)	4.83 ^a \pm 0.70 (6)
2	Corto (mayo)	5.85 ^{ab} \pm 0.50 (7)	5.66 ^a \pm 0.61 (6)
3	Largo (agosto)	6.42 ^{ab} \pm 0.20 (7)	6.0 ^a \pm 0.51 (6)
4	Corto (noviembre)	5.42 ^b \pm 0.64 (7)	6.16 ^a \pm 0.47 (6)
5	Corto	No se muestreó	
6	Largo (abril)	5.42 ^b \pm 0.36 (7)	6.50 ^a \pm 0.61 (6)
7	Corto (agosto)	6.0 ^{ab} \pm 0.87 (7)	5.83 ^a \pm 0.54 (6)
8	Largo (noviembre)	7.85 ^a \pm 0.40 (7)	* 6.50 ^a \pm 0.42 (6)

^{ab} Valores de columna que no comparten literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

* Únicos valores entre grupo que fueron estadísticamente significativos ($P < 0.05$).

Cuadro 4.5 Amplitud de los pulsos de hormona luteinizante en ovejas Pelibuey (ovariectomizadas y tratadas con 17 β estradiol) sometidas a un fotoperiodo natural o en fotoperiodo artificial alterno.

Numero de ventana	Tipo de fotoperiodo (Mes de muestreo)	Amplitud de los pulsos de LH (ng/ml)	
		Promedio \pm error estándar (n)	
		Fotoperiodo natural	Fotoperiodo artificial
1	Largo (enero)	4.32 ^{ab} \pm 0.41 (7)	* 2.24 ^c \pm 0.52 (6)
2	Corto (mayo)	6.25 ^a \pm 0.67 (7)	7.53 ^{ab} \pm 1.09 (6)
3	Largo (agosto)	5.27 ^{ab} \pm 0.73 (7)	7.13 ^{abc} \pm 1.60 (6)
4	Corto (noviembre)	5.35 ^{ab} \pm 0.72 (7)	5.87 ^{ab} \pm 1.31 (6)
5	Corto	No se muestreó	
6	Largo (abril)	3.37 ^b \pm 0.63 (7)	2.52 ^{bc} \pm 0.28 (6)
7	Corto (agosto)	6.85 ^a \pm 1.28 (7)	9.75 ^a \pm 0.78 (6)
8	Largo (noviembre)	5.54 ^{ab} \pm 0.45 (7)	4.12 ^{abc} \pm 1.74 (6)

^{abc} Valores de columna que no comparten literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

* Únicos valores entre grupos que fueron estadísticamente significativos ($P < 0.01$).

Cuadro 4.6 Nivel plasmático mensual de 17 β estradiol en ovejas Pelibuey (ovariectomizadas y tratadas con estradiol) en condiciones de fotoperiodo natural o artificial.

Mes	N° OVEJA	Fotoperiodo natural							Fotoperiodo artificial							PROMEDIO ± error estándar.
		1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	
DIC 1994		5.52	1.05	2.8	2.64	5.76	2.55	6.73	1.62	1.6	2.55	4.71	8.44	2.31	3.02	3.7 ± 2.1
ENE 1995		1.79	2.89	0.3	1.87	1.94	0.55	1.31	1.25	1.35	1.52	0.8	2.37	5.13	7.44	2.2 ± 1.9
FEB		2.18	2.09	0.42	0.49	2.13	0.98	0.84	1.36	1.69	1.25	6.18	3.14	3.53	6.06	2.3 ± 1.8
MAR		1.98	0.85	0.15	2.5	5.47	0.46	1.52	0.9	1.28	4.72	2.46	1.62	1.61	1.03	1.9 ± 1.5
ABR		4.99	0.72	0.61	3.12	3.11	4.99	2.22	2.46	1.76	1.94	5.3	4.07	6.8	1.68	3.1 ± 1.8
MAY		3.74	0.1	0.43	0	4.47	0.8	0.74	1.75	2	8.09	1.03	2.48	1.22	3.96	2.2 ± 2.1
JUN		1.76	0.2	0.67	1.53	1.88	0.41	1.32	2.53	2.48	1.29	2.05	2.22	2.1	1.25	1.5 ± 0.7
JUL		2.64	0.61	0	3.19	0.25	0.54	1.65	1.43	2.07	0.06	1.05	2.09	4.5	5.81	1.8 ± 1.7
AGO		2.6	3.12	2.22	5.63	0.32	2.97	1.79	1.54	0	0.27	3.75	1.97	1.5	10.14	2.7 ± 2.5
SEP		1.85	3.17	2.16	0.3	3.64	0.41	0.1	1.78	0	0.4	2.04	1.97	1.16	1.28	1.4 ± 1.1
OCT		0.4	1.76	2.74	5.46	9.98	0.32	0.9	1.71	0	0.14	2.41	7.56	1.3	0.36	2.5 ± 2.9
DIC		1.67	7.94	3.96	4.95	0.34	0.53	1.14	2.06	1.56	1.93	1.18	4.04	2.13	1.54	2.5 ± 2.0
ENE 1996		4.58	2.23	1.72	1.91	0.97	1.04	0.95	1.59	2.41	1.29	1.29	2.88	0.12	1.11	1.7 ± 1.0
FEB		3.88	1.67	0.8	1.75	0.49	4.89	1.54	18.61	1.09	2.12	0.73	1.16	0.97	2.64	3.0 ± 4.5
MAR		0.55	0.33	1.37	2.32	1.97	1.32	1.07	9.39	1.57	2.25	0.91	2.64	3.53	1.28	2.2 ± 2.2
ABR		2.54	2.05	1.23	1.85	0.92	1.71	1.09	6.08	0.95	1.39	0.48	1.11	1.19	2.44	1.8 ± 1.3
MAY		1.3	2.79	1.12	4.3	1.1	0.66	0.49	11.33	1.04	2.54	2.82	0.78	0.17	1.3	2.3 ± 2.7
JUN		1.99	0.74	2.17	3.79	1.21	4.99	9.22	7.35	1.83	2.27	1.54	2.01	4.41	3.2	3.3 ± 2.4
JUL		2.09	0.59	3.08	2.81	10.8	0.99	1.19	4.55	0.91	0.9	5.17	0.94	1.52	2.65	2.7 ± 2.6
AGO		0.98	3.49	6.98	1.98	0.42	0.77	2.88	5.71	1.02	1.5	3.29	0.91	0.56	1.22	2.3 ± 1.9
SEP		0	0.3	0.08	0.48	0.72	0.68	0.96	0.38	0.48	0.48	0	0.98	0.73	1	0.5 ± .03
OCT		9.18	1.02	7.95	0.71	0.97	0	0.97	0.58	5.29	0.96	0.3	0.84	0.96	0.69	2.2 ± 2.9
NOV		0.94	0.14	0.16	0.43	0.29	0.9	0.74	0.48	0.5	1.33	0.55	1	1.03	0.73	0.7 ± 0.3

Figura 4.1 Perfil anual de secreción de hormona luteinizante en ovejas Pelibuey ovariectomizadas y tratadas con 17- β estradiol) mantenidas en condiciones de fotoperiodo natural.

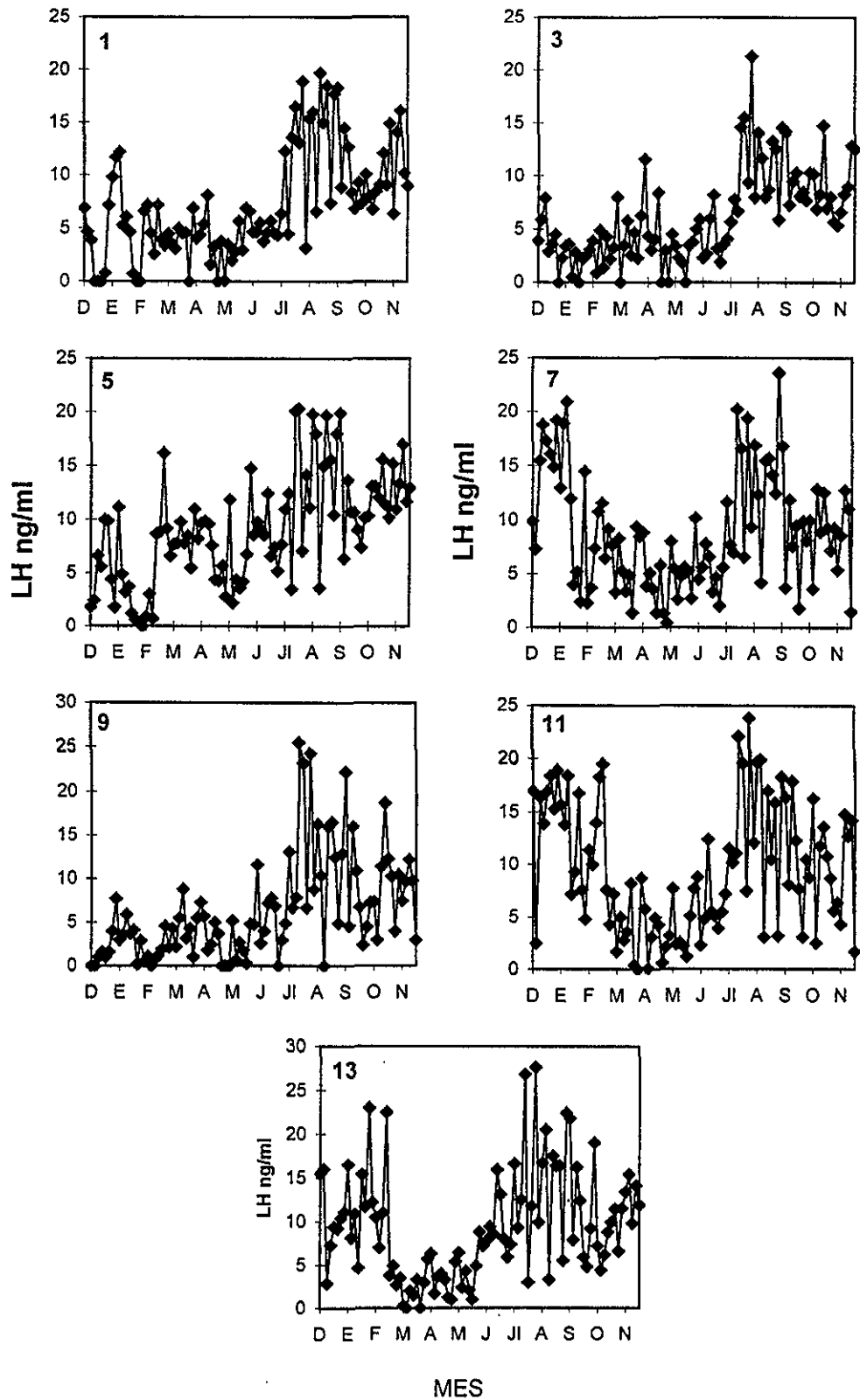
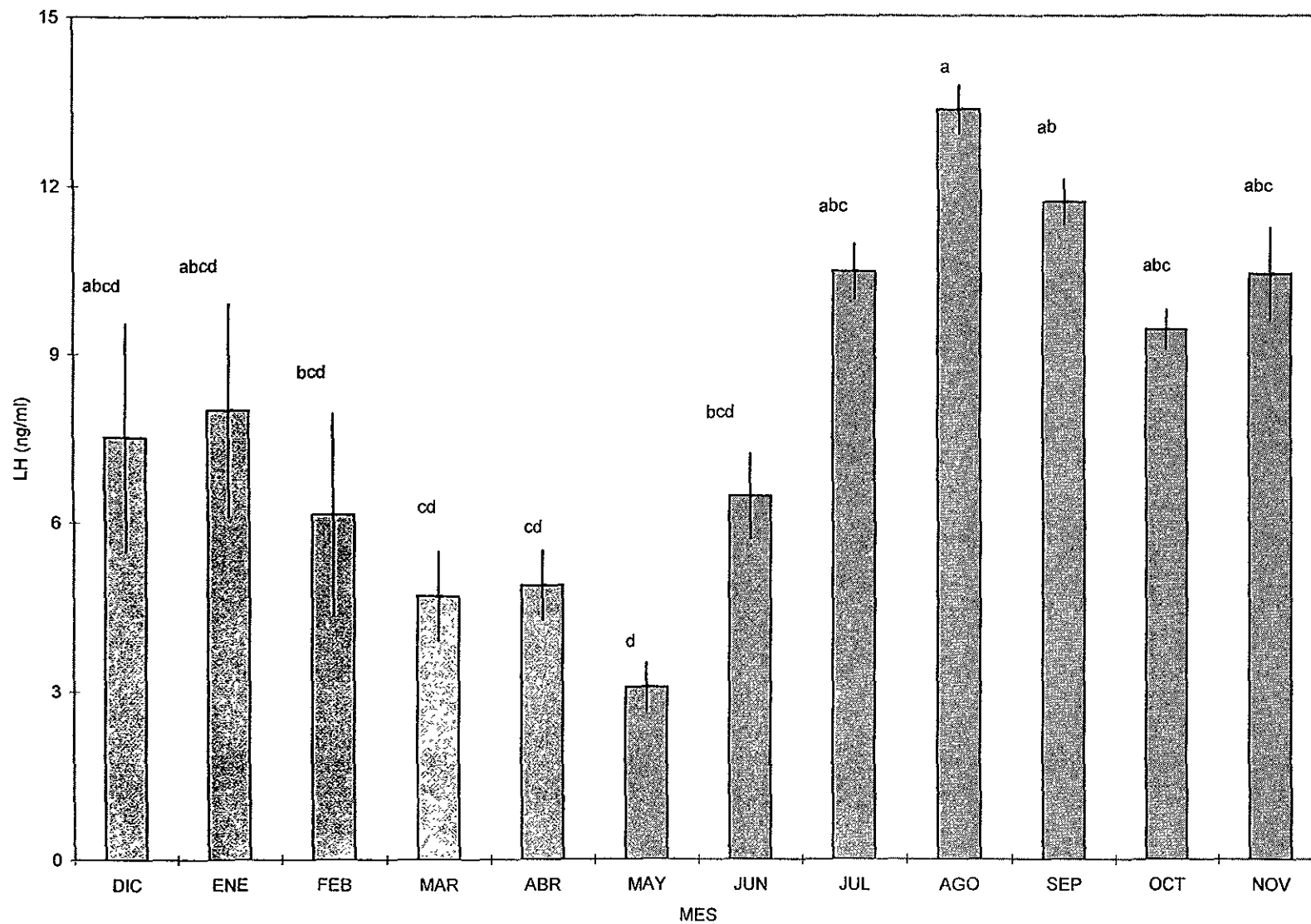


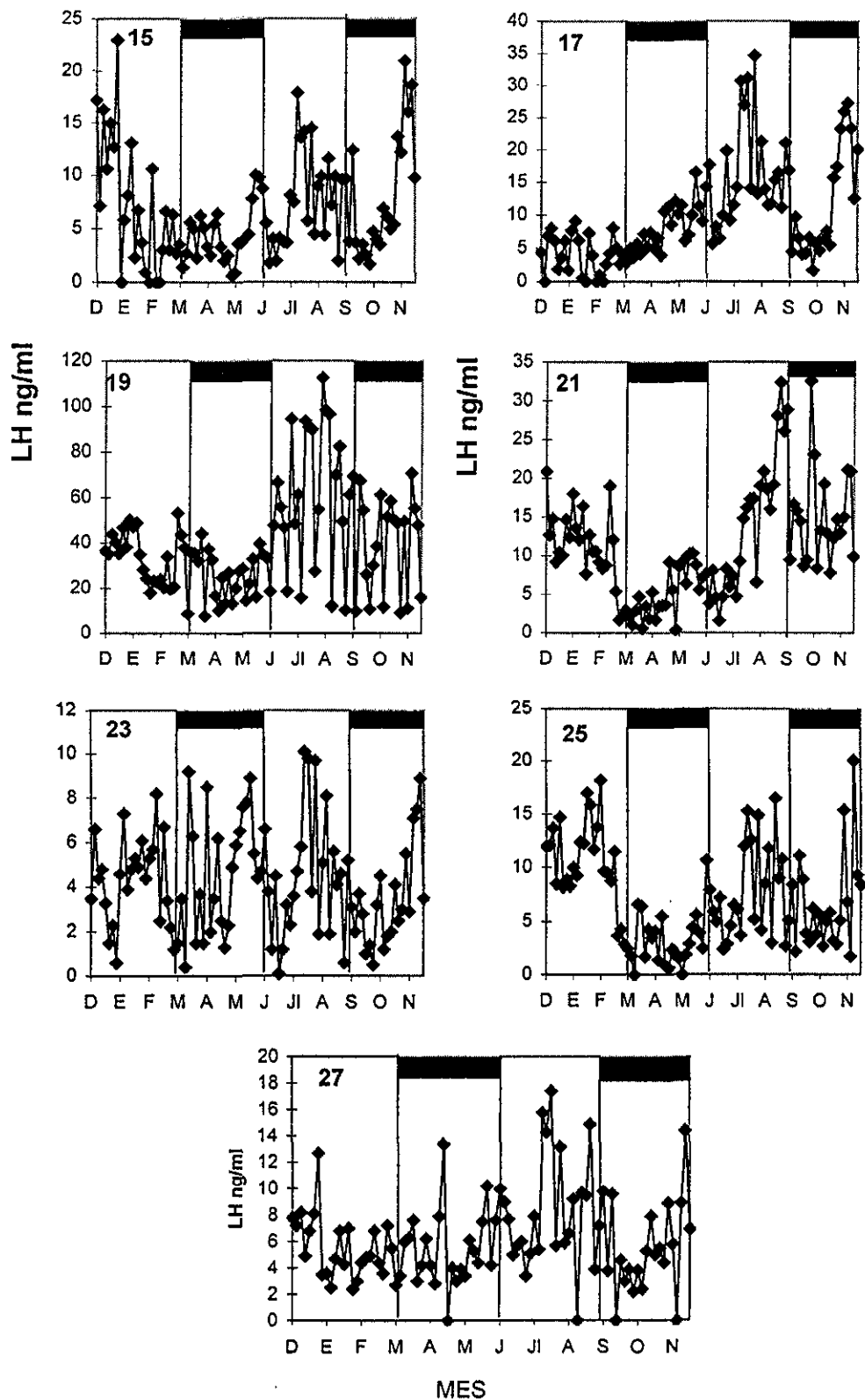
Figura 4.2 Promedio mensual de hormona luteinizante de ovejas Pelibuey (ovariectomizadas y tratadas con 17- β estradiol) en fotoperiodo natural.

68



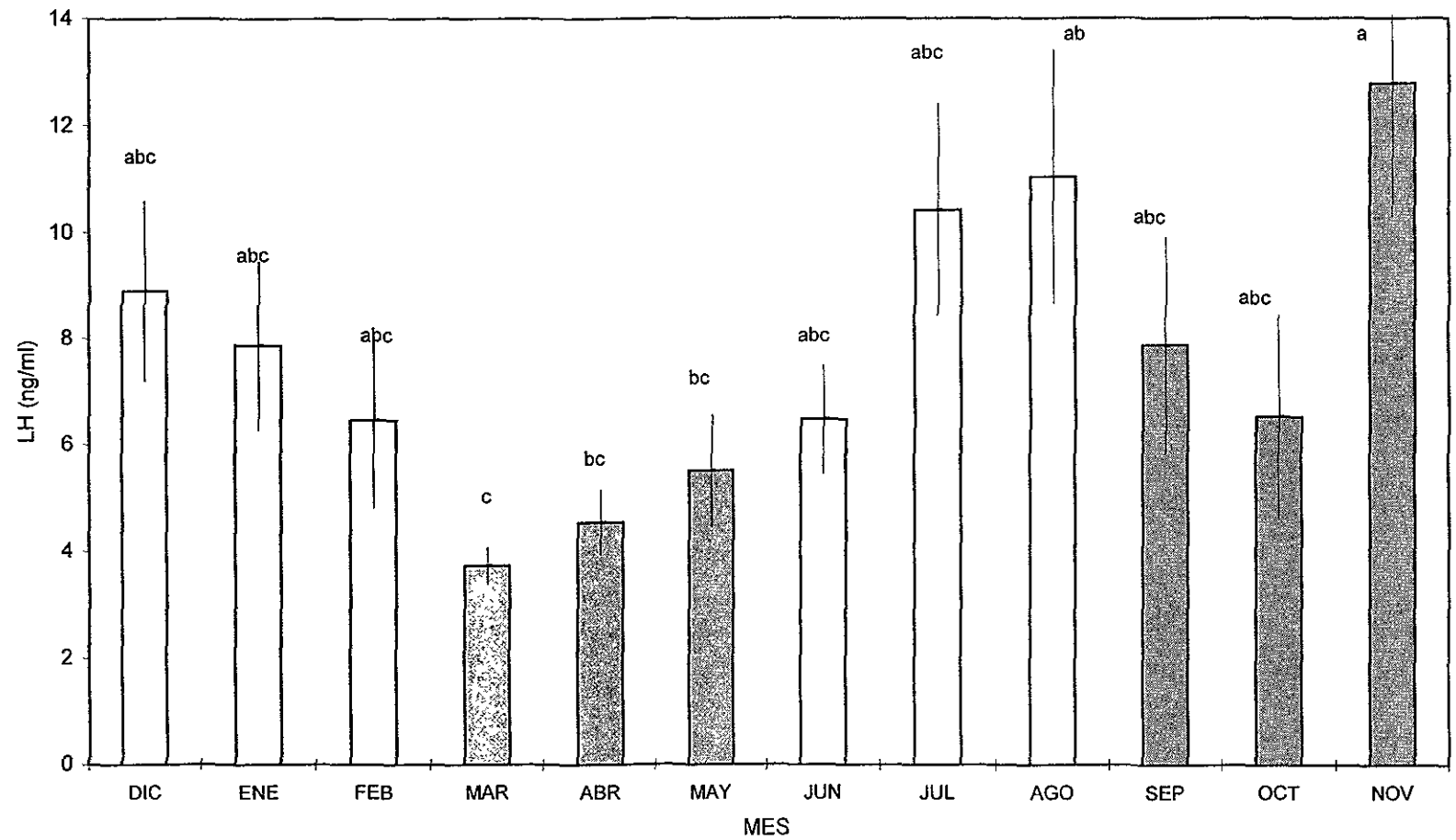
^{abcd} Valores medios entre columnas que no comparten literal son estadísticamente diferentes (P <0.01)

Figura 4.3 Perfil anual de secreción de hormona luteinizante en ovejas Pelibuey (ovariectomizadas y tratadas con 17 β estradiol) mantenidas en condiciones de fotoperiodo artificial alterno.





Los periodos de exposición a "días cortos" (8 h luz por 16 h oscuridad) se representan por una barra negra en la parte superior de cada figura, los demás periodos corresponden a "días largos" (16 h luz por 8 h oscuridad).

Figura 4.4 Promedio mensual de hormona luteinizante de ovejás Pelibuey (ovariectomizadas y tratadas con 17-β estradiol) en fotoperiodo artificial alterno.



91


 Fotoperiodo largo
 (16 h luz por 8 h oscuridad)


 Fotoperiodo corto
 (8 h luz por 16 h oscuridad)

^{abc} Valores medios entre columna que no comparten literal son estadísticamente significativos (P < 0.01)

CAPÍTULO V. EFECTOS DEL FOTOPERIODO ARTIFICIAL SOBRE LOS NIVELES DE PROLACTINA PLASMÁTICA DE LA OVEJA PELIBUEY

5.1 Resumen

Se determinaron los niveles plasmáticos de prolactina (PRL) en siete ovejas Pelibuey sometidas a condiciones de fotoperiodo artificial controlado, el cual consistió en aplicar alternadamente un fotoperiodo largo (16 h luz por 8 h oscuridad) durante 90 días, seguido de un fotoperiodo corto (8 h luz por 16 h oscuridad) durante 90 días, este procedimiento se repitió hasta completar un año de estudio. Se empleó una cámara de luz controlada aislada de la luz natural, en la cual se les administró luz artificial mediante lámparas de luz fluorescente, suficientes para una iluminación de 350 lux de intensidad. Tres meses antes de iniciar el estudio las ovejas fueron ovariectomizadas y se les colocó un implante subcutáneo con 17β estradiol, con el propósito de mantener niveles basales del esteroide. Se colectaron muestras de sangre dos veces por semana. Para cuantificar los niveles plasmáticos de PRL se utilizó un radioinmunoanálisis homólogo en fase líquida. La sensibilidad del ensayo fue de 0.25 ng/ml por tubo, los coeficientes de variación intra e interensayo fueron de 5.0% y de 11.0% respectivamente. Las concentraciones de prolactina plasmática se compararon en forma individual y entre tipo de fotoperiodo [largo (primer y tercer trimestres) y corto (segundo y cuarto trimestres)], mediante un análisis de varianza. Los niveles plasmáticos de PRL variaron significativamente ($P < 0.001$) por efecto del tipo de fotoperiodo aplicado, registrándose las concentraciones más bajas durante los fotoperiodos cortos [38.6 ± 8.6 y 22.4 ± 4.6 ng/ml (promedio \pm error estándar), para el segundo y cuarto trimestres respectivamente], y las concentraciones máximas se alcanzaron durante la aplicación de los fotoperiodos largos (103.7 ± 6.7 y 107.3 ± 7.0 ng/ml, para el primer y tercer trimestres respectivamente). Dichos resultados indican que el fotoperiodo es un factor externo que regula la secreción de PRL en la oveja Pelibuey.

5.2 Introducción

El fotoperiodo es una señal ambiental ampliamente utilizada por los animales para poder sincronizar los ciclos estacionales de diversos eventos biológicos, como la reproducción, la muda o crecimiento de lana, pelo o plumas, la producción láctea, la

ganancia y pérdida de grasa corporal, entre otros (Lincoln, 1992). Se conoce que el fotoperiodo regula la secreción de melatonina por la glándula pineal, hormona que a su vez afecta la actividad secretora de los diferentes tipos celulares de la adenohipófisis. De esta manera, el fotoperiodo puede influenciar la secreción de prolactina (PRL) por los lactotropos, lo que puede resultar en cambios estacionales en la producción de leche y afectar el ciclo de crecimiento y la muda de lana o pelo (Lincoln, 1992; Curlewis, 1992).

En ovejas europeas productoras de lana, la concentración plasmática de PRL se incrementa con los días largos y disminuye con los días cortos (Pelletier, 1973; Ravault, 1976; Lincoln *et al.*, 1978; Thimonier *et al.*, 1978; Munro *et al.*, 1980; Daveau *et al.*, 1994). Estas variaciones estacionales también se presentan en otros mamíferos domésticos que tienen estacionalidad reproductiva, como la cabra (Dicks *et al.*, 1994), y la yegua (Worthy *et al.*, 1987).

En contraste con la vasta información que existe sobre el patrón de secreción anual de PRL en especies con estacionalidad reproductiva, esta información es limitada y controversial para aquellas especies que no la presentan. La vaca y la cerda son especies consideradas reproductivamente no estacionales (Schams y Reinhardt, 1974; Ravault *et al.*, 1982), a pesar de lo cual en la vaca si se han detectado cambios en la concentración de PRL cuando se someten a fotoperiodos artificiales (Schams y Reinhardt, 1974). Sin embargo, en la cerda los cambios anuales en PRL no son tan marcados, quizá porque el fotoperiodo tiene poco o ningún efecto sobre su liberación (Ravault *et al.*, 1982).

En el caso de la oveja de pelo de raza Pelibuey, se tiene evidencia sobre la existencia de variaciones estacionales en la secreción anual de PRL, en una latitud (19° 13' LN) donde las fluctuaciones anuales en el fotoperiodo no exceden las 2.15 horas (Hernández, 1997). Es posible que estas variaciones anuales en la secreción de PRL estén asociadas a los cambios en la longitud del día, aunque es necesario evaluar directamente el efecto del fotoperiodo sobre la secreción de PRL en este tipo de animal.

5.3 Material y métodos

5.3.1 Localización

El presente estudio se realizó en el Centro de Enseñanza Práctica, Investigación y Extensión en Rumiantes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Nacional Autónoma de México, localizado en la delegación Tlalpan, D.F., en las coordenadas geográficas de 19° 13' de latitud norte y 99° 8' de longitud oeste, a una altura de 2800 msnm. El clima de la región es del tipo C(W) b(ij) es decir, semifrío-semihúmedo con lluvias en verano, con una precipitación pluvial de 800 a 1200 mm y una temperatura media anual de 10°C (García, 1981).

5.3.2 Animales y alimentación

Se utilizaron siete ovejas de la raza Pelibuey, con una edad y peso promedio de 3 años y 35.3 kg respectivamente. El sistema de alimentación estuvo compuesto por paja de avena a voluntad, ensilado de maíz, concentrado comercial a razón de 300 g/animal/día, agua y sales minerales *ad libitum*. La dieta se mantuvo constante durante el tiempo de estudio.

5.3.3 Diseño experimental

Tres meses antes de iniciar estudio, y con el fin de evitar las fluctuaciones de PRL que ocurren normalmente durante el ciclo estral (Curlewis, 1992), las ovejas fueron ovariectomizadas y se les aplicó un implante subcutáneo con 17 β estradiol, con la capacidad para mantener concentraciones circulantes basales del esteroide (3 a 5 pg/ml) durante el año de estudio; para la elaboración y aplicación de los implantes con estradiol se utilizó la metodología descrita por Karsch *et al.* (1973).

Las ovejas estuvieron expuestas a un fotoperiodo artificial controlado, el cual consistió en la aplicación alterna de un "fotoperiodo largo" (16 h luz por 8 h oscuridad, "día largo") durante 90 días, seguido por la exposición a un "fotoperiodo corto" (8 h luz por 16 h oscuridad, "día corto") durante los siguientes 90 días, hasta completar un año de estudio. Los fotoperiodos largos se aplicaron en el primer y tercer trimestres, mientras que en el segundo y cuarto trimestres se aplicó un fotoperiodo corto. Para la aplicación del calendario de luz artificial se utilizó una cámara de luz controlada aislada de la luz

natural, donde se administró luz artificial con lámparas de luz fluorescente capaces de suministrar una iluminación de 350 lux de intensidad a nivel de la cabeza del animal. En los fotoperiodos largos la luz se encendía desde las 5:00 am hasta las 21:00 pm, mientras que en los fotoperiodos cortos la luz se administraba desde las 8:00 am hasta las 16:00 pm. Las ovejas se sacaban diariamente de la cámara de luz controlada de las 8:00 am hasta las 15:00 pm cuando retornaban a la misma, independientemente del tipo de fotoperiodo que estuvieran recibiendo, es decir que la cámara de luz permitió complementar el régimen luminoso natural cuando se aplicaba un fotoperiodo largo, o aislar a las ovejas de la luz natural al aplicar un fotoperiodo corto.

Se obtuvieron muestras de sangre dos veces por semana (martes y viernes entre las 10:00 y 12:00 horas), empleando tubos heparinizados. Las muestras se centrifugaron a 3500 rpm durante 10 minutos inmediatamente después de su colección. El plasma colectado se mantuvo congelado (-20° C) hasta su análisis.

De manera complementaria, cada quince días se realizaba una inspección visual en cada oveja para determinar si habían ocurrido cambios evidentes en cuanto al posible crecimiento o pérdida de pelo y/o lana.

5.3.4 Análisis de las muestras

Para cuantificar los niveles plasmáticos de prolactina ovina se desarrolló un radioinmunoanálisis homólogo en fase líquida, utilizando el NIDDK-oPRL-I-1 como trazador y al anticuerpo NIDDK-anti-oPRL-2 (AFP C358106) como estándar (Perera, *et al.*, 1996a), la cuantificación de cada muestra se realizó por duplicado. La sensibilidad del ensayo es de 0.25 ng/ml por tubo, los coeficientes de variación intra e interensayo fueron de 5.0 % y de 11.0 % respectivamente, a la dosis de la curva estándar del 50% (B/BO).

5.3.5 Análisis estadístico

Las concentraciones de prolactina plasmática durante los fotoperiodos largos (aplicados en el primer y tercer trimestres) y los fotoperiodos cortos (segundo y cuarto trimestres) se compararon, en forma individual y entre tipo de fotoperiodo, mediante un análisis de varianza.

5.4 Resultados

En promedio las concentraciones de PRL plasmática variaron significativamente por efecto del tipo de fotoperiodo aplicado, registrándose los niveles más altos durante los días largos (103.7 ± 6.7 y 107.3 ± 7.0 ng/ml en el primer y tercer trimestres respectivamente), y los más bajos en los días cortos (38.6 ± 8.6 y 22.4 ± 4.6 ng/ml para el segundo y cuarto trimestres respectivamente) ($P < 0.001$). Se estimó el tiempo requerido para que los niveles plasmáticos de PRL se incrementaran o disminuyeran al menos en un 50% después de aplicar un nuevo régimen de luz. Los tratamientos luminosos ocasionaron un rápido descenso en los niveles de PRL a los 14.2 ± 2.5 días después de iniciar la aplicación de un fotoperiodo corto, y un incremento marcado se observó a los 7.2 ± 1.6 días después de iniciado un fotoperiodo largo.

En forma individual todas las ovejas mostraron el mismo comportamiento, es decir las concentraciones plasmáticas de PRL fueron significativamente más elevadas durante los fotoperiodos largos en comparación con los fotoperiodos cortos. La gráfica 5.1 muestra el comportamiento individual de los niveles plasmáticos de PRL durante el año de estudio.

5.5 Discusión

En este estudio se demostró que el fotoperiodo afecta la secreción de PRL en la oveja Pelibuey, de tal forma que la exposición a "días largos" incrementó los niveles plasmáticos de PRL, mientras que los "días cortos" los disminuyeron. Estos hallazgos son similares a los encontrados en diversos estudios que han aplicado fotoperiodos artificiales a ovejas y carneros de razas productoras de lana (Pelletier, 1973; Lincoln *et al.*, 1978; Poulton y Robinson, 1987). Es importante señalar que el cambio abrupto de un fotoperiodo corto a uno largo originó un incremento súbito en los niveles de PRL (7.2 ± 1.6 días después de iniciado un régimen de días largos), y una disminución semejante en el caso contrario (14.2 ± 2.5 días después de iniciar un régimen de días cortos). Esto coincide con Thiéry y Gallegos-Sánchez (1997) quienes señalan que la brusca disminución de la duración del día (de 16 h luz a 8 h luz por día) para inducir la actividad reproductiva en ovejas anéstricas, produce una reducción marcada en la secreción de prolactina, aproximadamente diez días después de haber iniciado el tratamiento luminoso.

En un estudio realizado en forma simultánea al presente, Hernández (1997) encontró que ovejas Pelibuey mantenidas en condiciones naturales (19° 13'LN) mostraron variaciones estacionales significativas en la secreción de PRL, lo que significa que esta oveja es capaz de percibir variaciones mínimas anuales en el fotoperiodo, como las que ocurren en esta latitud, donde los cambios en la longitud del día durante el año no exceden las 2.15 h, y a pesar de que esta oveja es considerada por algunos autores como una raza carente de estacionalidad reproductiva (González *et al.*, 1992a; Cruz *et al.*, 1994), es decir que el fotoperiodo no afecta su actividad reproductiva.

Hernández (1997) encontró que los niveles de PRL plasmática en la oveja Pelibuey se incrementaron a medida que la longitud del día aumentaba, hecho que coincide con la época de menor actividad estral en esta oveja (Valencia *et al.*, 1981; González *et al.*, 1991). Al respecto, existen estudios que han demostrado que bajo condiciones naturales existe una relación inversa entre la secreción de PRL y la de gonadotropinas (Pelletier y Ortavant, 1975; Lincoln *et al.*, 1978), es decir que los fotoperiodos largos favorecen la secreción de PRL aunque tienen un efecto adverso sobre la secreción de gonadotropinas.

McNeilly *et al.* (1983) señalaron que las concentraciones elevadas de PRL pudieran inhibir la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) mediante un mecanismo similar al que se presenta en roedores con hiperprolactinemia. Sin embargo, la aplicación de sustancias antagónicas a la PRL, como la bromocriptina, son incapaces de inducir el reinicio de la actividad ovárica durante el anestro de la oveja (McNeilly y Land, 1979; Land *et al.*, 1980). Tampoco la infusión de PRL ovina en los ventrículos del cerebro de ovejas ovariectomizadas y tratadas con estradiol afectó la secreción pulsátil de LH durante la época reproductiva o de anestro (Curlewis y McNeilly, 1991). En suma, existe amplia evidencia que indica que los niveles elevados de PRL durante los días largos no inhiben la secreción pulsátil de LH en la oveja.

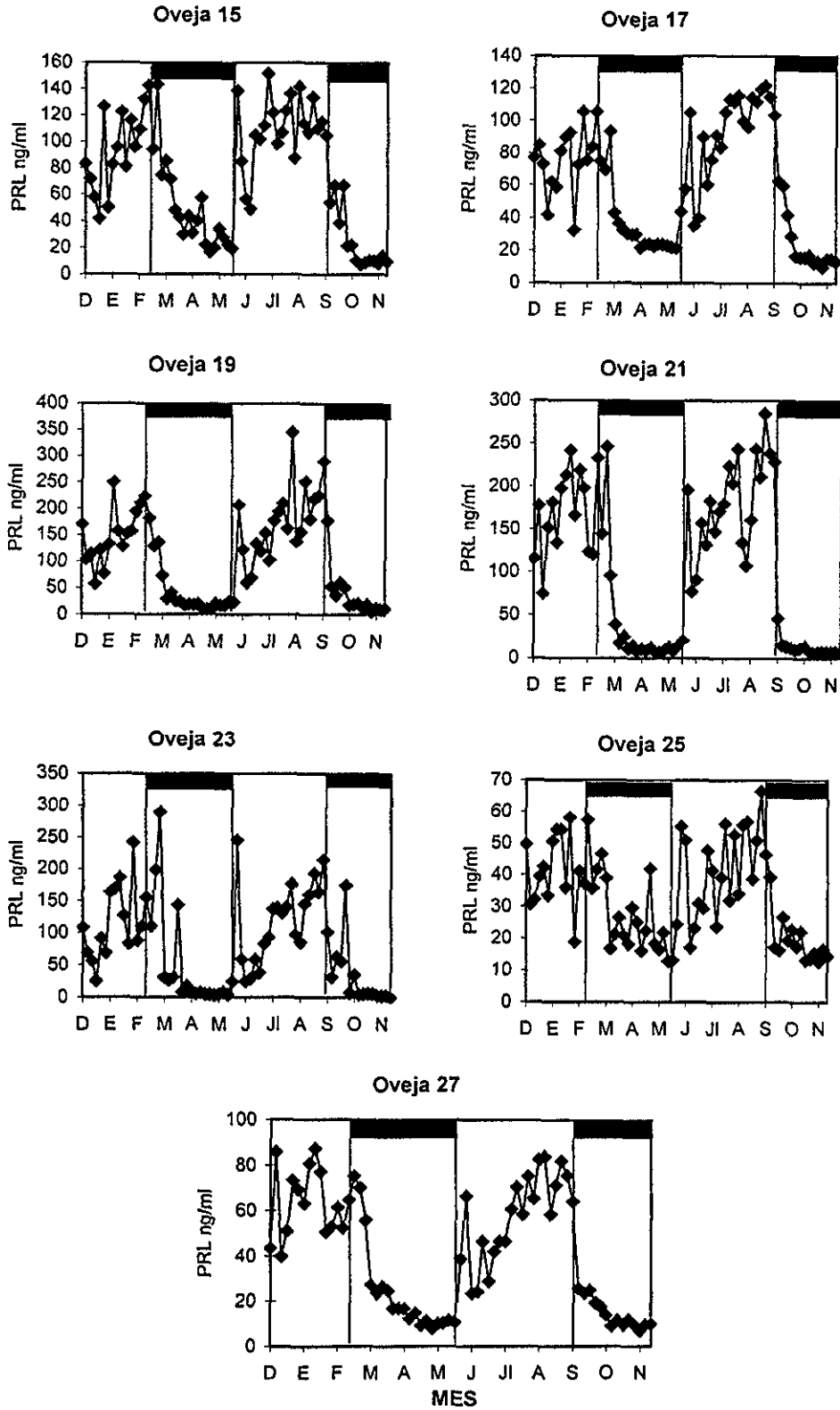
En el presente trabajo se utilizaron ovejas ovariectomizadas y provistas de un implante subcutáneo con 17 β estradiol con el objeto de evitar la interferencia de los esteroides ováricos sobre la secreción de PRL. Se conoce que el estradiol estimula

directamente la secreción de PRL en la hipófisis, por lo que los niveles de PRL se elevan durante el estro (Curlewis, 1992, Neill y Nagy, 1994). Por esta razón, se consideró conveniente contar con ovejas ovariectomizadas y provistas de un implante capaz de mantener concentraciones basales de 17β estradiol, y así evitar las variaciones cíclicas que presentan las ovejas intactas, que complicaría la interpretación de los resultados. Estudios previos han demostrado que la oveja ovariectomizada y tratada con estradiol es un modelo adecuado para estudiar las variaciones anuales en las concentraciones de prolactina (Munro *et al.*, 1980; Kennaway *et al.*, 1984).

La oveja Pelibuey es considerada como una oveja de pelo, pero puede presentar una capa de lana fina sobre su dorso, la cual desechan durante la época de muda (Berruecos *et al.*, 1975). En el presente trabajo se observó crecimiento de pelo y lana después de que las ovejas estuvieron expuestas a "días cortos", la cual mudaron durante los "días largos". Al respecto, diversos estudios señalan que el incremento en la cantidad de luz tiene un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de los folículos de lana, fenómeno que puede estar mediado por un incremento en las concentraciones plasmáticas de PRL (Pearson *et al.*, 1996). Dicks *et al.* (1994) indican que el incremento en la secreción de PRL que ocurre normalmente durante la primavera está involucrado en la reactivación de los folículos pilosos (primarios y secundarios), así como en la muda del "cashmere" en cabras. Es posible que en la oveja Pelibuey pudiera ocurrir un mecanismo similar.

En el presente trabajo se demostró que la oveja Pelibuey es capaz de responder a los cambios de fotoperiodo con modificaciones en el patrón de secreción de prolactina y con el desarrollo de pelo y lana.

Figura 5.1. Patrón de secreción de prolactina plasmática en ovejas Pelibuey ovariectomizadas, tratadas con un implante subcutáneo conteniendo 17 β estradiol y expuestas a fotoperíodos artificiales alternos.



Los periodos de exposición a "días cortos" (8 h luz por 16 h oscuridad) se representan con una barra negra en la parte superior de cada figura, los demás periodos corresponden a "días largos" (16h luz por 8 h oscuridad).

CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN

Aunque diversos estudios realizados en México señalan que la oveja Pelibuey presenta anualmente un "periodo de actividad estral reducida" entre los meses de enero y mayo (Valencia *et al.*, 1981; Heredia *et al.*, 1991ab; González *et al.*, 1991; González *et al.*, 1992a), tradicionalmente se ha considerado que la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey no es afectada por el fotoperiodo (González *et al.*, 1991; Cruz *et al.*, 1994). Sin embargo, dicha afirmación ha sido siempre hipotética, ya que no existen estudios que hayan evaluado directamente dicho efecto. En el presente estudio la aplicación de un calendario de luz artificial alterno (días largos y días cortos) originó que las ovejas presentaran periodos de inactividad ovulatoria (anestro) desfasados de su patrón reproductivo natural, lo cual constituye, una prueba incuestionable de que la oveja Pelibuey es capaz de responder al fotoperiodo.

En este estudio las ovejas que se mantuvieron en fotoperiodo natural (19° 13' LN) presentaron únicamente un periodo de anestro por año, entre los meses de enero y julio. Estos periodos de inactividad ovárica se presentaron a pesar de que las ovejas se mantuvieron en el mismo plano de nutrición durante todo el año, lo que sugiere que son originados por cambios en el fotoperiodo. En las ovejas ovariectomizadas de este grupo se detectaron variaciones mensuales en los niveles de LH plasmática, registrándose las concentraciones más bajas durante los meses de diciembre a junio y las más altas de julio a noviembre, tal como se ha sido descrito en diversos estudios con ovejas productoras de lana en las que dichos cambios son controlados por el fotoperiodo (Legan *et al.*, 1977; Legan y Karsch, 1980; Thimonier, 1981; Webster y Haresign, 1983; Kennaway *et al.*, 1984). Estas variaciones mensuales en las concentraciones de LH de las ovejas ovariectomizadas mantenidas en fotoperiodo natural coinciden con los cambios en la actividad ovárica de las ovejas intactas mantenidas en el mismo fotoperiodo, las cuales presentaron en el primer año de estudio un periodo de inactividad ovulatoria entre los meses de enero a mayo, lapso en que se detectaron las menores concentraciones de LH en las ovejas ovariectomizadas, mientras que el periodo de actividad reproductiva de las ovejas intactas ocurrió cuando los niveles de LH se incrementaron marcadamente en las ovejas ovariectomizadas.

Adicionalmente, las ovejas mantenidas en fotoperiodo natural dejaron de ciclar durante la primavera de ambos años, por lo que tuvieron un promedio menor de ciclos ovulatorios en la primavera (2.62) que en las restantes estaciones del año, aún cuando se mantuvieron con alimentación adecuada y en buenas condiciones corporales durante todo el estudio. Al respecto, Martínez *et al.* (1995) indican que ovejas Pelibuey en pastoreo presentan una menor actividad ovárica durante la primavera, aunque durante la misma se registren los mejores pesos y condiciones corporales en los animales, lo que sugiere que la disminución de la actividad ovárica está principalmente asociada a factores externos como el fotoperiodo, y no a una mayor o menor disponibilidad de alimentos.

El efecto del fotoperiodo se confirmó ampliamente en las ovejas mantenidas en fotoperiodo artificial, en las cuales fue posible inducir periodos de inactividad reproductiva en diferentes épocas del año en respuesta a cambios en el fotoperiodo. Así, la aplicación de un fotoperiodo artificial alterno permitió que las ovejas del grupo tratado manifestaran dos periodos de actividad ovárica y dos de anestro cada año. Esto provocó que el número promedio de días en anestro cada año, fuera mayor en el grupo tratado (153.8 ± 12.4 días) que en el grupo testigo (86.3 ± 15.4 días) ($P < 0.05$). En ovejas con estacionalidad reproductiva es posible inducir cambios marcados en la secreción de LH al exponerlas a fotoperiodos artificiales (Legan y Karsch, 1980; Karsch *et al.*, 1984). En este trabajo se pudo comprobar que la secreción media de LH en ovejas Pelibuey disminuyó después de aplicar un fotoperiodo largo, y se incrementó con los fotoperiodos cortos. En forma inversa se comportó la secreción de PRL, es decir, los "días largos" incrementaron los niveles plasmáticos de PRL y los "días cortos" los disminuyeron. Estos hallazgos son similares a los encontrados en diversos estudios que han aplicado fotoperiodos artificiales a ovejas y carneros de razas productoras de lana (Pelletier, 1973; Lincoln *et al.*, 1978; Kennaway *et al.*, 1984; Poulton y Robinson, 1987).

También los cambios en el nivel medio de LH se relacionaron con la actividad reproductiva de las ovejas intactas que permanecieron en la misma cámara de fotoperiodo, las cuales cesaron su actividad reproductiva 65.6 ± 7.2 días después de haberlas expuesto a un fotoperiodo largo, mientras que el reinicio de la misma ocurrió 59.7 ± 3.3 días posterior a la aplicación de un fotoperiodo corto. En relación al tiempo que

necesitaron las ovejas expuestas a un fotoperiodo artificial para responder a los cambios de luz, Hulet y Shelton (1980) indican que se necesitan de 9 a 25 semanas para que un tratamiento con luz artificial tenga efecto, el intervalo medio a la respuesta en este estudio se ubica dentro del rango señalado (63.1 ± 4.4 días). Tal como ocurre en otros tipos de ovejas (Malpaux *et al.*, 1989; Wayne *et al.*, 1990) la historia fotoperiódica previa influyó en el tiempo de respuesta. Así, al iniciar el estudio las ovejas se encontraban en un fotoperiodo natural decreciente, y al aplicarles un fotoperiodo largo la respuesta se produjo en 58.7 ± 13.8 días. En cambio en el sexto semestre, cuando las ovejas habían sido mantenidas en un fotoperiodo artificial corto durante seis meses, la respuesta al fotoperiodo largo se produjo en 31.5 ± 2.5 días. Esto podría indicar que existe un fenómeno de fotorrefractoriedad hacia el fotoperiodo corto, que provoca que la respuesta al fotoperiodo largo sea más rápida después de haber sido expuestas a un fotoperiodo corto durante varios meses. Sin embargo, podrían requerirse alrededor de seis meses de exposición para que esta fotorrefractoriedad se pueda expresar, ya que en el tercer trimestre, cuando las ovejas solamente habían estado expuestas a un fotoperiodo corto durante tres meses la respuesta al fotoperiodo largo tardó 100 ± 4.8 días en producirse. En condiciones naturales esto permitiría que las ovejas dejaran de ciclar alrededor de 60 a 90 días después del solsticio de invierno, tal como ocurre en la realidad.

En este trabajo se utilizaron ovejas ovariectomizadas y tratadas con 17β estradiol para determinar el efecto del fotoperiodo sobre la secreción pulsátil de LH, este modelo experimental ha demostrado producir cambios marcados en la pulsatilidad de la LH asociados con la actividad reproductiva de la oveja (Karsch *et al.*, 1984). Aunque el modelo permitió detectar cambios en las concentraciones plasmáticas promedio de LH en las ovejas de ambos grupos, los cambios detectados en el patrón de secreción pulsátil de LH no fueron lo suficientemente claros para poder explicar las variaciones encontradas en las concentraciones medias de LH. En este trabajo se emplearon implantes de 3cm de largo por 0.32 cm de diámetro interno, los cuales de acuerdo a la literatura son capaces de mantener en la oveja concentraciones de 3 a 5 pg/ml de 17β estradiol en forma constante (Karsch *et al.*, 1973). Sin embargo, en el presente trabajo las concentraciones de estradiol se mantuvieron en niveles más bajos. Por lo que es posible que la falta de concentraciones adecuadas de estradiol durante el anestro no permitieran deprimir

totalmente los niveles de LH, lo que significa que la frecuencia de los pulsos de LH no se redujo, como ha sido señalado en otros estudios (Goodman *et al.*, 1982; Karsch *et al.*, 1984; Joseph *et al.*, 1992).

Por otra parte, la inactividad ovárica en las hembras mantenidas en fotoperiodo natural en el presente estudio tuvo una duración promedio de 86.3 ± 15.4 días. Esto equivale a un periodo de anestro corto (2.8 meses) si se compara con el que se presenta en la mayoría de las razas de ovejas productoras de lana, en las cuales la época de anestro suele tener una duración superior a los cinco meses (Thimonier y Mauléon, 1969; Land *et al.*, 1973; Wheeler y Land, 1977). Sin embargo, también existen razas productoras de lana que presentan anestros de corta duración comparables a los de este estudio, tales como la Merino (González *et al.*, 1980), la Manchega Española (Saiz *et al.*, 1980), y la Tadmit (Ammar-Khodja y Brudieux, 1982).

La existencia de anestros tan breves ocasiona que las ovejas puedan reiniciar su actividad reproductiva aún antes del solsticio de verano, situación que ha causado confusión, porque tradicionalmente la oveja ha sido considerada como especie de "días cortos", por su capacidad para reproducirse cuando la cantidad de horas luz disminuye (Hulet y Shelton, 1980; Levasseur y Thibault, 1980). Esta tendencia de las ovejas Pelibuey para comenzar a ciclar cuando los días son más largos es uno de los argumentos que se han utilizado para señalar que su estacionalidad no es controlada por el fotoperiodo. Sin embargo, en el presente estudio es evidente que el fotoperiodo largo provoca inicialmente una inhibición de la actividad ovárica. Es posible que después de varios meses de exposición al fotoperiodo largo se produzca un fenómeno de fotorrefractoriedad similar, pero más rápido, al que se ha descrito en ovejas Suffolk (Robinson *et al.*, 1985b; Malpoux *et al.*, 1989). Esto implicaría que en condiciones naturales la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey no se inicia por la exposición a un fotoperiodo corto, sino por una pérdida de sensibilidad al fotoperiodo largo. El fotoperiodo corto sería necesario para mantener por tiempo suficiente la época de actividad reproductiva, ya que en el presente trabajo se demostró que el periodo de actividad ovárica fue más prolongado cuando las ovejas permanecieron durante seis meses en

fotoperiodos cortos (151.7 ± 6.9 días; promedio \pm error estándar) que cuando solo permanecieron tres meses en días cortos (110 ± 9.9 días).

En ambos grupos, la duración del periodo de inactividad ovárica varió marcadamente entre ovejas (rango de 18 a 189 días). En forma semejante, Saiz *et al.* (1980) encontraron en ovejas de la raza Manchega individuos que presentaron periodos reducidos de anestro (40 días) e incluso existen ovejas con la capacidad para ciclar continuamente. Thimonier y Mauléon (1969) señalan que la duración de la época reproductiva es variable debido a un efecto de raza, pero también dentro de una raza existe variación individual, siendo posible encontrar individuos con periodos reducidos de anestro. Adicionalmente, Wheeler y Land (1977) indican que la estacionalidad reproductiva no es una condición de "todo o nada", es decir, existe la posibilidad de encontrar individuos que presente actividad estral y ovulatoria en cualquier época del año. Esta variabilidad podría facilitar la creación de programas de selección genética que permitiesen desarrollar una línea de ovejas Pelibuey que efectivamente tuvieran actividad reproductiva continua.

La oveja Pelibuey es considerada como una oveja de pelo, pero puede presentar una capa de lana fina sobre su dorso, la cual desecha durante la época de muda (Berruecos *et al.*, 1975). En el presente trabajo fue posible observar crecimiento de pelo y lana después de que las ovejas estuvieron expuestas a "días cortos", la cual mudaron durante los "días largos". Al respecto, Pearson *et al.* (1996) señalan que el incremento en la cantidad de luz tiene un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de los folículos de lana, fenómeno que puede estar mediado por un incremento en las concentraciones plasmáticas de PRL. En este estudio, el cambio abrupto de un fotoperiodo corto a uno largo originó 7.2 ± 1.6 días después un incremento súbito en los niveles de PRL, y una disminución marcada a los 14.2 ± 2.5 días de iniciado un régimen de días cortos. Thiéry y Gallegos-Sánchez (1997) señalan que la brusca disminución de la duración del día (de 16 h luz a 8 h luz por día) utilizada para inducir la actividad reproductiva en ovejas anéstricas, produce una reducción marcada en la secreción de prolactina, aproximadamente diez días después de iniciado el tratamiento luminoso.

En un estudio realizado simultáneamente al presente se encontró que las ovejas Pelibuey mantenidas en condiciones naturales (19° 13'LN) mostraron variaciones estacionales significativas en la secreción de PRL, cuyas concentraciones se incrementaron a medida que la longitud del día aumentaba y disminuyeron al decrecer la misma (Hernández, 1997). La clara influencia del fotoperiodo artificial sobre las concentraciones de prolactina encontradas en el presente estudio son una evidencia adicional de que la oveja Pelibuey posee un sistema neuroendocrino plenamente capaz de captar la información fotoperiódica. Finalmente, es evidente que las variaciones estacionales en la secreción de prolactina están positivamente correlacionadas con la longitud del día, mientras que las variaciones estacionales en la secreción de gonadotropinas estuvieron relacionadas directamente con la actividad reproductiva.

Conclusiones

Los resultados del presente estudio demuestran que la oveja Pelibuey tiene estacionalidad reproductiva real influenciada por el fotoperiodo, que dicha estacionalidad se manifiesta independientemente de la disponibilidad de alimentos, y que en condiciones naturales el fotoperiodo provoca periodos relativamente cortos de inactividad ovárica que se presentan entre enero y julio. La exposición a fotoperiodos cortos estimula el inicio de la actividad ovárica y colabora para que la oveja se mantenga ciclando, mientras que exposición a fotoperiodos largos induce el cese de la actividad ovárica.

El fotoperiodo es capaz de afectar directamente la secreción de LH y prolactina en ovejas Pelibuey ovariectomizadas y tratadas con implantes subcutáneos con 17 β estradiol. Los cambios en la secreción de LH se asociaron con la actividad ovulatoria de ovejas Pelibuey intactas. Sin embargo, las variaciones en el patrón de secreción pulsátil de LH no fueron lo suficientemente claras para poder explicar las variaciones en la concentraciones medias de LH.

CAPÍTULO VII. LITERATURA CITADA

Alvarez LJA. Oferta y demanda de ovinos en México (Estadísticas). Memorias del curso; Experiencia en la Producción de ovinos de pelo en el CEIEGT ; 1995 agosto 21-23 ; Martínez de la Torre (Veracruz) México. México (DF) : Universidad Nacional Autónoma de México, 1995 : 1-7.

Ammar-Khodja F, Brudieux R. Seasonal variations in the cyclic luteal ovarian activity in the Tadmit ewe in Algeria. *J Reprod Fertil* 1982 ;65 :305-311.

Baird DT, Scaramuzzi RJ. Changes in the secretion of ovarian steroids and pituitary luteinizing hormone in the peri-ovulatory period in the ewe: The effect of progesterone. *J Endocrinol* 1976 ;70 :237-245.

Balcázar SJA. Efecto de la suplementación alimenticia sobre la eficiencia reproductiva de corderas Pelibuey inducidas a la pubertad con acetato de melengestrol (tesis de licenciatura). México (DF) México : Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1992.

Berardinelli JG, Godfrey RW, Adair R, Lunstra DD, Byerley DJ, Cardenas H, Randel RD. Cortisol and prolactin concentrations during three different seasons in relocated Brahman and Hereford bulls. *Theriogenology* 1992 ;37 :641-654.

Berruecos VJ, Valencia ZM, Castillo RH. Genética del borrego Tabasco o Peligüey. *Téc Pecu Méx* 1975 ;29 :59-65.

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

Bittman EL, Karsch FJ. Nighly duration of melatonin secretion determines the reproductive response to inhibitory day length in the ewe. *Biol Reprod* 1984 ;30 :585-593.

Bittman EL, Weaver DR. The distribution of melatonin binding sites in neuroendocrine tissue in the ewe. *Biol Reprod* 1990 ;43 :986-993.

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

Branden AWH, Moule GR. Effects of stress on ovarian morphology and oestrous cycles in ewes. *Aust J Agric Res* 1964 ;15 :937-949.

Bronson FH, Heideman PD. Seasonal regulation of reproduction in Mammals. In: Knobil E, Neill JD, editors. *The Physiology of Reproduction*. New York : Raven Press, 1994 : 541-583.

Carles AB, Kipngeno WAK. The effect of season and the introduction of rams on oestrous activity in Somali , Nandi, Merino, Karakul and New Zealand Romney Marsch ewes in Kenya. *Anim Prod* 1986 ;43 :447-457.

Castillo RH, Valencia ZM, Berruecos JM. Comportamiento reproductivo del borrego "Tabasco" mantenido en clima tropical y subtropical. I. Índices de fertilidad. *Téc Pecu Méx* 1972 ;20 :52-56.

Clarke IJ, Tilbrook AJ. Influence of non-photoperiodic environmental factors on reproduction in domestic animals. *Anim Reprod Sci* 1992 ;28 :219-228.

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. UNAM, 1993.

Cruz LC, Escobar MJ, Fernández-Baca S. Edad al primer parto e intervalo entre partos en ovejas Tabasco. *Memorias de la VIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal* ; 1981 octubre 4-10 ; Santo Domingo, República Dominicana. República Dominicana (Santo Domingo) : Asociación Latinoamericana de Producción Animal, 1981 : F45.

Cruz LC, Fernández-Baca S, Escobar MFJ, Quintana F. Edad al primer parto e intervalo entre partos en ovejas Tabasco en el trópico húmedo. *Veterinaria Méx* 1983 ;14 :1-5.

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

Cruz LC. Generalidades de ovinos de pelo: Origen, distribución, razas, características. *Memorias del curso; Experiencia en la Producción de ovinos de pelo en el CEIEGT* ; 1995 agosto 21-23 ; Martínez de la Torre (Veracruz) México. México (DF) : Universidad Nacional Autónoma de México, 1995 : 8-16.

Cruz R. La glándula pineal y órganos circunventriculares. En: Zárate TA, Morán VCE, Feria VA, Kubli GC, editores. *Fundamentos de Neuroendocrinología*. México : Fondo de Cultura Económica, 1993 : 53-72.

Curlewis JD, McNeilly AS. Prolactin short-loop feedback and prolactin inhibition of LH secretion during breeding and seasonal anoestrus in the ewe. *Neuroendocrinology* 1991 ;54 :279-285.

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

Chemineau P, Malpoux B, Thiéry JC, Vigié C, Morello H, Zarazaga L, Pelletier J. The control of seasonality: A challenge to small ruminant breeding. In: Enne G, Greppi GP, Lauria A, editors. *Reproduction and Animal Breeding, Advances and Strategy*. Paris : Elsevier, 1995 :225-250.

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 Lucas TJ, González PE, Martínez RL. Estacionalidad reproductiva en ovejas de cinco razas en el Altiplano Central Mexicano. *Téc Pecu Méx* 1997 ;35 :25-31.

Dicks P, Russel AJF, Lincoln GA. The role of prolactin in the reactivation of hair follicles in relation to moulting in Cashmere goats. *J Endocrinol* 1994 ;143 :441-448.

Dobson H. A Radioimmunoassay Laboratory Handbook ; with especial reference to hormones of reproduction. England : Liverpool University Press, 1983.

Doney JM, Gunn RG, Smith WF, Carr WR. Effects of pre-mating environmental stress, ACTH, cortisone acetate or metyrapone on oestrus and ovulation in sheep. *J Agric Sci* 1976 ;87 :127-132.

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

Ducker MJ, Bowman JC. Photoperiodism in the ewe. 3. The effects of various patterns of increasing daylength on the onset of anoestrus in Clun-Forest ewes. *Anim Prod* 1970 ;12 :465-471.

Feldman SD, Valencia MJ, Zarco QL. Postpartum ovarian activity of the ewe in Mexico. Proceedings of the 11 th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination ; 1988 ; Dublin, Ireland. Ireland (Dublin) : University College Dublin, 1988 :29.

Findlay JK, Cummins IA. FSH in the ewe: Effects of season, liveweight and plane of nutrition on plasma FSH and ovulation rate. *Biol Reprod* 1976 ;15 :335-342.

Flowerdew JR. The effect of natural and artificial changes in food supply on breeding in woodland mice and voles. *J Repro Fertil* 1973 ;19 :259-269.

Follet BK. Photoperiodism and seasonal breeding in birds and mammals. In: Crighton DB, Foxcroft GR, Haynes NB, Lamming GE, editors. Control of ovulation. London : Butterworths, 1978 :267-293.

García E. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 3a. Edición. México : Instituto de Geografía UNAM, 1981.

González LJ, Saiz CF, Alvarez MJ. Actividad cíclica de la oveja Merina. Memorias del IX Congreso Internacional de Reproducción Animal e I.A. 1980 ; Madrid España. España (Madrid) 1980 : Vol.III: 107.

González RA, Valencia MJ, Foote WC, Murphy BD. Hair sheep in Mexico: Reproduction in the Pelibuey sheep. *Anim Breed Abstr* 1991 ;59 :509-524.

Gonzalez A, Murphy BD, Foote WC, Ortega E. Circannual estrous variations and ovulation rate in Pelibuey ewes. *Small Rumin Res* 1992a ;8 :225-232.

Gonzalez A, Foote WC, Murphy BD, Ortega E. Seasonal variations in circulating testosterone and luteinizing hormone in Pelibuey Lambs. *Small Rumin Res* 1992b ;8 :233-242.

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

Goodman RL, Legan SJ, Ryan KD, Foster DL, Karsch FJ. Importance of variations in behavioural and feedback actions of oestradiol to control of seasonal breeding in the ewe. *J Endocrinol* 1981 ;89 :229-240.

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

Hambolu JO, Ojo SA, Jamdar MN, Molokwu ECI. Ovarian activity of Yankasa sheep using abattoir specimens. *Theriogenology* 1985 ;23 :263-272.

Havern RL, Whisnant CS, Goodman RL. Hypothalamic sites of catecholamine inhibition of LH in the anestrus ewe. *Biol Reprod* 1990 ;44 :476-482.

Heredia A, Menéndez TM, Velázquez MA. Factores que influyen en la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria 1991 ; Ciudad Victoria (Tamaulipas) México. México (DF) : Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias SARH, 1991a :115.*

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 1991 ; Ciudad Victoria (Tamaulipas) México. México (DF) : Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias SARH, 1991b :95.*

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

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

Igono MO, Molokwu ECI, Aliu YO. Effect of season estrous cycle of Yankasa sheep. *Theriogenology* 1982 ;18 :261-266.

Jackson GL, Leshin LS, Schillo KK. Effect of frontal hypothalamic deafferentation on duration of breeding season and melatonin secretion in the ewe. *Biol Reprod* 1986 ;35 :1277-1288.

Joseph IBJK, Currie WD, Rawlings NC. Effects of time after ovariectomy, season and oestradiol on luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion in ovariectomized ewes. *J Reprod Fertil* 1992 ;94 :511-523.

Karsch FJ, Dierschke DJ, Weick RF, Yamaji T, Hotchkiss J, Knobil E. Positive and negative feedback control of luteinizing hormone secretion in the *rhesus* monkey. *Endocrinology* 1973 ;92 :799-804.

Karsch FJ, Foster DL, Bittman EL, Goodman RL. A role for estradiol enhancing luteinizing hormone pulse frequency during the follicular phase of the estrous cycle of sheep. *Endocrinology* 1983 ;113 :1333-1339.

Karsch FJ. Endocrine and environmental control of oestrous cyclicity in sheep. In: Lindsay DR, Pearce DT, editors. *Reproduction in Sheep*. New York : Cambridge University Press, 1984 :10-15.

Karsch FJ, Bittman EL, Foster DL, Goodman RL, Legan SJ, Robinson JE. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Rec Prog 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, Robinson JE, Woodfill CIJ, Brown MB. Circannual cycles of luteinizing hormone and prolactin secretion in ewes during 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 Endocrinol* 1984 ;102 :199-207.

Knight TW, Peterson AJ, Payne E. The ovarian and hormonal response of the ewe to stimulation by the ram early in the breeding season. *Theriogenology* 1978 ;10 :343-353.

Land RB, Pelletier J, Thimonier J, Mauléon P. A quantitative study of genetic differences in the incidence of oestrus, ovulation and plasma luteinizing hormone concentration in the sheep. *J Endocrinol* 1973 ;58 :305-317.

Land RB, Carr WR, McNeilly AS, Preece RD. Plasma FSH, LH, the positive feedback of oestrogen, ovulation and luteal function in the ewe given bromocriptine to suppress prolactin during seasonal anoestrus. *J Reprod Fertil* 1980 ;59 :73-78.

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. *Endocrinology* 1977 ;101 :818-824.

Legan SJ, Karsch FJ. Neuroendocrine regulation of the estrous cycle and seasonal breeding in the ewe. *Biol Reprod* 1979 ;20 :74-85.

Legan SJ, Karsch FJ. Photoperiodic control of seasonal breeding in ewes: Modulation of negative feedback action of estradiol. *Biol Reprod* 1980 ;23 :1061-1068.

- Legan SJ, Winans SS. The photoneuroendocrine control of seasonal breeding in the ewe. *Gen Comp Endocrinol* 1981 ;45 :317.
- Legan SJ, Karsch FJ. Importance of retinal photoreceptors to the photoperiodic control of seasonal breeding in the ewe. *Biol Reprod* 1983 ;29 :316-325.
- Levasseur MC, Thibault C. Reproductive Life Cycles. In: Hafez ESE, editor. *Reproduction in Farm Animals*. Philadelphia : Lea & Febiger, 1980 :130-149.
- Levine JE, Pau KYF, Ramirez VD, Jackson GL. Simultaneous of luteinizing hormone-releasing hormone and luteinizing hormone release in unanesthetized, ovariectomized sheep. *Endocrinology* 1982 ;111 :1449-1455.
- 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. Photoperiodic control of seasonal breeding in the ram: Participation of the cranial sympathetic nervous system. *J Endocrinol* 1979 ;82 :135-147.
- Lincoln GA, Short RV. Seasonal breeding: Nature's contraceptive. *Rec Prog Horm Res* 1980 ; 36 :1-52.
- Lincoln GA, Ebling FJP. Effect of constant-release implants of melatonin on seasonal cycles in reproduction, prolactin secretion and moulting in rams. *J Reprod Fertil* 1985 ;73 :241-253.
- Lincoln GA, Ssewanyana E. Opioid Peptides and Seasonal Reproduction. In: Dyer RG, Bicknell RJ, editors. *Brain Opioid Systems in Reproduction*. UK : Oxford University Press, 1989 : 52-69.
- Lincoln GA, Libre EA, Merriam GR. Long-term reproductive cycles in rams after pinealectomy or superior cervical ganglionectomy. *J Reprod Fertil* 1989 ;85 :678-704.
- Lincoln GA. Photoperiod-pineal-hypothalamic relay in Sheep. *Anim Reprod Sci* 1992 ;28 :203-217.
- Lincoln GA, Maeda KI. Reproductive effects of placing micro-implants of melatonin in the mediobasal hypothalamus and preoptic area in rams. *J Endocrinol* 1992 ;132 :201-215.
- Lindsay DR. Reproduction in the Sheep and Goat. In: Cupps PT, editor. *Reproduction in Domestic Animals*. California : Academic Press, 1991 :491-515.
- Maeda KI, Lincoln GA. Phase shifts in the circadian rhythm in plasma concentrations of melatonin in rams induced by a 1-hour light impulse. *J Biol Rhythms* 1990 ;5 :97-106.
- Malpaux B, Robinson JE, Brown MB, Karsch FJ. Importance of changing photoperiod and melatonin secretory pattern in determining the length of the breeding season in the Suffolk ewe. *J Reprod Fertil* 1988 ;83 :461-470.

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 Endocrinol* 1989 ;122 :269-278.

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

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 Neuroendocrinol* 1995 ;7 :199-206.

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.

Martin GB, Scaramuzzi RJ, Lindsay DR. Effect of the introduction of rams during the anoestrous season on the pulsatile secretion of LH in ovariectomized ewes. *J Reprod Fertil* 1983a ;67 :47-55.

Martin GB, Scaramuzzi RJ, Henstridge JD. Effects of oestradiol, progesterone and androstenedione on the pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized ewes during spring and autumn. *J Endocrinol* 1983b ;96 :181-183.

Martínez RRD, Zarco QL, Cruz LC, Gutiérrez RI. La estacionalidad de la actividad ovárica en la oveja Pelibuey es independiente de variaciones en el peso o condición corporal de los animales. *Memorias de VIII Congreso Nacional de Producción Ovina ;1995 ; Chapingo (Estado de México) México. México (DF) ; Asociación Mexicana de Técnicos Especialistas en Ovinos, 1995 :131-134.*

Mason IL. : La raza Tabasco en México. En: Mason IL, editor. *Ovinos prolíficos tropicales*. Roma : Estudio de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) ; Producción y sanidad animal, 1980 :47-60.

McLeod BJ, Haresign W, Lamming G.E. The induction of ovulation and luteal function in seasonally anoestrous ewes treated with small-dose multiple injections of Gn-RH. *J Reprod Fertil* 1982 ;65 :215-221.

McNatty KP, Marion G, Dobson C, Thurley DC. Evidence that changes in luteinizing hormone secretion regulate the growth of the preovulatory follicle in the ewe. *J Endocrinol* 1981 ;90 :375-389.

McNeilly AS, Land RB. Effect of suppression of plasma prolactin and ovulation, plasma gonadotrophins and corpus luteum function in LH-RH treated anoestrus ewes. *J Reprod Fertil* 1979 ;56 :601-609.

McNeilly AS, O'Connell M, Baird DT. Induction of ovulation and normal luteal function by pulsed injections of luteinizing hormone in aneestrous ewes. *Endocrinology* 1982 ;110 :1292-1299.

McNeilly AS, Sharpe RM, Fraser HM. Increased sensitivity to the negative feedback effects of testosterone induced by hiperprolactinemia in the adult male rat. *Endocrinology* 1983 ;112 :22-28.

Merriam RG, Wachter WK. Algorithms for the study of episodic hormone secretion. *Am J Physiol* 1982 ;243 :E310-E318.

Moberg GP. Influence of Stress on Reproduction : Measure of well-being. In : Moberg GP, editor. *Animal Stress*. Baltimore : Waverly Press, 1985 :245-268.

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. Central melatonin receptors: Implications for mode of action. *Experientia* 1989 ;45 :955-965.

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

Neill JD, Nagy GM. Prolactin secretion and its control. In : Knobil E, Neill JDP, editors. *The Physiology of Reproduction*. New York : Raven Press, 1994 :1833-1860.

Nicholls TJ, Jackson GL, Follett BK. Reproductive refractoriness in the Welsh Mountain ewe induced by short photoperiod can be overridden by exposure to a shorter photoperiod. *Biol Reprod* 1989 ;40 :81-86.

Nir Y, Hirschmann N, Sulman FG. The effect of heat on rat pineal hydroxyindole-O-methyltransferase activity. *Experientia* 1975 ;31 :867-868.

Nottle MB, Seanmark RF, Setchell BP. Feeding lupin grain for six days prior to a Cloprostenol-induced luteolysis can increase ovulation rate in sheep irrespective of when in the oestrous cycle the supplementation commences. *Reprod Fertil Dev* 1990 ;2 :189-192.

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.

Ortega E, Acosta C, González A, Alba J. Edad al primer parto y frecuencia reproductiva de ovinos de Pelo. *Memorias de la VIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal*; 1981 octubre 4-10; Santo Domingo, República Dominicana. República Dominicana (Santo Domingo): Asociación Latinoamericana de Producción Animal, 1981 : F44.

Pau KF, Kuehl DE, Jackson GL. Effect of frontal deafferentation on luteinizing hormone secretion and seasonal breeding in the ewe. *Biol Reprod* 1982 ;27 :999-1009.

Pearson AJ, Parry AL, Ashby MG, Choy VJ, Wildermoth JE, Craven AJ. Inhibitory effect of increased photoperiod on wool follicle growth. *J Endocrinol* 1996 ;148 :157-166.

- Pelletier J. Evidence for photoperiodic control of prolactin release in rams. *J Reprod Fertil* 1973 ;35 :143-147.
- Pelletier J, Ortavant R. Photoperiod control of LH release in the ram. II. Light-androgens interaction. *Acta Endocrinol* 1975 ;78 :442-450.
- Perera MG, Falcón AA, Salas VA. Estandarización de la Técnica de Radiomarcaje con Iodo-gen. *Memorias del XXXIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas* ;1996. Puebla (Puebla) México. 1996a.
- Perera MG, Ortiz RF, Gamboa VJ, Reynoso MW, Falcón AA, Salas VA. Obtención, purificación y caracterización de dos formas de hormona luteinizante de la adenohipófisis caprina (gLH). *Veterinaria Méx* 1996b ;27 :1-9.
- Pévet P. Environmental control of the annual reproductive cycle in mammals. In: Pévet P, editor. *Comparative Physiology of Environmental Adaptations*. Vol 3. Basel-Switzerland : Karger, 1987 :82-99.
- Phillips CJC.: Photoperiod. In: Phillips C, Piggins D, editors. *Farm Animals and the Environment*. UK : C.A.B. International, 1992 :49-65.
- Piñero AP, Williams HL. El efecto del fotoperiodo en la estación reproductiva y la actividad ovárica en ovejas Dorset Horn y North Country Cheviot. *Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México* ; 1983 ; Distrito Federal México. México (DF) : Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias SARH, 1983 :130-134.
- Ponce de León JM, Valencia ZM, Rodríguez AA, González PE. Efecto del sistema de alimentación y época de nacimiento sobre la aparición del primer celo en borregas Pelibuey. *Memoria de la XV Reunión Anual de Investigación Pecuaria en México* ;1981 ; Distrito Federal México. México (DF) : Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias SARH, 1981 :39-43.
- Poulton AL, Robinson TJ. The response of rams and ewes of three breeds to artificial photoperiod. *J Reprod Fertil* 1987 ;79 :609-626.
- 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.
- Rasmussen DD. The interaction between mediobasalthypothalamic dopaminergic and edorphinergic neuronal systems as a key regulator of reproduction; a hypothesis. *J Endocrinol Invest* 1991 ;14 :323-352.
- Rastogi RK, Williams HE, Youssef FG. Los ovinos "Blackbelly" de Barbados. En: Mason IL, editor. *Ovinos prolíficos tropicales*. Roma : Estudio de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO); Producción y sanidad animal, 1980 :7-36.

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

Ravault JP, Ortavant R. Light control of prolactin secretion in sheep. Evidence for a photoinducible phase during a diurnal rhythm. *Ann Biol Anim Biochim Biophys* 1977 ;17 :459-473.

Ravault JP, Martinat-Botte F, Mauget R, Martinat N, Locatelli A, Bariteau F. Influence of duration on 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.

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

Rhind SM, Doney JM, Gunn RG, Leslie ID. Effects of body condition and environmental stress on ovulation rate, embryo survival, and associated plasma follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin and progesterone profiles in Scottish Blackface ewes. *Anim Prod* 1984 ;38 :201-209.

Rhind SM, McMillen S, McKevey WDC, Rodriguez-Herrejon FF, McNeilly DS. Effect of the body condition of ewes on the secretion of LH and FSH and the pituitary response to gonadotrophin-releasing hormone. *J Endocrinol* 1989 ;20 :497-502.

Robinson JE, Karsch FJ. Refractoriness to inductive day lengths terminates the breeding season of the Suffolk ewe. *Biol Reprod* 1984 ;31 :656-663.

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* 1985a ;33 :324-334.

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

Robinson JE, Karsch FJ. Timing the breeding season of the ewe: Whats is the role of daylength?. *Reprod Nutr Dev* 1988 ;28 (2B) :365-374.

Rodríguez MR. Efecto de la suplementación sobre el inicio de la pubertad en la borrega Tabasco o Pelibuey (tesis de doctorado). México (DF) : Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1991.

Rollag MD, Niswender GD. Radioimmunoassay of serum concentrations of melatonin in sheep exposed to different lighting regimens. *Endocrinology* 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.

Ruz JG. Estudio del ovino tropical Pelibuey del sureste de México y sus cruzas con ovino Merino (tesis de licenciatura). México (DF) : Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1966.

Sadleir RMFS. Environmental effects. In: Austin CR, Short RV, editors. Reproduction in Mammals ; Vol. IV Reproductive Patterns. UK : Cambridge University Press, 1972 :69-93.

Saiz CF, Pedrero MM, Pérez GT. Aparición de la pubertad y actividad cíclica estacional en la oveja de raza Manchega. Memorias del IX Congreso Internacional de Reproducción Animal e I.A. 1980 ; Madrid España. España (Madrid), 1980 : Vol. III: 106.

Sanders EH, Gardner PD, Berger PJ, Negus NC. 6-Methoxybenzoxazolinone: A plant derivative that stimulates reproduction in *Microtus montanus*. Science 1981 ;214 :67-69.

Sawyer GJ. The influence of radiant heat load on reproduction in the Merino ewe. I. The effect of timing and duration of heating. Aust J Agric Res 1979a ;30 :1133-1141.

Sawyer GJ. The influence of radiant heat load on reproduction in the Merino ewe. II. The relative effects of heating before and after insemination. Aust J Agric Res 1979b ;30 :1143-1149.

Schams D, Reinhardt V. Influence of the season on plasma prolactin levels in cattle from birth to maturity. Horm Res 1974 ;5 :217-226.

Schillo KK, Alliston CW, Malven PV. Plasma concentrations of luteinizing hormone and prolactin in the ovariectomized ewe during induce hyperthermia. Biol Reprod 1978 ;19 :306- 313.

Scott EG. The Sheepman's Production handbook. 2nd edition. Denver Colorado: Sheep Industry Development Program. Denver Colorado, 1977.

Serratos EG, García E, Valencia J. Estacionalidad reproductiva, tasa de ovulación y características de la gestación de la oveja criolla. Veterinaria Méx 1985 ;16 :179-183.

Setchell BP. Domestication and reproduction. Anim Reprod Sci 1992 ;28 :195-202.

Skinner DC, Robinson JE. Melatonin-binding sites in the gonadotroph-enriched zona *tuberalis* of ewes. J Reprod Fertil 1995 ;104 :243-250.

Thiéry JC, Gallegos-Sánchez J. Regulación dopaminérgica de la secreción pulsátil de LH durante días largos constantes (16L : 8D) en la oveja. Memorias del Seminario Internacional sobre Tópicos Avanzados en Reproducción Animal ; 1997 ; Montecillo (Estado de México) México. México (Estado de México) : Colegio de Posgraduados, 1997 :43-58.

Thimonier J, Mauléon P. Seasonal variations in estrous behavior and ovarian and pituitary activities in the ewe. Ann Biol Anim Biochim Biophys 1969 ;9 :233-250.

Thimonier J, Mauléon P. Variations saisonnières des activités hypophysaires des brebis de race Ile-de France. In: Benoit J, Assenmacher I, editors. La photorégulation de la reproduction chez les oiseaux et les mammifères. Paris France : CNRS, 1970 : 471-480.

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.

Thimonier J. Control of seasonal reproduction in sheep and goats by light and hormones. J Reprod Fertil Suppl 1981 ;30 :33-45.

Thimonier J, Chemineau P. Seasonality of reproduction in female farm animals under a tropical environment. Proceedings of the 11th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination ; 1988 ; Dublin Ireland. Ireland (Dublin) : University College Dublin, 1988 ;V :230-237.

Thomas GB, Mercer JE, Karalis T, Rao J, Cummins JT, Clarke IJ. Effect of restricted feeding on growth hormone (GH), gonadotropin and prolactin (PRL) secretion, and a messenger ribonucleic acid concentrations of GH, gonadotropin subunits and PRL in adult ovariectomized ewes. Endocrinology 1990 ;126 :1361-1371.

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

Turzillo AM, Fortune JE. Suppression of the secondary FSH surge with bovine follicular fluid is associated with delayed ovarian follicular development in heifers. J Reprod Fertil 1990 ;89 :643-653.

Urrutia MJ. Inicio de la estación reproductiva de ovejas Rambouillet en México. Téc Pec Méx 1991 ;29 :47-52.

Valencia ZM, Castillo RH, Berruecos VJ. Reproducción y manejo del borrego Tabasco o Peligüey. Téc Pecu Méx 1975 ;29 :66-72.

Valencia J, Barrón C, Fernández-Baca S. Variaciones estacionales de la presentación de estros en ovejas Dorset y Criollas en México. Veterinaria Méx 1978 ;9 :45-50.

Valencia J, Barrón C, Fernández-Baca S, Huerta N, Ortiz A. Presentación de estros en ovejas Criollas a lo largo del año. Veterinaria Méx 1980 ;11 :71-74.

Valencia ZM, Heredia AM, González PE. Estacionalidad reproductiva en hembras Pelibuey. Memorias de la VIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal ; 1981 octubre 4-10 ; Santo Domingo República Dominicana. República Dominicana (Santo Domingo) : Asociación Latinoamericana de Producción Animal, 1981 :F48.

Velázquez IA, Cruz LC, Alvarez LJA. Efecto del nivel de suplementación sobre la presentación del primer estro en ovejas Tabasco nacidas en verano. *Veterinaria Méx* 1995 ;26 :107-111.

Viguié C, Caraty A, Locatelli A, Malpoux B. Regulation of LHRH secretion by melatonin in the ewe. I. Simultaneous delayed increase in LHRH and LH pulsatile secretion. *Biol Reprod* 1995 ;52 :1114-1120.

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 Com Physiol A* 1990 ;166 :835-842.

Webster GM, Haresign W. Seasonal changes in LH and prolactin concentrations in ewes of two breeds. *J Reprod Fertil* 1983 ;67 :465-471.

Wheeler AG, Land RB. Seasonal variation in oestrus and ovarian activity of Finnish Landrace, Tasmanian Merino and Scottish Blackface ewes. *Anim Prod* 1977 ;24 :363-376.

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

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.

Woodfill CJI, Wayne NL, Moenter SM, Karsch FJ. Photoperiodic synchronization of a circannual reproductive rhythm in sheep: Identification of season-specific time cues. *Biol Reprod* 1994 ;50 :965-976.

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 ;67 :465-471.

Worthy K, Colquhoun K, Escreet R, Dunlop M, Renton JP, Douglas TA. Plasma prolactin concentrations in non-pregnant mares at different times of the year and in relation to events in the cycle. *J Reprod Fert Suppl* 1987 ;35 :269-276.

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

Yuthasastrakosol P, Palmer WM, Howland BE. Luteinizing hormone, oestrogen and progesterone levels in peripheral serum of anoestrous and cyclic ewes as determined by radioimmunoassay. *J Reprod Fertil* 1975 ;43 :57-65.

Yuthasastrakosol P, Palmer WM, Howland BE. Release of LH in anoestrous and cyclic ewes. *J Reprod Fertil* 1977 ;50 :319-321.

Yuwiler A, Winters WD. Effects of 6-methoxy-2-benzoxazolinone on the pineal melatonin generating system. *Y Pharmac Exp Ther* 1985 ;233 :45-50.

Zarco L, Rodríguez EF, Angulo MRB, Valencia J. Female to female stimulation of ovarian activity in the ewe. *Anim Reprod Sci* 1995 ;39 :251-258.