

03097  
2



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

CENTRO DE NEUROBIOLOGIA

INDUCCION DE LA ACTIVIDAD SEXUAL DE LOS  
CAPRINOS UTILIZANDO TRATAMIENTOS  
FOTOPERIODICOS Y EL EFECTO MACHO

287693

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
**DOCTOR EN CIENCIAS**  
(NEUROBIOLOGIA)

P R E S E N T A :  
JOSE ALFREDO FLORES CABRERA

DIRECTOR: DR. GONZALO MARTINEZ DE LA ESCALERA

QUERETARO, MEXICO

2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## CREDITOS

El presente trabajo se realizó bajo la dirección del Dr. Gonzalo Martínez de la Escalera, en colaboración con el laboratorio de conducta maternal del Centro de Neurobiología-UNAM y el grupo de investigación en Reproducción Caprina de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna.

La beca para realizar los estudios de Doctorado fue otorgada por CONACyT y la Dirección General de Estudios de Postgrado-UNAM.

## DEDICATORIA

Quiero dedicar esta tesis a mis padres Martiniano Flores y María de la Luz Cabrera por todo su amor y palabras de aliento.

A mis hermanos Sanjuana, Guadalupe, Laura, Eliazar y Rosa Elia por su cariño.

En especial a mi esposa Alma Delia y a mi hija Alejandra, que son la inspiración para seguir superándome cada día y por todo su amor.

## CONTENIDO

	Página
<b>RESUMEN</b> .....	iii
<b>SUMMARY</b> .....	v
<b>INTRODUCCION</b> .....	1
<b>ANTECEDENTES</b> .....	5
I. Estacionalidad reproductiva de ovinos y caprinos originarios de zonas templadas. ....	5
II. Control fotoperiódico de la estacionalidad reproductiva de ovinos y caprinos originarios de zonas templadas .....	6
2.1. Fotorefractariedad e historia fotoperiódica. ....	7
2.2. Mecanismos fisiológicos de acción del fotoperíodo .....	10
2.3. La glándula pineal y la traducción de la información fotoperiódica en mensaje hormonal. ....	12
2.4. Importancia de la glándula pineal y de la secreción de melatonina	16
2.5. Síntesis y liberación de melatonina. ....	17
2.6. Melatonina y estacionalidad reproductiva .....	20
2.7. Melatonina y fotorefractariedad .....	21
2.8. Sitios de acción de la melatonina .....	24
2.9. Mecanismo de acción de la melatonina .....	26
2.10. Prolactina y estacionalidad reproductiva. ....	29
III. Actividad reproductiva de ovinos y caprinos originarios de zonas tropicales. ....	31
IV. Actividad reproductiva de los ovinos y caprinos originarios de regiones subtropicales. ....	32
V. Control de la actividad reproductiva por interacciones socio-sexuales. .	37
5.1. Comportamiento sexual de los caprinos. ....	37
5.2. El efecto macho. ....	39
5.3. Cambios endocrinos y de comportamiento inducidos por la introducción de los machos. . . . .	40
5.4. La percepción del macho por la hembra. ....	43
5.5. Efecto hembra directo o mediado por los machos. ....	45
5.6. Variación en la calidad del estímulo del macho. ....	46
5.7. Fotoperíodo y el efecto macho. ....	49

<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	51
<b>OBJETIVOS</b> .....	53
<b>HIPOTESIS</b> .....	53
 <b>FASE EXPERIMENTAL I</b>	
A. Capacidad de los machos tratados con días largos y melatonina para inducir la actividad sexual de las cabras anovulatorias de dos rebaños diferentes .....	54
<b>MATERIALES Y METODOS</b> .....	54
B. Capacidad de los machos tratados con días largos y melatonina para inducir la actividad sexual de las cabras anovulatorias de un mismo rebaño .....	67
<b>MATERIALES Y METODOS</b> .....	67
<b>RESULTADOS</b> .....	68
A. Capacidad de los machos tratados con días largos y melatonina para inducir la actividad sexual de las cabras anovulatorias de dos rebaños diferentes .....	68
B. Capacidad de los machos tratados con días largos y melatonina para inducir la actividad sexual de las cabras anovulatorias de un mismo rebaño .....	79
 <b>FASE EXPERIMENTAL II</b>	
Inducción de la actividad sexual de los machos cabríos mediante días largos artificiales .....	83
<b>MATERIALES Y METODOS</b> .....	83
<b>RESULTADOS</b> .....	89
<b>DISCUSION</b> .....	100
<b>CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS</b> .....	112
<b>REFERENCIAS</b> .....	114
<b>ANEXO</b> .....	132

## RESUMEN

En la primer fase experimental se realizaron dos experimentos para determinar si es posible inducir actividad sexual en las cabras durante el estacional mediante la introducción de machos, los cuales fueron previamente inducidos a un estado de intensa actividad sexual mediante un tratamiento con días largos y melatonina. En el primer estudio, un grupo de machos cabrios (Control; n=7) percibieron las variaciones naturales del fotoperíodo, mientras que el otro grupo (DL+M; n=7) fue expuesto a 2.5 meses de días largos (16 horas de luz por día) a partir del 1 de noviembre de 1997. El 16 de enero de 1998 cada macho de este grupo recibió dos implantes de melatonina (18 mg cada uno). Dos meses más tarde (el 15 de marzo de 1998), dos grupos de hembras anovulatorias de dos rebaños diferentes y previamente separadas de los machos fueron puestos en contacto con ellos. Un grupo de hembras (n=34) fue puesto en contacto con 4 machos Control, mientras que el otro grupo de hembras (n=40) fue puesto en contacto con 4 machos DL+M. Las actividades estral y ovulatoria fueron determinadas desde la introducción de los machos (día 1) hasta el día 35. De las hembras expuestas a los machos Control, únicamente 2 hembras ovularon y ninguna manifestó conducta de estro durante los 35 días del estudio. En contraste, todas las hembras (40 de 40) estimuladas con los machos DL+M ovularon y mostraron al menos un estro durante los primeros 11 días que siguieron a la introducción de los machos (Fisher;  $p < 0.001$ ). En total, 38 de las 40 hembras estimuladas con los machos DL+M fueron diagnosticadas gestantes al día 35 basándose en el análisis de progesterona, contra 0 del grupo estimulado con los machos Control (Fisher;  $p < 0.001$ ). Para confirmar que el efecto macho encontrado en el rebaño estimulado con machos DL+M no era debido a una diferencia de respuesta entre los dos rebaños, el experimento se repitió el año siguiente, utilizando solamente el rebaño estimulado con machos Controles el primer año. Para este estudio, se utilizaron 66 hembras que fueron divididas en dos grupos de 33 hembras cada uno. Los tratamientos y las condiciones experimentales fueron idénticas a las del experimento anterior. En los primeros 14 días, 27 de 33 hembras mostraron comportamiento de estro en el grupo estimulado con machos DL+M, contra 1 del grupo estimulado con los machos Control ( $X^2$ ;  $p < 0.001$ ). Con base en estos dos estudios se concluye que tratando los machos con días largos y melatonina se incrementa su capacidad para inducir actividad sexual en las hembras anovulatorias durante el anestro. Además, se demuestra que la ausencia de respuesta de las hembras al efecto macho durante el anestro no es debido a una incapacidad de las hembras, sino más bien a una insuficiente estimulación por parte del macho.

La segunda fase experimental se realizó para determinar si la exposición de los machos a días largos únicamente, es suficiente para inducir su actividad sexual durante la primavera. En este estudio se utilizaron 24 machos cabrios Criollos repartidos en tres grupos de 8 animales cada uno. Los machos del grupo Control percibieron las variaciones naturales del fotoperíodo (20°N). Los machos del grupo DL+M fueron expuestos a 2.5 meses de días largos (16 horas de luz por día) a partir del 1 de noviembre de 1998. Posteriormente, el 16 de enero de 1999 cada macho de este grupo recibió dos implantes de melatonina (18 mg cada uno). Los machos del grupo DL fueron sometidos a días largos durante todo el estudio (1 de noviembre de 1998 al 15 de junio de 1999). El peso corporal y el peso testicular fueron evaluados cada 15 días, mientras que la testosterona y prolactina fueron evaluadas semanalmente. El 14 de abril de 1999, cada macho fue individualmente expuesto durante 25 minutos a 3 hembras que no mostraban comportamiento de estro (no receptivas). En cada ocasión se evaluó el número de

inspecciones nasales, aproximaciones, intentos de monta y montas. Dos días más tarde (el 16 de abril de 1999), los machos fueron expuestos nuevamente a 3 hembras que fueron inducidas artificialmente al estro (receptivas) y las mismas conductas fueron registradas. En el análisis del peso corporal y del peso testicular no se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos, sin embargo se observó un efecto significativo del tiempo, así como una interacción entre grupo x tiempo del experimento (ANOVA;  $p < 0.001$ ). En las concentraciones plasmáticas de testosterona, el ANOVA reveló un efecto significativo del tiempo y una interacción tiempo x grupo ( $p < 0.001$ ). En la secreción de prolactina el ANOVA reveló un efecto significativo del tiempo sobre la secreción de prolactina en los tres grupos ( $p < 0.001$ ). También existió una interacción entre grupo x tiempo del experimento (ANOVA;  $p < 0.001$ ). En cuanto al comportamiento sexual de los machos con hembras no receptivas, los machos de los grupos DL+M y DL mostraron un mayor número de inspecciones nasales y aproximaciones que los machos Control ( $X^2$ ;  $p < 0.01$ ). De igual manera cuando los machos fueron expuestos a hembras en estro, los machos DL+M y DL mostraron un mayor número de olfateos, aproximaciones y montas con eyaculación que los machos Control ( $X^2$ ;  $p < 0.01$ ). Se concluye que el tratamiento con días largos únicamente, es un método tan efectivo e incluso superior al tratamiento de días largos y melatonina, para inducir actividad sexual en los machos cabríos Criollos durante el periodo de inactividad sexual.



## SUMMARY

In the first experimental phase two experiments were conducted to determine whether sexual activity can be induced in seasonally breeding Mexican Creole goats during seasonal anestrus, by exposing them to bucks previously brought into intense reproductive activity by a treatment of long day and melatonin implants. In the first study, one group of male goats (Control; n=7) perceived the natural variations of photoperiod, whilst group of males (DL+M; n=7) was subjected to 2.5 months of long days (16 h light/8 h dark) started on November 1<sup>st</sup> 1997 and received two subcutaneous implants of melatonin (18 mg each) in January 15<sup>th</sup> 1998. Two months later (march 15<sup>th</sup> 1998), two different flocks of anovulatory goats previously separated from bucks were exposed to them. One group of females (n=34) was exposed to 4 Control males whilst the other group of females (n=40) was exposed to 4 DL+M males. Progesterone assays and estrous behavior were used to determine ovarian and behavioral responses of the females from the male introduction until day 35. Of the goats exposed to Control males, only 2 ovulated and none showed estrous behavior during the 35 day study. In contrast, all females (40/40) in contact with SA males ovulated and showed at least one estrous behavior during the first 11 days following male introduction (Fisher;  $p < 0.001$ ). Overall, 38 of 40 females stimulated with SA bucks were diagnosed pregnant at day 35, according to progesterone assay (versus 0 in SI-treated group: Fisher;  $p < 0.001$ ). To control for a possible difference of responsiveness between flocks, the experiment was repeated one year later using a single flock that the previous year was stimulated with Control males. In this study, 66 female goats were used y divided in two groups of 33 females each. The treatment and experimental conditions were identical to those of experiment 1. In the first 14 days, 27 of 33 females showed estrus behavior in the group stimulated with DL+M males (versus 1 in the group stimulated with Control males; Fisher;  $p < 0.001$ ). Its conclude that treating bucks with long days and melatonin increased their teasing capacity to induce sexual activity in female goats during the anestrus. These results indicate that the absence of response to teasing at this time of the year is not due to female unresponsiveness, but to insufficient stimulation from the male.

The second experimental phase was carried out to determine if the exposition of male goats to only long days is sufficient to induce sexual activity during the spring. In this study, 24 Creole male goats were divided in three groups of 8 animals each. The Control males perceived the natural variation of photoperiod (19°N). The DL+M males was subjected to long days (16 hrs light) for 2.5 months starting on November 1<sup>st</sup>, followed by melatonin implants (36 mg). The DL bucks were submitted to artificial long days during the whole study (November 1<sup>st</sup> 1998 to June 15<sup>th</sup> 1999). The body weight and testicular weight were evaluated each 15<sup>th</sup> days, whilst the testosterone and prolactin concentration were determined weekly. On April 14<sup>th</sup>, each buck was individually exposed to 3 non-receptive females for 25 minutes and the sniffing, nudging, mount attempts, mounts with and without ejaculation were recorded. Two days later (April 16<sup>th</sup>) the males were exposed to 3 estrus artificially induced goats and their sexual behavior was recorded again. No differences were found in the body weight or testicular between the three groups. However, a significant effect of time and an interaction were found (ANOVA;  $p < 0.001$ ). In the testosterone concentrations the ANOVA reveled a significant effect of the time and an interaction time x group was found ( $p < 0.001$ ). In prolactin plasma concentrations the ANOVA reveled a significant effect of time ( $p < 0.001$ ) and an interaction time-group ( $p < 0.001$ ). When the bucks were tested with non-receptive females,

the DL+M and DL males showed a higher number of sniffing and nudging than Control males ( $X^2$ ;  $p < 0.01$ ). Also, when the bucks were exposed to estrus females, the DL+M and DL bucks showed more sniffing, nudging and mounts with ejaculation than Control males ( $X^2$ ;  $p < 0.01$ ). These results provide evidence that a treatment with only artificial long days is as effective as or even better than a treatment using long days and melatonin for inducing sexual activity in Mexican Creole bucks during the spring period of seasonal sexual inactivity.

# INTRODUCCION

## INTRODUCCION

Para la mayoría de las especies silvestres, la perpetuación de los genes del individuo constituye uno de los objetivos esenciales de la reproducción, la cual se desarrolla bajo la influencia del medio ambiente. Este medio ambiente interactúa con el potencial genético de los individuos, determinando los momentos más propicios del año para que la reproducción se lleve a cabo. Así, los pequeños mamíferos silvestres utilizan diversos factores del medio ambiente como señal para iniciar o terminar su actividad sexual. En las zonas tropicales, donde las variaciones en las condiciones climáticas no son tan marcadas durante el año, los mamíferos han desarrollado una estrategia de tipo oportunista. Esto les permite iniciar su actividad sexual cuando los factores ambientales son favorables a ella: alimentación, temperatura, presencia de individuos del sexo opuesto, entre otros (Bronson y Heideman, 1994). Por el contrario, en las zonas templadas, existe la necesidad de criar a los jóvenes durante el período más favorable del año, lo que ha conducido a la mayoría de las especies silvestres a limitar el período de nacimientos al final del invierno e inicio de la primavera cuando la temperatura es menos drástica y existe mayor disponibilidad de alimento (Boissin *et al.*, 1980; Ortavant *et al.*, 1985). La domesticación ha conducido a una pérdida casi completa de esta adaptación en algunas especies como los bovinos y porcinos, pero ha sido retenida en muchas razas de ovinos, caprinos y equinos, dando como resultado que estas especies presenten una actividad sexual de tipo estacional (Malpoux *et al.*, 1996). Así, la mayoría de las razas de ovinos y caprinos originarios de latitudes templadas son sexualmente activos durante el otoño-invierno y los nacimientos ocurren durante la primavera después de 5 meses de gestación.

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

La mayoría de los estudios sobre el fenómeno de la estacionalidad reproductiva han sido realizados en ovinos y caprinos de climas templados, donde las variaciones anuales del fotoperíodo son muy marcadas. Sin embargo, en las regiones subtropicales, donde las variaciones del fotoperíodo no son tan marcadas, se ha observado también la existencia de un comportamiento sexual estacional en algunas razas de estas especies. En estas latitudes, la alimentación es considerada como un factor muy importante para el control del ciclo anual de reproducción de estas especies (Restall 1991, Walkden-Brown *et al.*, 1994). Sin embargo, recientemente se demostró que en subtrópico Mexicano, específicamente en la Comarca Lagunera (26°N), los caprinos alimentados adecuadamente, también manifiestan variaciones estacionales de su actividad sexual. Esta estacionalidad ha sido observada tanto en las hembras (Duarte, 1999) como en los machos (Delgadillo *et al.*, 1999), independientemente del sistema de explotación. Los periodos de anestro en las hembras y de reposo sexual en los machos coinciden con la época de sequía, y por consiguiente con una baja disponibilidad de alimento.

Por ello, se sugirió que la alimentación era el factor responsable de las variaciones de la actividad sexual de los caprinos de la región (Sáenz-Escárcega *et al.*, 1991). Sin embargo, en los animales estabulados y alimentados adecuadamente, se observaron también variaciones estacionales en la actividad sexual. En las hembras, el periodo de anestro ocurrió de febrero a julio (Duarte, 1999), mientras que en los machos, el periodo de reposo sexual fue observado de enero a abril (Delgadillo *et al.*, 1999). Esto sugirió que la alimentación no era el factor responsable de la estacionalidad reproductiva. Es posible que otro factor, como el fotoperíodo sea el responsable de estas variaciones. Al respecto, Duarte *et al.* (1999) y Delgadillo *et al.* (2000) demostraron que los caprinos de la Comarca Lagunera son sensibles a las variaciones del fotoperíodo, al inducir actividad sexual manipulando las variaciones del fotoperíodo.

Independientemente de la latitud y de las razas explotadas, la existencia de un comportamiento sexual estacional es una desventaja en cualquier proceso productivo, por lo cual se han desarrollado técnicas que permiten controlar la reproducción de los ovinos y caprinos. Sin embargo, estas técnicas han sido desarrolladas en razas originarias de latitudes templadas y a la fecha existen muy pocos estudios sobre la fisiología reproductiva de los caprinos, así como de su respuesta a diferentes tratamientos fotoperiódicos en estas latitudes subtropicales y tropicales de México. Por ello, en el norte de México (26° N), se han desarrollado técnicas para inducir la actividad sexual durante la época de anestro o reposo sexual. Una de estas técnicas es la aplicación de 2.5 meses de días largos artificiales, seguidos de la aplicación subcutánea de 2 implantes de melatonina. Estos implantes secretan cantidades constantes de melatonina durante aproximadamente 90 días que el animal percibe como días cortos. Mediante este tratamiento, los niveles plasmáticos de testosterona, peso testicular y la libido se incrementan alcanzando sus niveles máximos después de 2 meses de la

administración de la melatonina (Carrillo *et al.*, 1997, 1999). De tal manera que sometiendo a los machos a días largos a partir del 1 de noviembre y aplicando los implantes de melatonina 2.5 meses después, se logra obtener machos sexualmente activos a mediados de marzo, época que corresponde al periodo natural de inactividad sexual de dicha raza.

Por otro lado, en las hembras es posible inducir la actividad sexual mediante la introducción de machos a un grupo de hembras las cuales fueron separadas previamente de ellos, fenómeno conocido como “efecto macho”. Sin embargo, la utilización del efecto macho en razas estacionales, como las explotadas en México, está limitada al inicio o final de la estación sexual (Chemineau, 1987). A la mitad del anestro, cuando la mayoría de las hembras están anovulatorias, la introducción de machos es insuficiente para inducir la actividad sexual en dichas hembras (Mellado y Hernández, 1996). Esto puede deberse a dos factores, por un lado puede ser debido a la incapacidad de las hembras para ser estimuladas por el macho, o bien puede ser debido a una inadecuada estimulación por parte del macho, el cual durante esta época también disminuye enormemente su actividad sexual y por ende su comportamiento sexual, así como la producción de sus respectivas feromonas.

La primer fase experimental se realizó para determinar si es posible inducir la actividad sexual en las cabras durante el anestro mediante la introducción de machos, previamente inducidos a un estado de intensa actividad sexual mediante un tratamiento de exposición a días largos en instalaciones abiertas y la administración de melatonina.

La segunda fase experimental se realizó para determinar si la exposición a días largos únicamente, es suficiente para inducir actividad sexual en los machos cabríos durante la primavera.

# ANTECEDENTES



## ANTECEDENTES

### I. Estacionalidad reproductiva de ovinos y caprinos originarios de zonas templadas

La mayoría de las razas ovinas y caprinas originarias de latitudes templadas ( $>40^\circ$ ), manifiestan variaciones estacionales en su actividad reproductiva. Estas variaciones en la actividad sexual son observadas en ambos sexos (Ortavant *et al.*, 1985). En las hembras no gestantes, el período de inactividad sexual o anestro está frecuentemente asociado con la ausencia de ovulación, mientras que la estación sexual se caracteriza por la sucesión de ciclos estrales y ovulatorios cada 16-18 días en la oveja (Thimonier y Mauléon, 1969) y cada 18-21 días en la cabra (Chemineau *et al.*, 1992). Por ejemplo, en las hembras ovinas de las razas Ile-de-France y Suffolk, el período natural de actividad sexual se presenta de septiembre a febrero, mientras que el periodo de anestro se observa de marzo a agosto (Thimonier y Mauléon, 1969; Karsch *et al.*, 1984) en el hemisferio norte. En las hembras caprinas originarias de estas latitudes, también se han observado variaciones estacionales en su actividad sexual. Por ejemplo, en las hembras de la raza Alpina, el período natural de actividad reproductiva ocurre de septiembre a marzo y el período de anestro de abril a agosto (Chemineau *et al.*, 1992a).

En los machos de estas dos especies, la libido, el peso testicular y la producción espermática varían igualmente a lo largo del año. En los carneros de la raza Ile-de-France, así como en los machos cabríos Alpinos, el peso testicular y la producción espermática son más elevados en otoño que en primavera (Dacheux *et al.*, 1981; Delgadillo *et al.*, 1991).

En ambos sexos, las variaciones de la actividad sexual se producen como consecuencia de los cambios en la secreción de las gonadotropinas: hormona luteinizante (LH) y hormona folículoestimulante (FSH) (Karsch *et al.*, 1984). En efecto, la secreción pulsátil, así como la concentración plasmática de LH son más elevados en otoño que en primavera (Lincoln y Short, 1980; Karsch *et al.*, 1984; Delgadillo y Chemineau, 1992).

Estas variaciones estacionales de la actividad sexual de los ovinos y caprinos originarios de las zonas templadas son debidas a las variaciones del fotoperíodo a través del año. La actividad reproductiva se inicia cuando los días se acortan y es inhibida cuando los días se alargan, por lo que la actividad reproductiva de estas especies se presenta en otoño e invierno, independientemente del hemisferio en que se encuentran los animales (Hafez, 1952; Ortavant *et al.*, 1964).

## **II. Control fotoperiódico de la estacionalidad reproductiva**

De los factores del medio ambiente, el fotoperíodo es el factor principal que sincroniza la actividad sexual de los ovinos y caprinos originarios de zonas templadas (Karsch *et al.*, 1984; Chemineau *et al.*, 1992a; Malpoux *et al.*, 1993). Desde hace muchos años se demostró la influencia del fotoperíodo sobre la reproducción de los ovinos al transferir ovejas del hemisferio norte al hemisferio sur, o bien al someter a los animales del hemisferio norte a regímenes luminosos que reproducen las variaciones del fotoperíodo del hemisferio sur. En ambos casos, la estación sexual fue desplazada seis meses y se presentó siempre después del solsticio de verano (Marshall, 1937; Yeates, 1949; Twaites, 1965; Alberio, 1976). Esta

respuesta se manifestó también cuando los animales fueron sometidos a un régimen fotoperódico que reprodujo en seis meses las variaciones anuales del fotoperíodo y que provocó la aparición de dos estaciones sexuales durante el año (Mauléon y Reugeot, 1962). En los machos ovinos tratados de la misma forma se presentaron dos períodos de crecimiento testicular y dos de regresión por año (Lindsay *et al.*, 1984). De la misma manera, la alternancia de 3 ó 4 meses de días largos con 3 ó 4 meses de días cortos provocaron también la alternancia de períodos de actividad y de inactividad sexual (Legan y Karsch, 1980; Ravault y Thimonier, 1988). En ovinos, la administración de un fotoperíodo artificial que semeja días cortos es seguida por un inicio de la actividad ovulatoria en las hembras y de un crecimiento testicular en los machos. La actividad ovulatoria inicia únicamente después de 40 a 60 días de exposición a días cortos (Karsch *et al.*, 1984), mientras que el crecimiento testicular empieza después de 30 a 40 días de exposición a este fotoperíodo estimulante (D'Occhio *et al.*, 1984). En ambos casos, la exposición a días largos es seguida por una inhibición de la actividad reproductiva después de 20 a 30 días (D'Occhio *et al.*, 1984; Lincoln, 1979).

### **2.1. Fotorefractariedad e historia fotoperiódica**

Tradicionalmente los ovinos y caprinos han sido clasificados como animales de días cortos, debido a que su actividad reproductiva comienza cuando la longitud del día disminuye, y porque su exposición a días cortos artificiales estimula su actividad reproductiva (Legan y Karsch, 1980). Sin embargo, el ciclo reproductivo de los ovinos y caprinos es más complicado que una estación reproductiva que resulta de los efectos estimulantes de días cortos y una

estación de anestro o inactividad sexual causada por los efectos inhibitorios de días largos (Malpaux *et al.*, 1993).

Existen estudios que sugieren que el inicio de la estación reproductiva no se debe directamente a una reducción en la duración del día que ocurre después del solsticio de verano (Robinson *et al.*, 1985; Worthy *et al.*, 1985). Por el contrario, la época reproductiva comienza espontáneamente en concordancia con una pérdida de respuesta a los efectos inhibitorios de los días largos del verano (Malpaux *et al.*, 1989). Por ejemplo, en los machos ovinos mantenidos en condiciones naturales, el crecimiento testicular, el cual es un reflejo de la actividad sexual, inicia poco antes del solsticio de verano, es decir, antes que los animales puedan percibir un fotoperíodo decreciente (Pelletier y Ortavant, 1967). De igual manera, en las ovejas sometidas a días largos constantes a partir del solsticio de verano, la estación sexual comienza al mismo tiempo que en las ovejas mantenidas en un fotoperíodo natural (Robinson *et al.*, 1985). De esta manera, la disminución en la duración del día que ocurre después del solsticio de verano no parece ser determinante para el inicio de la estación reproductiva. En ese momento del año, los animales parecen haberse vuelto refractarios a los efectos inhibitorios de los días largos (Malpaux *et al.*, 1993). Lo mismo sucede en las ovejas expuestas a un fotoperíodo creciente a partir del equinoccio de primavera (Malpaux *et al.*, 1989).

Para el caso del final de la estación sexual, la misma conclusión puede aplicarse. Cuando los animales son mantenidos en días cortos constantes después del solsticio de invierno, o son expuestos a un fotoperíodo continuamente decreciente a partir del equinoccio de otoño, estos animales terminan su actividad sexual de manera simultánea con las ovejas

testigo (Worthy y Haresing, 1983; Robinson y Karsch, 1984; Malpaux *et al.*, 1988). Se dice entonces que los animales se han vuelto refractarios a los efectos estimulantes de los días cortos (Malpaux *et al.*, 1993). Estos reportes sugieren que el inicio y el final de la estación reproductiva son procesos obligatorios que no pueden ser evitados, pero sí acelerados, mediante modificaciones en el fotoperíodo. Esta aparente fotorefractariedad, al parecer es una expresión de un ritmo endógeno de reproducción (Malpaux *et al.*, 1989). La existencia de un ritmo endógeno ha sido demostrada tanto en ovinos como en otras especies mediante la utilización de animales expuestos a días cortos o largos constantes durante varios años, los cuales continúan mostrando períodos alternos de reposo y actividad sexual (Ducker *et al.*, 1973; Howles *et al.*, 1982; Karsch *et al.*, 1989; Thimonier, 1989). Sin embargo, estos períodos están desincronizados tanto entre los animales sometidos a dichos fotoperíodos artificiales, como con los animales en fotoperíodo natural. La duración de estos ciclos endógenos varía generalmente entre 8 y 10 meses. Por ejemplo, las ovejas Suffolk expuestas a días cortos constantes muestran variaciones en la secreción de LH que no están sincronizadas entre los animales, caracterizados por tener una duración diferente a 1 año (Karsch *et al.*, 1989). Por lo tanto, el papel del fotoperíodo en condiciones naturales, sería probablemente el de sincronizar el ritmo endógeno de reproducción, ajustándolo a un año.

Es importante señalar que la percepción del fotoperíodo durante ciertas épocas del año, podría ser suficiente para sincronizar el ritmo endógeno de la reproducción. Así, en la oveja, los resultados de varios experimentos (Malpaux *et al.*, 1989; Malpaux y Karsch, 1990; Wayne *et al.*, 1990; Woodfill *et al.*, 1991) sugieren que los días largos de primavera son importantes en el control del ritmo endógeno de reproducción y, particularmente, en el inicio de la estación

sexual al final del verano. Posteriormente, los días cortos serían necesarios para mantener esta actividad.

## **2.2. Mecanismos fisiológicos de acción del fotoperíodo**

La influencia del fotoperíodo sobre la reproducción se efectúa mediante dos mecanismos complementarios, uno independiente de los esteroides secretados por las gónadas, y el otro dependiente de estas hormonas (Pelletier y Ortavant, 1975; Robinson *et al.*, 1985).

Un efecto directo del fotoperíodo ha sido demostrado merced a estudios de las variaciones estacionales de la LH en machos ovinos castrados. Así, los niveles de LH son más elevados cuando los machos son sometidos a días cortos (8 horas de luz/día) que cuando son sometidos a días largos (16 horas de luz/día; Pelletier y Ortavant, 1975). Igualmente, en las hembras ovinas ovariectomizadas el intervalo entre cada pulso de LH varía de 70 minutos en junio a 40 minutos en noviembre, mes que corresponde al período de actividad sexual de las hembras intactas (Montgomery *et al.*, 1985; Robinson *et al.*, 1985). Por lo tanto, en ausencia de esteroides gonadales, estas variaciones son controladas únicamente por las variaciones del fotoperíodo.

Por otro lado, durante el año existen cambios en la sensibilidad del eje hipotálamo-hipofisiario a la retroalimentación negativa de las hormonas gonadales en la secreción de gonadotropinas (Legan *et al.*, 1977; Lincoln y Short, 1980; Karsch *et al.*, 1984). En el macho, la testosterona ejerce una acción inhibitoria sobre la secreción de LH (Muduuli *et al.*, 1979; Almeida y Pelletier, 1988; Sanford y Ponzilius, 1989; Delgadillo y Chemineau, 1992). En

cambio, en la hembra el estradiol ejerce una acción estimulante (retroalimentación positiva) o inhibitoria (retroalimentación negativa) sobre la secreción de LH (Legan *et al.*, 1977; Mori *et al.*, 1987; Chemineau *et al.*, 1988), dependiendo de la fase del ciclo estral.

La gonadectomía en el macho y en la hembra (ausencia de andrógenos y de estrógenos, respectivamente), provoca un aumento en la secreción de LH (Schanbacher, 1980; Montgomery *et al.*, 1985). Este aumento en la secreción de gonadotropinas se puede reducir mediante la administración de testosterona en el macho o de estradiol en la hembra (Pelletier y Ortavant, 1975; Legan *et al.*, 1977; D'Occhio *et al.*, 1982; Martin *et al.*, 1983; Robinson *et al.*, 1985; Montgomery *et al.*, 1985). Sin embargo, en los machos ovinos castrados y tratados con testosterona o estradiol, la respuesta a la acción inhibitoria de los andrógenos varía según la duración del día (Pelletier y Ortavant, 1975). La disminución de la LH, después de la aplicación intramuscular de una dosis de 200 mg de testosterona, es más importante si los animales se encuentran sometidos a días largos que si se encuentran sometidos a días cortos. Esto se debe a que durante los días largos, la sensibilidad del eje hipotálamo-hipofisiario a la retroalimentación negativa de la testosterona se incrementa, y por lo tanto la secreción de LH disminuye. En cambio, durante los días cortos, esta sensibilidad disminuye, originando un incremento en la concentración plasmática de LH (Pelletier y Ortavant, 1975; Almeida y Pelletier, 1988).

En la hembra sucede algo similar. Por ejemplo, en las hembras ovinas castradas de la raza Suffolk, la inserción durante la estación sexual de un implante subcutáneo que libera cantidades constantes de estradiol, reduce la amplitud de los pulsos de LH, y aumenta la frecuencia de los mismos (Legan *et al.*, 1977; Goodman y Bittman, 1982; Karsch *et al.*, 1984;

Robinson *et al.*, 1985). Esto se debe a que durante la estación sexual, existe una baja sensibilidad del eje hipotálamo-hipofisiario a la retroalimentación negativa del estradiol. Sin embargo, cuando el implante es insertado durante la estación de reposo sexual, disminuye considerablemente la frecuencia de los pulsos de LH y aumenta su amplitud, debido a que en esta estación existe una alta sensibilidad del eje hipotálamo-hipofisiario a la retroalimentación negativa del estradiol (Goodman y Bittman, 1982; Robinson *et al.*, 1985).

Lo anterior demuestra que los cambios en la sensibilidad del eje hipotálamo-hipofisiario a la retroalimentación negativa del estradiol en la hembra y a la testosterona en el macho, constituyen el mecanismo principal responsable de la reproducción estacional en animales intactos.

### **2.3. La glándula pineal y la traducción de la información fotoperiódica en mensaje hormonal**

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



La información fotoperiódica es transmitida, en primer lugar, de la retina a los núcleos supraquiasmáticos (NSQ) a través de la vía monosináptica retino-hipotalámica (Herbert *et al.*, 1978; Legan y Winans, 1981). En los NSQ, al parecer, se encuentra el oscilador circadiano maestro, el cual controla el ritmo circadiano endógeno de la secreción de melatonina y la transición del estímulo luminoso a los núcleos paraventriculares (NPV), a la columna de células intermediolaterales situada en la médula torácica y, posteriormente, a los ganglios cervicales superiores (Lincoln, 1979; Swanson y Kuypers, 1980; Klein *et al.*, 1983), llegando la señal finalmente a la glándula pineal a través de las neuronas simpáticas postganglionares. La estimulación nerviosa es recibida por receptores adrenérgicos localizados en la membrana celular de los pinealocitos y luego transformada en un mensaje endócrino, la secreción de melatonina (Ver Figura 3; Arendt, 1995).

La importancia funcional de estas vías fotoneuroendócrinas fue demostrada experimentalmente en la rata, admitiéndose que éstas son similares en el resto de los mamíferos. En los ovinos, se ha aceptado igualmente la existencia de una vía retinohipotalámica (Legan y Winans, 1981). El papel de la retina, de los ganglios cervicales superiores y los núcleos supraquiasmáticos se estableció al demostrar que la lesión de estas estructuras modificaba la respuesta al fotoperíodo (Lincoln, 1979; Domanski *et al.*, 1980; Legan y Karsch, 1983). Así, los carneros de la raza Soay sometidos a una alternancia de períodos de 16 semanas de días largos y 16 semanas de días cortos, manifestaron períodos cortos de actividad sexual que estuvieron sincronizados entre los animales y cuya duración fue de aproximadamente 32 semanas. Sin embargo, después de la gangliectomía cervical superior, el peso testicular se mantuvo constante (Lincoln, 1979).

Considerando que la glándula pineal carece de proyecciones nerviosas, su influencia sobre las funciones fisiológicas se ejerce a través de la principal hormona secretada por la glándula que es la melatonina, la cual traduce los efectos del fotoperíodo sobre la función reproductiva (Malpaux *et al.*, 1997). De esta manera la glándula pineal es el punto final de la vía nerviosa proveniente de los ojos y el punto inicial de la transformación de la información fotoperiódica en un mensaje hormonal ( Malpaux *et al.*, 1993).

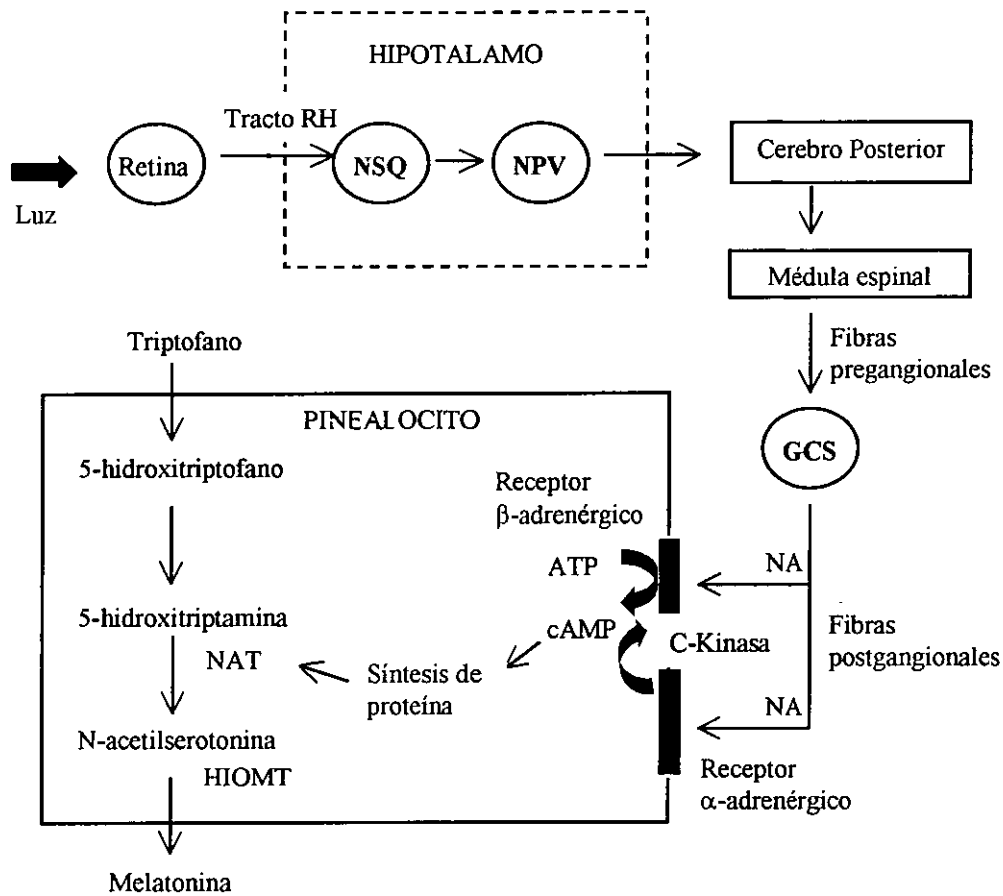


Figura 1. Representación esquemática de los mecanismos que controlan la síntesis de melatonina. Primeramente la información luminosa es recibida por la retina y de ahí transmitida a los núcleos supraquiasmáticos (NSQ) a través del tracto retino-hipotalámico. De ahí, la información es transmitida vía los núcleos paraventriculares (NPV), cerebro posterior, médula espinal y ganglio cervical superior (GCS) a los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$  y  $\beta_1$  en la glándula pineal. RH= Retinohipotalámico; NAT=N-acetiltransferasa; HIOMT=Hidroxitriptamín-*O*-metiltransferasa, NA=noradrenalina (Tomado de Arendt, 1995).

## 2.4. Importancia de la glándula pineal y de la secreción de melatonina

Actualmente no hay duda de que la glándula pineal es el principal órgano encargado de traducir la información fotoperiódica a través de la secreción de una de sus principales hormonas, la melatonina (Turek y Campbell, 1979; Reiter, 1980; Karsch *et al.*, 1984; Arendt, 1995). Esto ha sido demostrado en muchos mamíferos, por ejemplo, la pinealectomía realizada en el hámster, hurón, rata y la yegua (animales de reproducción de días largos) los hace insensibles al fotoperíodo (Thorpe y Herbert, 1976; Sharp *et al.*, 1979).

En los ovinos, Lincoln (1979) fue el primero en demostrar la participación de la glándula pineal en la percepción de la longitud del fotoperíodo. Este autor demostró que la denervación de la glándula pineal, o remoción del ganglio-cervical superior, destruye la habilidad de los carneros Soay para responder a los cambios del fotoperíodo artificial. Así, cuando los animales gangliectomizados fueron expuestos a períodos alternos de 4 meses de días largos y 4 meses de días cortos, estos machos no presentaron ciclos sincronizados de crecimiento y regresión testicular, los cuales sí fueron observados en los animales intactos utilizados como testigos. Por otro lado, Bittman *et al.* (1983) demostró que la pinealectomía realizada en ovejas Sulffok ovariectomizadas y tratadas con un implante de estradiol, las hizo incapaces de mostrar cambios importantes en la concentración de LH que se observaron en los animales con pineal intacta después de cada cambio en el fotoperíodo. Aunque los niveles de LH en los animales pinealectomizados permanecieron fluctuantes, los cambios no estuvieron sincronizados entre los animales, ni con los cambios del ciclo fotoperiódico (Legan *et al.*, 1977). De manera similar, en la cordera prepúber, la pinealectomía o la denervación de la glándula retrasa la pubertad, lo cual constituye otra evidencia de que el papel de la glándula

pineal es la transformación de la información fotoperiódica al eje reproductivo (Kennaway *et al.*, 1985; Yellon y Foster, 1986).

La glándula pineal es un órgano de notable historia evolutiva. En vertebrados inferiores (peces y anfibios), la pineal yace cercana a la piel y es directamente fotosensible, por lo que ha sido denominada como el "tercer ojo"; mientras que en reptiles y aves, existe una mezcla de funciones fotoreceptoras y secretoras. Sin embargo, en ninguna de éstas especies, la pineal tiene una conexión directa con el sistema visual (Arendt, 1995). En los mamíferos, la glándula pineal es de naturaleza enteramente secretoria y consiste de pinealocitos, los cuales son células fotoreceptoras modificados que se caracterizan por poseer vesículas granulosas (Arendt, 1986; 1995). La pineal está inervada por fibras nerviosas simpáticas provenientes de los ganglios cervicales superiores (Kappers, 1960). Esta inervación simpática es esencial para su función con relación a la percepción del ciclo de luz/obscuridad, vía la secreción de melatonina (Arendt, 1995). Con relación al peso corporal, la pineal es muy pequeña (50 a 150 mg en el hombre, 1 mg en la rata y de 80 a 120 mg en el ovino; Arendt, 1986); sin embargo, su flujo sanguíneo por mg de tejido es solamente superado por el riñón.

## **2.5. Síntesis y liberación de la melatonina**

La melatonina es una hormona secretada por la glándula pineal con un ritmo día-noche bien definido (Rollag y Niswender, 1976; Arendt, 1986; Chemineau *et al.*, 1992b). En ovinos y caprinos, los niveles plasmáticos diurnos son mínimos, generalmente indetectables (<5 pg/ml), mientras que los niveles nocturnos son elevados y varían de 100 a 500 pg/ml en ovinos y de 50 a 150 pg/ml en caprinos (Malpoux *et al.*, 1987; Delgadillo y Chemineau, 1992). Este

ritmo de secreción de melatonina es endógeno, ya que cuando los animales son mantenidos en obscuridad constante, la secreción de melatonina sigue siendo rítmica. Sin embargo, la duración del ciclo de secreción en estas condiciones es diferente de 24 horas y no está sincronizada entre los animales (Ebling *et al.*, 1988). Por lo tanto, la función de la luz es únicamente la de ajustar este ritmo a un período de 24 horas, siendo los núcleos supraquiasmáticos el reloj endógeno que controla la secreción de melatonina (Malpaux *et al.*, 1997). La duración de los niveles elevados de melatonina está determinada por la duración del período de obscuridad dependiendo de la especie (Arendt, 1998; Chemineau *et al.*, 1992b).

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

La secuencia en la síntesis de melatonina en los pinealocitos incluye sucesivamente al triptofano, hidroxilación por la triptofano 5-hidroxilasa a 5-hidroxitriptofano, descarboxilación por la descarboxilasa a 5-hidroxitriptamina (serotonina), acetilación por la N-acetil transferasa a N-acetil serotonina (NAT) y metilación por la hidroxindol-o-metil-transferasa a melatonina (Ver Figura 3; Arendt, 1995). La transformación del triptofano en 5-hidroxitriptofano, por la enzima triptofano hidroxilasa es una etapa limitante en la síntesis de melatonina, pero la regulación circadiana de la secreción de la hormona se realiza a través de la enzima N-acetiltransferasa (NAT), que cataliza la transformación de serotonina en N-acetil serotonina (Malpaux *et al.*, 1997). La actividad de la NAT se incrementa de 30 a 70 veces por la noche y,

en muchas circunstancias, es la etapa limitante en la síntesis de melatonina (Klein *et al.*, 1997).

El inicio de la oscuridad es seguido, en la pineal, por un rápido incremento en la liberación de noradrenalina proveniente de las terminaciones nerviosas que se originan en el ganglio cervical superior. La noradrenalina se une a los receptores adrenérgicos  $\alpha 1$  y  $\beta 1$  del pinealocito, los cuales estimulan un incremento de AMPc (Klein, 1985). El AMPc activa una proteína kinasa que estimula la actividad de la enzima N-acetil transferasa. Trabajos recientes en ovinos sugieren la existencia de un mecanismo adicional de regulación de la secreción de melatonina independiente de la NAT, pero dependiente del calcio (Van Camp *et al.*, 1991).

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

## 2.6. Melatonina y estacionalidad reproductiva

Se ha demostrado en un buen número de especies fotoperiódicas, incluyendo al ovino, que la glándula pineal juega un papel importante en la traducción de la información fotoperiódica (Lincoln, 1979; Bittman *et al.*, 1983). Asimismo se ha demostrado que la duración de la secreción de melatonina es un parámetro crítico que codifica la longitud del día para la organización del ritmo anual de reproducción (Arendt, 1998). Además, este ritmo endógeno anual puede persistir aún cuando se realiza la pinealectomía o se suprime la información fotoperiódica (Legan y Karsch, 1983; Bittman *et al.*, 1983).

Por otro lado, la importancia de la melatonina en la mediación de la información fotoperiódica se demostró claramente mediante la administración exógena de la hormona, con lo cual fue posible reproducir el efecto de los días cortos en ovejas expuestas a días largos, así como los efectos del fotoperíodo en ovejas y cabras pinealectomizadas o ganglioectomizadas (Malpaux *et al.*, 1993). Por ejemplo, en un ciclo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad, la melatonina es secretada por un periodo corto, es decir aproximadamente 8 horas. De la misma manera, cuando se administra melatonina exógena por vía oral o por inyección intramuscular, a la mitad de la fase de luz, se logra mantener elevados los niveles de melatonina hasta el inicio de la oscuridad, lo cual imita el perfil de día corto (mayor tiempo de secreción de melatonina; Rollag *et al.*, 1978; Kennaway y Samark, 1980; Arendt *et al.*, 1981). Este tratamiento aplicado por varias semanas cuando los animales están en días largos, induce una estimulación de la actividad reproductiva, es decir, un efecto de días cortos, tanto en ovejas (Kennaway *et al.*, 1982; 1983; Arendt *et al.*, 1983; English *et al.*, 1986; Poulton *et al.*, 1987) como en cabras (Chemineau *et al.*, 1986a). El mismo efecto puede lograrse por la aplicación



de melatonina exógena de liberación constante (implantes subcutáneos, dispositivos intravaginales o intraruminales), lo cual también resulta en una estimulación de la actividad reproductiva cuando se aplica a los animales que están percibiendo días largos (Lincoln y Ebling, 1985; English *et al.*, 1986; Poulton *et al.*, 1987). Los tratamientos fotoperiódicos de días cortos pueden, de esta manera, ser reemplazados por tratamientos con melatonina, ya que el mantenimiento de niveles altos de melatonina imita el efecto de días cortos (Chemineau *et al.*, 1992b). Sin embargo, para que estos tratamientos tengan éxito, es necesario que los animales hayan tenido la experiencia previa de un período de exposición a días largos antes del tratamiento con melatonina exógena (Arendt, 1998).

## 2.7. Melatonina y fotorefractariedad

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

de la fotorefractariedad radica en el procesamiento postpineal del mensaje fotoperódico (Malpaux *et al.*, 1987), y soportan la segunda hipótesis sobre el origen de la fotorefractariedad. Esta segunda hipótesis postula que la fotorefractariedad es causada por un cambio en la respuesta a una señal de melatonina que permanece inalterable (Malpaux *et al.*, 1987). La segunda hipótesis es apoyada en el ovino, por las siguientes evidencias: Primero, no existe evidencia de una modificación en el patrón de secreción de melatonina cuando la oveja se vuelve refractaria a días cortos o a días largos (Malpaux *et al.*, 1987). Los resultados de estos autores mostraron que la duración de la secreción de melatonina fue cercana a 8 horas en días largos (16 h luz y 8 h oscuridad; 16L:8D) y a 15 horas en días cortos (8 h luz y 16 h de oscuridad; 8L:16D), y la fase relativa al ciclo luz-oscuridad no cambió, ya sea que las ovejas fueran fotosensibles o fotorefractarias (Malpaux *et al.*, 1987, 1988). Segundo, las ovejas tratadas con melatonina para imitar un perfil de días cortos muestran una activación de la actividad reproductiva típica a días cortos después de 50 días y luego una disminución de dicha actividad así como en la concentración de LH después de 120 o 150 días, característica del desarrollo de una refractariedad a días cortos (Malpaux *et al.*, 1987). De esta manera, la refractariedad causada por la administración de melatonina simulando días cortos se desarrolló en la misma forma que la refractariedad causada por un fotoperíodo de días cortos, y en ambos casos, no implicó cambios en el patrón de secreción de melatonina (Malpaux *et al.*, 1987). Esto sugiere que los mecanismos responsables de la refractariedad son de origen nervioso (Malpaux *et al.*, 1997). Esto tiene algunas implicaciones: Primero, como la refractariedad en la oveja es probablemente la expresión de un ritmo endógeno, la glándula pineal y su secreción de melatonina no pueden ser partes de ese reloj anual. Segundo, la interpretación de un perfil de melatonina puede cambiar en el tiempo (Malpaux *et al.*, 1993). Al respecto, Karsch *et al.*

(1986) demostraron que la infusión prolongada de melatonina en ovejas pinealectomizadas se vuelve inefectivo en el tiempo para mantener la función reproductiva.

Esto también ha sido demostrado en estudios realizados tanto en el hámster como en el ovino, en los que la misma señal de melatonina fue capaz de desencadenar respuestas diferentes, en función de la naturaleza de la exposición previa a melatonina. Así por ejemplo, la transferencia de hámsters de un fotoperíodo corto (8 h luz y 16 h de oscuridad, 8L:16D) a uno intermedio (12 h luz y 12 h oscuridad, 12L: 12D) conduce a la percepción del fotoperíodo intermedio como un día largo; mientras que la transferencia de un fotoperíodo largo (16 h luz y 8 h oscuridad, 16L: 8D) a uno intermedio (12L: 12D) conduce a la percepción de este último como un día corto (Hasting *et al.*, 1989). De manera similar, en ovejas ovariectomizadas y tratadas con estradiol, mantenidas inicialmente en 16 horas luz y 8 horas de oscuridad (16L: 8D) y luego transferidas a 13 horas de luz y 11 horas de oscuridad (13L: 11D) se observó una estimulación de la actividad gonadotrópica, es decir que el ritmo de 13L/11D está traducido como días cortos. Contrariamente, en ovejas mantenidas inicialmente en 10 horas luz y 14 horas de oscuridad (10L: 14D) y luego transferidas a 13 horas luz y 11 oscuridad (13L: 11D), se observa una inhibición de la actividad gonadotrópica (Robinson y Karsch, 1987). Por consiguiente, la misma señal fotoperiódica (13L: 11D) puede ser inhibitoria o estimuladora dependiendo del fotoperíodo previo al cual los animales estuvieron expuestos. Por lo tanto, se concluye que la historia fotoperiódica es importante en la interpretación de la señal de duración de la secreción de melatonina (Arendt, 1998). Además, no es la duración absoluta, sino más bien el cambio relativo en la duración de la secreción de melatonina nocturna, el responsable de la transición de la información fotoperiódica al eje reproductivo (Devenson *et al.*, 1992).

## 2.8. Sitios de acción de la melatonina

La acción principal de la melatonina involucra eventos dentro del sistema nervioso central, y específicamente dentro del hipotálamo (Malpaux *et al.*, 1996). En todas las especies estudiadas hasta hoy (fotoperiódicas y no fotoperiódicas) se ha reportado una alta densidad de receptores a melatonina en la pars tuberalis (PT) de la adenohipófisis (De Reviers *et al.*, 1989; Morgan *et al.*, 1989). Con base en estas observaciones se sugirió que el sitio de acción principal de la melatonina era la pars tuberalis; sin embargo, la inserción de microimplantes de melatonina en el complejo hipotálamo-hipófisis en ovejas ovariectomizadas y tratadas con un implante de estradiol, demostró que la pars tuberalis no era el órgano blanco para la acción reproductiva de la melatonina. Por otro lado, los microimplantes de melatonina colocados inicialmente en las áreas hipotalámicas y perihipotalámicas demostraron que únicamente en el hipotálamo mediobasal eran eficaces para inducir una modificación de la secreción pulsátil de LH. Contradictoriamente, en este lugar se ha reportado una baja densidad de receptores a melatonina (Bittman y Weaver, 1990; Chabot *et al.*, 1994). En otro estudio, Lincoln y Maeda (1992) colocaron microimplantes en el área preóptica y en el hipotálamo mediobasal de carneros Soay mantenidos en días largos (16 h de luz y 8 h de oscuridad). Todos los animales con implantes en el hipotálamo mediobasal respondieron con un incremento en la secreción de FSH y con un adelanto en el crecimiento testicular. Malpaux *et al.*, (1993), utilizando el modelo de ovejas ovariectomizadas tratadas con estradiol y mantenidas en días largos (16 h luz y 8 h oscuridad), encontraron que los microimplantes colocados en el área preóptica o en el hipotálamo anterior no tuvieron efecto sobre la secreción plasmática de LH; mientras que 7 de 12 animales con implantes en el hipotálamo mediobasal respondieron con un incremento en la secreción de LH. Con base en estos estudios, se ha sugerido que el hipotálamo mediobasal,

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

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

Estos resultados contrastan con los estudios anteriores que mostraban que los microimplantes colocados en el hipotálamo mediobasal podían estimular la secreción de LH en sólo el 50 % de los animales (Malpaux *et al.*, 1993; 1995) y sugieren fuertemente que el área hipotalámica premamilar es un sitio importante para la acción de la melatonina sobre la secreción de la LH (Malpaux *et al.*, 1998). El siguiente paso, y fundamental será identificar las células blanco, en las cuales actúa la melatonina dentro de esa área.

## 2.9. Mecanismos de acción de la melatonina

El efecto final de la melatonina es la modificación de la secreción pulsátil de GnRH a nivel hipotalámico (Vigué *et al.*, 1995), lo cual a su vez ocasiona cambios en la frecuencia de liberación de LH a nivel hipofisiario (Bittman *et al.*, 1985). Aunque mucho se conoce acerca de la acción de la melatonina, los mecanismos por los cuales ejerce su acción sobre el sistema generador de pulsos de GnRH no son del todo conocidos.

Malpaux *et al.*, (1989) han demostrado que la transición de la estación reproductiva a la estación de anestro y viceversa resulta de efectos inhibitorios y estimulatorios. Sin embargo, el conocimiento de la participación del sistema nervioso central en la regulación estacional, está mayormente relacionado con efectos inhibitorios. Así, Goodman y Meyer (1984) demostraron que la anestesia con pentobarbital en ovejas anéstricas provocó un incremento de los pulsos de LH, lo cual sugiere que la inhibición es un fenómeno nervioso activo. Un poco más tarde, Meyer y Goodman (1985) demostraron que la inhibición gonadotrópica es de naturaleza catecolaminérgica, ya que el uso de antagonistas alfa-adenérgicos (dibenamina o fenoxibenzamina) o dopaminérgicos (pimozide o flufenazida) en ovejas en anestro estacional podía suprimir estos efectos inhibitorios.

Por otro lado, existen evidencias que demuestran que la melatonina no actúa directamente sobre las neuronas GnRH. En primer lugar, una gran proporción de las neuronas productoras de GnRH (60 %) está localizada en el área preóptica del hipotálamo (Advis *et al.*, 1985), mientras que sólo una proporción mínima (15 %) está localizada en el hipotálamo mediobasal (Caldani *et al.*, 1988). Estas neuronas proyectan hacia el interior de la eminencia

media para liberar GnRH en el sistema porta hipotálamo-hipofisiario. La falta de receptores a melatonina y de acción de los microimplantes de melatonina en la región septopreóptica del hipotálamo, sugiere que la acción de la melatonina sobre las neuronas GnRH es indirecta e implica la mediación de interneuronas y neurotransmisores (Malpoux *et al.*, 1993). En segundo lugar, el retardo entre el inicio del tratamiento con melatonina y la manifestación de la respuesta en términos de secreción de GnRH o LH (40 ó 50 días en la oveja, 15 días en el carnero) sugiere una regulación mucho más compleja (Karsch *et al.*, 1984; D'Occhio *et al.*, 1984).

Diversos estudios neurofarmacológicos han mostrado que la inhibición de la secreción de LH involucra la activación de los sistemas catecolaminérgicos del área preóptica y del hipotálamo mediobasal por el estradiol durante el anestro. Dentro del hipotálamo mediobasal la estructura más importante parece ser la región retroquiasmática, donde se encuentra el núcleo dopaminérgico A15 (Thiery *et al.*, 1995), y la eminencia media, la cual contiene los axones terminales de las neuronas de GnRH que controlan la liberación pulsátil de LH (Thiéry y Martin, 1991). El núcleo A15 al parecer es la estructura dopaminérgica clave involucrada en la mediación de los efectos inhibitorios del estradiol durante los días largos, ya que la lesión neurotóxica de esta estructura durante el anestro causa un incremento en la secreción de la LH (Thiery *et al.*, 1989).

El efecto inhibitorio de la dopamina sobre la secreción de LH ha sido demostrado por Meyer y Goodman (1985), quienes indujeron un incremento temporal en la secreción de LH en ovejas anéstricas después de la aplicación sistémica de un antagonista de la dopamina (pimozida). Este antagonista causó el mismo efecto en ovejas ovariectomizadas e implantadas

con estradiol inhibidas por exposición a días largos (Le Corre y Chemineau, 1993).

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

Además de la dopamina, se ha encontrado que otros neurotransmisores están implicados en los cambios estacionales de la reproducción. Dentro de los principales se puede mencionar a la serotonina, ya que la aplicación de un antagonista serotoninérgico (ciproheptidina) produjo una intensa liberación de LH en ovejas ovariectomizadas tratadas con días largos. Esto sugirió que la serotonina podía ser la responsable de la inhibición de la secreción de LH independiente de los esteroides gonadales (Meyer y Goodman, 1986; Wishnant y Goodman, 1990; Thiery *et al.*, 1995).

Por otro lado, se ha reportado que los aminoácidos excitatorios como el glutamato, aspartato, y otros pueden estar involucrados en la regulación de la secreción de LH por la melatonina (Lincoln y Wu, 1991; Vigiúé *et al.*, 1995; Gallegos-Sánchez *et al.*, 1996). De manera similar, existen evidencias que involucran a las hormonas tiroideas (tiroxina) en las variaciones estacionales en la secreción de LH. Así, la tiroidectomía en ovejas (Moenter *et al.*, 1991) y en carneros (Parkinson y Follet, 1994), anuló las variaciones estacionales en la actividad reproductiva. Por otro lado, la administración de tiroxina restableció la expresión del ritmo de secreción de gonadotropinas (Webster *et al.*, 1991).



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

## 2.10. Prolactina y estacionalidad

La mayoría de los mamíferos que manifiestan una reproducción estacional exhiben marcadas variaciones estacionales en las concentraciones plasmáticas de prolactina, con niveles altos en verano y bajos en invierno. Estas variaciones estacionales en la secreción de prolactina han sido observadas en ovinos (Forbes *et al.*, 1975; Lincoln *et al.*, 1978), caprinos (Buttle, 1974; Muduuli *et al.*, 1979) y bovinos (Koprowski y Truke, 1973; Schams y Reinhardt, 1974). En el caso de ovinos y caprinos, estas variaciones estacionales en la secreción de prolactina son muy evidentes debido a que tienen una estación reproductiva bien definida.

El perfil estacional de esta secreción es causado por cambios en el fotoperíodo. Los días largos estimulan la secreción de prolactina en tanto que los días cortos tienen el efecto opuesto (Curlewis *et al.*, 1995). Bajo condiciones ambientales naturales, tanto los machos (Pelletier, 1973; Ravault y Ortavant, 1977), como las hembras (Thimonier y Ravault, 1978; Jackson y Jensen, 1991) presentan un ritmo anual en las concentraciones circulantes de prolactina. Este perfil de secreción de prolactina también es afectado cuando los animales son sometidos a fotoperíodos artificiales largos (16 h de luz y 8 h de oscuridad) o fotoperíodos

cortos (8 h luz y 16 h oscuridad) (Frobes *et al.*, 1975; Lincoln y Short, 1980; Lincoln *et al.*, 1982). De igual manera, los niveles plasmáticos de prolactina se ven afectados por fotoperíodos cortos en los que se agrega un pulso de luz de una hora durante la noche (Ravault y Ortavant, 1977). En este último caso, los animales responden como si estuvieran expuestos a días largos, presentando elevadas concentraciones plasmáticas de prolactina.

El comportamiento estacional en la secreción de prolactina ha sido descrito en numerosas especies y ha habido muchos intentos por relacionarla con la reproducción estacional, así como también con otras características estacionales, como el crecimiento del pelaje y el ciclo de muda (Curlewis, 1992). Para muchos autores, las concentraciones de prolactina forman parte del control fotoperiódico de la estacionalidad reproductiva en el ovino (Walton *et al.*, 1977; Lincoln *et al.*, 1978). Estos autores basaron sus afirmaciones en la relación inversa que existe entre las concentraciones de prolactina y la actividad reproductiva en varias razas de ovinos. Actualmente existen argumentos para rechazar esta hipótesis ya que algunas razas de ovinos como la Dorset Horn, Merino y la oveja Pelibuey de México, empiezan a ciclar alrededor del solsticio de verano (Webster y Haresing, 1983; Porras *et al.*, 1996; Silva *et al.*, 1998), es decir, poco antes de que el fotoperíodo comience a disminuir, cuando las concentraciones de prolactina son las más altas.

Asimismo, Worthy y Haresing (1983) y Worthy *et al.* (1985) encontraron evidencias que indican que tanto el inicio del anestro como el de la estación reproductiva en el ovino pueden ser independientes de las concentraciones de prolactina. De hecho, estos autores demostraron que en las ovejas Dorset Horn (estación reproductiva larga) y Welsh Mountain (estación reproductiva corta), el inicio de la actividad reproductiva ocurre en presencia de altas

concentraciones de prolactina, lo cual sugiere que es improbable que la prolactina sea un factor determinante en el momento del inicio de la estación reproductiva.

Sin embargo, a pesar de que la prolactina al parecer no tiene una influencia sobre el ciclo anual de reproducción, los cambios en la secreción de esta hormona son frecuentemente usados como un indicador de la respuesta al fotoperíodo por los animales, ya que ocurren muy rápido después de los cambios fotoperiódicos (Malpaux *et al.*, 1993).

### **III. Actividad reproductiva de ovinos y caprinos originarios de zonas tropicales**

En las regiones tropicales (<25°), donde los cambios del fotoperíodo a través del año no son tan marcados, muchas razas de ovinos y caprinos originarios de estas regiones tienen el potencial para reproducirse en cualquier época del año (Delgadillo y Malpaux, 1996). Por ejemplo, en las cabras de la Isla de Guadalupe en el Caribe más del 80 % de las hembras presentan actividad estral y ovárica durante todo el año (Chemineau, 1986). Observaciones similares han sido reportadas en estudios realizados en las cabras nativas de Venezuela (González-Stangaro y Madrid-Burney, 1982), Brasil (Simplicio y Nunes, 1986), Malasia (Sutherland y Jainudeen, 1987), Zimbabwe (Llewelyn *et al.*, 1993) y las ovejas Criollas de Martinica (Mahieu *et al.*, 1989). De la misma manera, los machos Criollos de la Isla de Guadalupe, no presentan variaciones estacionales de la libido, del peso testicular, ni de la producción espermática (Chemineau, 1986).

En estas regiones, se considera que la disponibilidad de alimento es el principal factor del medio ambiente que regula la actividad reproductiva (González-Stangaro, 1983; Bronson y

Heideman, 1994; Delgadillo y Malpoux, 1996). En Kenia, por ejemplo, la actividad sexual de los ovinos de la raza British está determinada por el patrón de lluvias, el cual mejora la disponibilidad alimenticia para los animales (Anderson, 1964). Sin embargo, existen razas como la oveja Pelibuey (Cerna-Corpus *et al.*, 2000) y la cabras Criollas explotadas en el centro de México (19°N; Valencia *et al.*, 1990) que también presentan variaciones estacionales de su actividad sexual, aun cuando son mantenidas en un plan alimenticio constante.

#### **IV. Actividad reproductiva de los ovinos y caprinos originarios de regiones subtropicales**

En los ovinos y caprinos originarios de regiones subtropicales (25-40°), la actividad reproductiva es un aspecto que no ha sido tan ampliamente estudiado como en aquellos de climas templados. Sin embargo, existen datos que demuestran que en algunas razas originarias de estas latitudes también manifiestan una marcada estacionalidad reproductiva (Santa María *et al.*, 1988; Walkden-Brown *et al.*, 1994; Delgadillo *et al.*, 1999).

En las hembras caprinas de la raza Cashmere en Australia (29° S), la época de actividad sexual se presenta de febrero a agosto (otoño-invierno), mientras que el periodo de anestro es observado de septiembre a enero (primavera-verano; Restall *et al.*, 1991). En los machos de la misma raza, se han observado también variaciones estacionales del peso testicular y de la producción espermática, así como en las concentraciones de testosterona y LH. Los valores promedio más bajos de las variables mencionadas se presentan durante la primavera y el verano (Restall *et al.*, 1991; Walkden-Brown *et al.*, 1994). Asimismo, las glándulas sebáceas ubicadas alrededor de los cuernos, las cuales son estimuladas por la

testosterona, presentan una estacionalidad en su actividad, provocando cambios en la intensidad del olor que desprenden los machos (Walkden-Brown *et al.*, 1994).

En estas latitudes subtropicales, la alimentación es considerada como un factor muy importante para el desarrollo del ciclo anual de reproducción de las especies que se explotan en estas regiones (Walkden-Brown *et al.*, 1994; Delgadillo y Malpoux, 1996). Por ejemplo, en los machos cabríos de la raza Cashmere la actividad de las gónadas es influenciada por el nivel de alimentación (Walkden-Brown *et al.*, 1994).

En el subtrópico Mexicano, y particularmente en la Comarca Lagunera (26° N), los caprinos también muestran marcadas variaciones estacionales de su actividad reproductiva (Sáenz-Escárcega *et al.*, 1991; Delgadillo *et al.*, 1997; Duarte, 1999; Delgadillo *et al.*, 1999). En las hembras, el período de actividad sexual inicia en agosto y termina en febrero, mientras que el período de anestro se observa de marzo a julio (Ver Figura 1; Duarte *et al.*, 1999). En los machos, el período de actividad sexual inicia en mayo y termina en diciembre. Durante este período, la libido y la producción espermática de los machos son elevadas, mientras que el período de reposo sexual se observa de enero a abril (Ver Figura 2; Delgadillo *et al.*, 1999).

Los períodos de anestro en las hembras y de reposo sexual en los machos coinciden con la época de sequía de la región, y por consiguiente, con una disminución en la disponibilidad de alimentos. Por ello, Sáenz-Escárcega *et al.* (1991) sugirieron que la alimentación era el factor responsable de las variaciones de la actividad reproductiva de los caprinos de la Comarca Lagunera. Sin embargo, en los animales estabulados y alimentados

adecuadamente, se observaron también variaciones estacionales en la actividad sexual (Delgadillo *et al.*, 1999; Duarte, 1999). Estos datos sugieren que la alimentación no es el único factor determinante para la presentación de la estacionalidad reproductiva, como se ha reportado en otras razas originarias de zonas subtropicales (Walkden-Brown *et al.*, 1994). Es probable que el fotoperíodo (duración del día), sea el factor del medio ambiente responsable de la sincronización de la actividad sexual anual de los caprinos originarios del norte de México.

Para demostrar que la estacionalidad reproductiva es provocada por el fotoperíodo, Duarte (1999) y Delgadillo *et al.* (2000) sometieron a hembras y machos, respectivamente, a un tratamiento fotoperiódico de tres meses de exposición a días largos (14 horas de luz por día) alternados con tres meses de exposición a días cortos (10 horas de luz por día), durante dos años consecutivos. En las hembras, la actividad ovárica inició en promedio  $64 \pm 3$  días después del cambio de régimen y terminó, en promedio,  $38 \pm 4$  días después del paso de días cortos a días largos (Duarte, 1999). En los machos, las concentraciones de testosterona se incrementaron durante la exposición a días cortos y disminuyó durante los días largos (Delgadillo *et al.*, 2000). Los resultados anteriores demuestran que los caprinos de la Comarca Lagunera son sensibles a las variaciones del fotoperíodo y que este factor está posiblemente relacionado en el desarrollo del ciclo anual de reproducción de los caprinos en condiciones naturales.

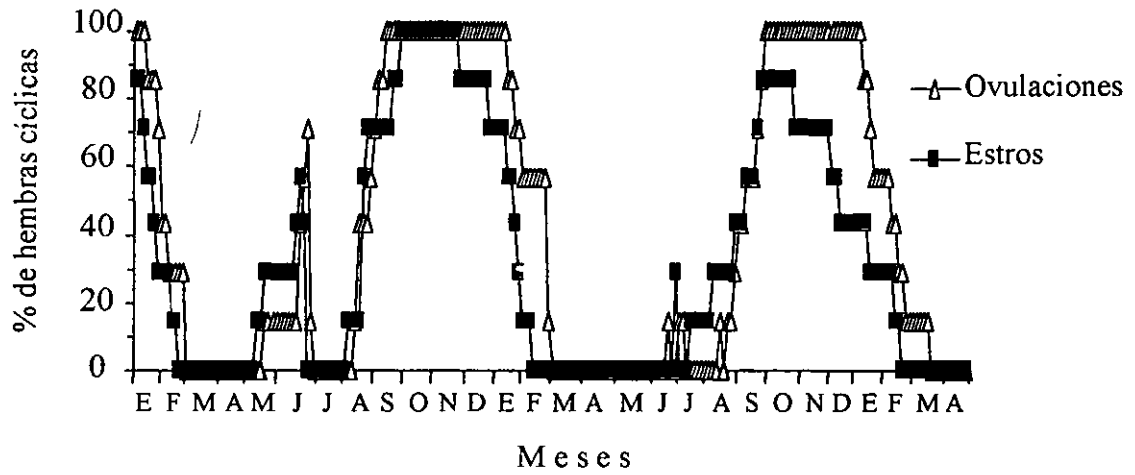


Figura 2. Variaciones estacionales de la actividad estral y ovulatoria de las cabras Criollas del Norte de México (26°N) sometidas a las variaciones naturales del fotoperíodo (Tomado de Duarte, 1999).

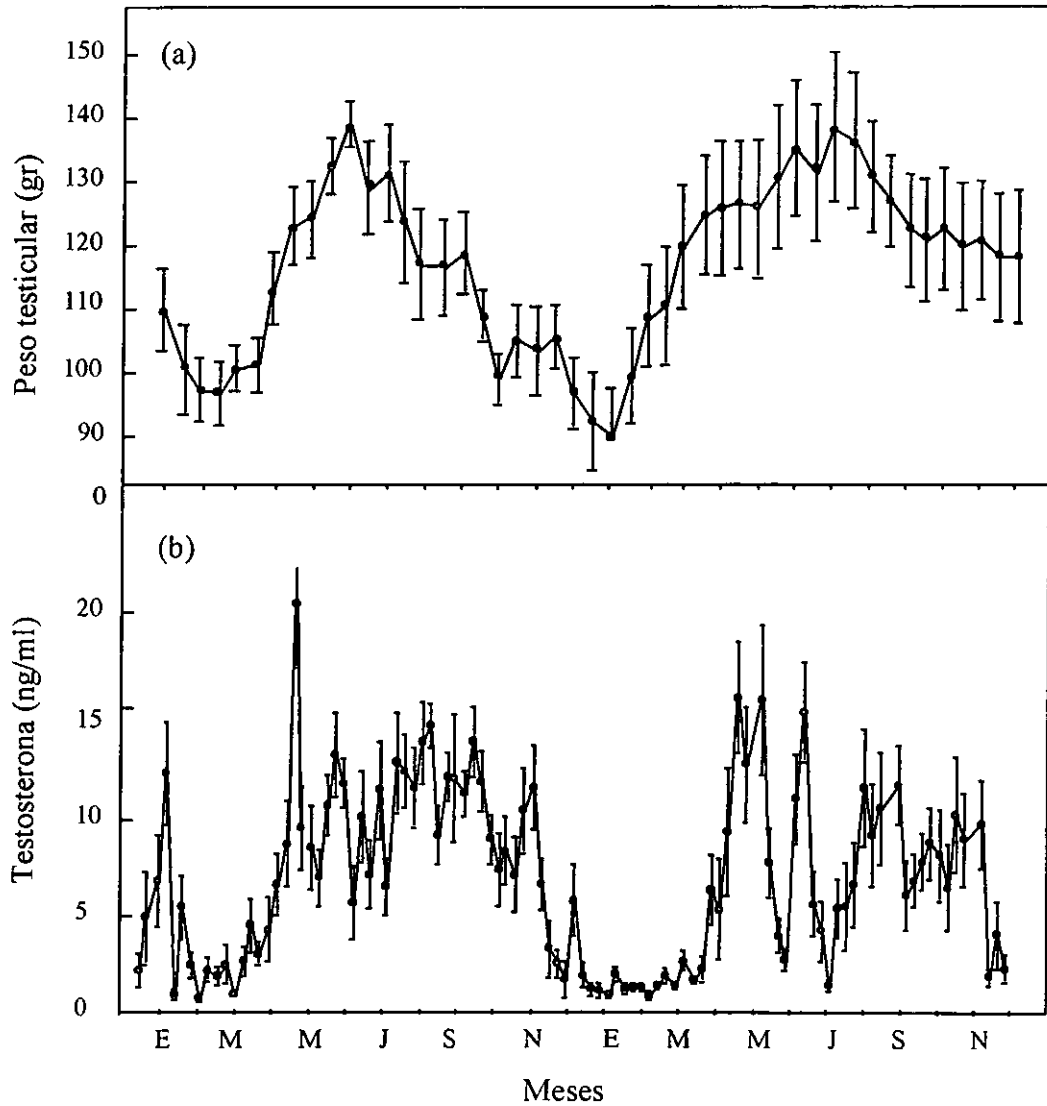


Figura 3. Variaciones estacionales (media  $\pm$  EEM) del peso testicular (a) y de las concentraciones plasmáticas de testosterona (b) de los machos cabríos Criollos del Norte de México (26° N) sometidos a las variaciones naturales del fotoperiodo y temperatura (Tomado de Delgadillo *et al.*, 1999).



## V. Control de la actividad reproductiva por interacciones socio-sexuales

La mayoría de las investigaciones sobre los mecanismos que controlan la reproducción se han basado fundamentalmente en las relaciones de los sistemas neuroendócrinos con algunos factores del medio ambiente como la temperatura y el fotoperíodo. Sin embargo, en muchas especies tanto silvestres como domésticas, las relaciones sociales intervienen en los procesos neuroendócrinos que controlan la reproducción (Signoret y Baltazart, 1993).

### 5.1. Comportamiento sexual de los caprinos

En numerosas especies, el comportamiento sexual se expresa únicamente en un contexto social particular, por ejemplo: la obtención de un territorio, la posición dominante o la formación de parejas. Un contexto social desfavorable puede perturbar gravemente la reproducción como lo muestra las dificultades para reproducirse que tienen algunas especies salvajes en cautiverio. Aunque el ambiente social de los caprinos domésticos, como de otros mamíferos, está controlado principalmente por el hombre, ciertos aspectos (jerarquía, relaciones individuales) pueden influir en la reproducción de manera no controlada. Conocer el contexto social normal en el que se desarrolla la reproducción, puede ayudar a comprender y a manipular las relaciones de los animales en estas condiciones naturales.

Existen algunos datos en caprinos domésticos que han sido regresados a un estado salvaje (cabra salvaje *Capra hircus*; Mc Taggart, 1971; Dunbar *et al.*, 1990) o en especies cercanas (Cabra de las montañas rocosas *Oreamnos Americanus*; Geist, 1965). En estas

especies, los machos y hembras viven separados fuera del período de reproducción. Las hembras viven en pequeños grupos estables comprendiendo una o más hembras adultas, sus crías del año y quizás una o dos hembras jóvenes de 2 a 2.5 años. Los machos viven aislados o en pequeños grupos en dominios diferentes a los de las hembras. Durante este periodo, las hembras excluyen, de manera algunas veces agresivas, a los machos si estos se aproximan. Justo antes del inicio de la estación sexual, los pequeños grupos de hembras se desplazan fuera de su dominio a la búsqueda de machos y son más tolerantes a la presencia de estos. Los pequeños grupos se juntan quizás de manera transitoria, en bandas más importantes. Los machos participan entonces en combates, de los cuales, los más frecuentes son entre dos machos de la misma edad (Dunbar *et al.*, 1990). La mayoría de los combates se hacen de frente; los machos se levantan sobre las patas traseras y se enfrentan volviendo a caer (Geist, 1965; Rouger, 1974). Los golpes son igualmente intercambiados en los costados ocasionando eventualmente heridas. Estas interacciones continúan durante todo el periodo de actividad sexual y van a determinar la posibilidad de acceso a la reproducción (Dunbar *et al.*, 1990). Progresivamente, las hembras se vuelven más tolerantes a la aproximación de los machos y el nivel de la actividad sexual aumenta.

El sistema de reproducción es de tipo promiscuo. Las hembras en el curso de un estro pueden aparearse con muchos machos y los machos con muchas hembras. Durante este periodo, los machos se desplazan de un grupo dependiendo de la presencia de hembras en estro. El reparto de los apareamientos no se hace al azar. Al igual que en los bovinos, la mayoría de los apareamientos se realizan por los machos dominantes luego de los combates (Mc Taggart, 1971; Dunbar *et al.*, 1990). Los otros machos no están, sin embargo, excluidos totalmente de la reproducción: En su estudio, Dunbar *et al.* (1991) encontraron que los machos

de 4 ó 5 años son los que participan más activamente en la reproducción, pero se observa una participación no significativa de ciertos machos, los más viejos (8 años), no dominantes gracias a un comportamiento de tipo oportunista. Lo cual sugiere una función a la vez de dominancia y de experiencia.

El comportamiento sexual se puede dividir en dos fases. La primera, llamada fase precopulatoria ó apetitiva, depende especialmente de la motivación sexual de la pareja. Durante esta fase, el individuo contacta con la compañera y la convence de unirse en una interacción sexual. La segunda fase llamada consumatoria, consiste en la realización del apareamiento.

## **5.2. El efecto macho**

En algunos rumiantes, como la oveja y la cabra, la introducción de un macho dentro de un grupo de hembras previamente separadas de ellos, induce la actividad reproductiva de las mismas en los días siguientes. Este fenómeno denominado “efecto macho” fue primeramente documentado en ovinos de la raza Merino en el oeste de Australia por Underwood *et al.* (1944), quienes observaron que cuando los carneros estaban presentes en el rebaño durante todo el año, había un periodo durante la primavera y el inicio del verano en el cual las ovejas no presentaban ciclos estrales regulares. Posteriormente, observaron que la actividad reproductiva podía ser fácilmente inducida en ese tiempo del año si los machos eran separados de las hembras por unas pocas semanas y posteriormente eran reintroducidos. El resultado fue un adelanto en la estación reproductiva en la cual, las ovejas mostraban ciclos estrales regulares y podía entonces realizarse el apareamiento. Desde entonces, el efecto macho ha sido

estudiado ampliamente en ovinos (Signoret, 1980; Folch *et al.*, 1985; Martin *et al.*, 1986), y en caprinos (Shelton, 1960; Chemineau, 1983; Restall, 1988; Walkden-Brown *et al.*, 1993a).

### **5.3. Cambios endócrinos y de comportamiento inducidos por la introducción de los machos**

La exposición al macho, provoca en las hembras un incremento en la frecuencia y amplitud de pulsos de LH; este aumento se produce a los pocos minutos después de la introducción de los machos (Martin *et al.*, 1986; Poindron *et al.*, 1980; Chemineau *et al.*, 1986b). En cabras, antes de la introducción se observan 0.3 pulsos por hembra en tres horas, con una amplitud media de 0.5 ng/ml. Después de la introducción de los machos, se registran 2.2 pulsos en tres horas, con una amplitud media de 1.2 ng/ml. (Chemineau *et al.*, 1986b). Ese incremento en la secreción de hormonas hipofisarias (LH y FSH) estimula el crecimiento y desarrollo de folículos en el ovario. Estos folículos, a su vez, probablemente secretan grandes cantidades de estradiol, el cual inhibe la secreción de gonadotropinas e impide el desarrollo de nuevos folículos. A medida que el folículo crece se vuelve cada más sensible a la LH en promedio y a su vez secreta más cantidad de estradiol que finalmente provoca la aparición de un pico preovulatorio de LH 52 horas después de la introducción de los machos, seguido de una ovulación 23-24 horas más tarde (oveja: Martin *et al.*, 1986; cabra: Chemineau, 1987).

En la oveja, esta primera ovulación no es fértil y normalmente no va acompañada de estro debido a la ausencia de progesterona antes de la ovulación (Signoret, 1980; Martin y Scaramuzzi, 1983). En una gran proporción de ovejas (50 %), esta primera ovulación es seguida por la formación de un cuerpo lúteo de corta duración, el cual sufre regresión 5-6 días

después de haberse formado, produciéndose una segunda ovulación que, al igual que la primera, tampoco va acompañada de estro. El ciclo que sigue a dicha ovulación, es de duración normal (15-18 días) y termina con una tercera ovulación la cual sí es acompañada de estro. En estas ovejas, el celo aparece, por lo tanto, 24-48 días después de la introducción de los machos (Martin *et al.*, 1986).

Al contrario que en la oveja, en la cabra, la primera ovulación va acompañada con un comportamiento de estro en el 60-70 % de las hembras y es seguida por un ciclo corto de 5-6 días de duración, el cual es observado en el 75 % de las hembras (Ver Figura 4). Este ciclo corto está asociado con una baja secreción de progesterona del cuerpo lúteo y es seguido siempre por una segunda ovulación, en la cual el subsecuente cuerpo lúteo es de duración normal (Chemineau, 1987). Esta segunda ovulación es normalmente acompañada con un estro en el 90 % de las hembras (Chemineau, 1983). Si las hembras no son fecundadas, los subsecuentes ciclos estrales son de duración normal (21 días; Chemineau, 1987). Las otras cabras (25 %) experimentan un ciclo normal después de la primera ovulación y, si no quedan gestantes, ovulan nuevamente 21 días de la primera ovulación.

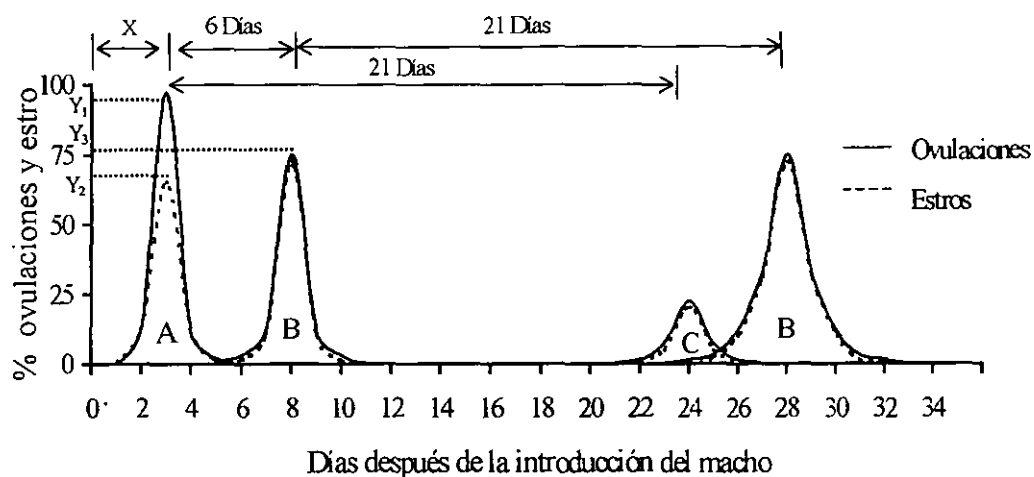


Figura 4. Representación esquemática de la respuesta de las hembras a la introducción del macho en la cabra Criolla de la Isla de Guadalupe en el Caribe. Más del 90 % ( $Y_1$ ) de las hembras ovulan alrededor del día 3 después de la introducción de los machos (pico A). Esta primera ovulación está asociada con un comportamiento de estro en el 62 % de las hembras ( $Y_2$ ). La mayoría de las hembras que ovularon alrededor del día 3 ( $Y_3$ ) experimentan un ciclo ovárico corto y ovulan nuevamente 6 días después de la primera ovulación (pico B). Si las hembras no quedan gestantes, ovulan por tercera ocasión 21 días más tarde. Las otras cabras (25 %) experimentan un ciclo normal después de la primera ovulación y, si no quedan gestantes, ovulan nuevamente 21 días de la primera ovulación (pico C). Las ovulaciones de los picos B, C y D están asociados con comportamiento de estro (Tomado de Chemineau, 1987).

Tanto en ovejas como en cabras que presentan una fase lútea corta, la tasa de ovulación (el número de óvulos liberados) es ligeramente menor en la primera que en la segunda ovulación ( $1.56 \pm 0.73$  y  $2.05 \pm 0.84$ , respectivamente; Chemineau, 1983). De igual manera, la tasa de concepción es más baja en la primera que en la segunda ovulación (23 % y 74 %, respectivamente; Thimonier *et al.*, 1983). Esta disminución en la tasa de concepción es probablemente una consecuencia del ciclo ovárico corto, que usualmente le sigue a la primera ovulación donde la insuficiente cantidad de progesterona producida por el cuerpo lúteo después de la primera ovulación no permite el establecimiento de la gestación (cabra: Chemineau, 1987; oveja: Signoret., 1980). El retorno del funcionamiento normal del ovario

después de la segunda ovulación permite una tasa de concepción equivalente a la obtenida durante la estación sexual (80 vs 87 %, respectivamente). De manera similar, la prolificidad (número de cabritos nacidos por hembra) obtenida mediante el efecto macho es similar o en ocasiones mayor a la obtenida durante la época natural de reproducción (Chemineau, 1987).

#### **5.4. La percepción del macho por la hembra**

En la oveja, el principal factor que provoca la respuesta de la hembra a la introducción de un macho es de tipo olfativo, sobre todo a través de las feromonas del macho (Fulkerson *et al.*, 1981; Signoret y Lindsay, 1982; Knight y Lynch, 1980). En esta especie, el olor del macho es suficiente para inducir una respuesta ovulatoria. Por ejemplo, con la utilización de lana o extractos de lana en máscaras colocadas sobre el hocico de las hembras, se ha logrado inducir actividad ovulatoria (Knight y Linch, 1980, Signoret y Lindsay, 1982). De la misma forma, en las cabras, la utilización del pelo del macho colocado en máscaras o directamente en el corral de las hembras, puede inducir actividad ovuátoria (Claus *et al.*, 1990). Sin embargo, tanto en las ovejas como en las cabras, no se logra una respuesta del 100 % (Shelton, 1980, Cohen-Tannoudji *et al.*, 1986, Chemineau, 1986b), ya que al parecer, el olfato no es el único sentido utilizado por las hembras para percibir la presencia de los machos. Por ejemplo, en las ovejas en anestro a las cuales se les han eliminado los bulbos olfatorios suprimiendo los sistemas principal y accesorio, se produce una respuesta neuroendocrina y ovárica a la introducción de los machos (Cohen-Tannoudi *et al.*, 1986).

De manera similar, en las cabras, el olor del macho también es un factor importante en la estimulación de las hembras (Claus *et al.*, 1990; Walkden-Brown *et al.*, 1993b). Sin

embargo, en esta especie el olor del macho no es tan importante como en las ovejas, ya que en las cabras anósmicas no se modifica la proporción de hembras que exhiben un incremento de LH en respuesta a la introducción del macho y únicamente disminuye el porcentaje de hembras que ovulan durante los primeros 9 días (50 % anósmicas ovulan contra 89 % de las hembras intactas; Chemineau *et al.*, 1986b). Estas observaciones sugieren que el estímulo del macho es multi-sensorial y posiblemente involucra además del olor, señales visuales, táctiles y auditivas, tanto en ovejas como en cabras.

La percepción de estas feromonas se lleva a cabo a través del sistema olfatorio. La mayoría de los mamíferos tienen dos sistemas olfatorios; el sistema principal, el cual recibe las entradas sensoriales de la mucosa olfatoria y está conectado con el resto del sistema nervioso central vía los bulbos olfatorios principales. El otro sistema olfatorio es el accesorio, el cual recibe las entradas del órgano vomeronasal o de "Jacobson". Este está conectado con el cerebro vía los bulbos olfatorios accesorios. En los dos sistemas existen conexiones de los bulbos olfatorios al hipotálamo (Scalia y Winans, 1976). Las neuronas de los bulbos olfatorios principales proyectan a la corteza olfatoria, de donde se conecta al hipotálamo vía un circuito que incluye a la amígdala y al fornix. En los roedores se ha observado que utilizan esta segunda vía para mediar la respuesta a las feromonas (Marchlewska-Koj, 1984). En cambio, en las ovejas y probablemente en las cabras, el principal sistema olfatorio juega un papel más importante que el sistema olfatorio accesorio en la estimulación de las hembras (Cohen-Tannoudji *et al.*, 1989).



### 5.5. Efecto hembra directo o mediado por los machos

La mayoría de los estudios sobre la estimulación reproductiva de las hembras mediante interacciones sociales, se han enfocado a la observación del efecto del macho sobre la actividad reproductiva de las hembras. Sin embargo, existen trabajos que demuestran una sincronización de la actividad reproductiva como resultado de la estimulación por interacciones sociales entre hembras (Wayne *et al.*, 1989; Restall *et al.*, 1995; Zarco *et al.*, 1995; Alvarez *et al.*, 1999). Al respecto, Knight, (1985) encontró un mayor efecto en la estimulación de la actividad ovárica de las ovejas cuando se integraron a ellas, además de carneros, un grupo de ovejas en estro. En ese trabajo, el autor concluye que el fenómeno, al que denominó “facilitación social” actúa vía el carnero, es decir, que las ovejas en estro estimulan primeramente al macho, lo cual provoca una mayor efectividad en su función estimuladora sobre las ovejas en anestro. El papel de las hembras sería entonces estimular al carnero y favorecer en él una mayor producción de feromonas. Sin embargo, en ese trabajo no se menciona una posible estimulación directa de las hembras en estro sobre las hembras que se encuentran en anestro estacional.

Posteriormente, Walkden-Brown *et al.* (1993c) en un estudio realizado en cabras, observaron que el contacto previo de los machos con cabras en estro mejoraba significativamente la respuesta ovulatoria de las hembras anéstricas expuestas a los machos. Al igual que en el trabajo de Knight (1985), se menciona un efecto hembra “mediado por el macho”, mediante el cual el macho estimulado sufre cambios, tanto de su comportamiento sexual como en la producción de feromonas que pueden mejorar la respuesta de las hembras.

En este estudio, se demostró que las hembras en estro son capaces de inducir una respuesta ovulatoria en otras hembras que se encuentran en anestro.

Asimismo, Zarco *et al.* (1995) en otro estudio diseñado específicamente para evaluar el “efecto hembra” en ovejas, demostraron también un efecto directo de la presencia de hembras en estro sobre la actividad ovárica de las ovejas en anestro. Estos autores observaron que un porcentaje significativo de las hembras en anestro que se mantuvieron en corrales adyacentes a hembras que fueron inducidas hormonalmente, ovularon en forma sincronizada con éstas. Además, se observó que mientras menor era la distancia entre ovejas no tratadas y las ovejas inducidas, la respuesta era mayor. Estos autores concluyen que el efecto es mediado por feromonas femeninas.

### **5.6. Variación en la calidad del estímulo del macho**

La calidad del estímulo del macho al parecer está en función de la intensidad, duración y complejidad del estímulo ejercido, lo cual influye en el tipo de respuesta obtenida. Así, en ovejas y cabras, el grado y tipo de separación de los machos influye en el número de hembras que responden a la introducción del macho (Watson y Radford, 1960; Shelton y Morrow, 1965; Pearce y Oldham, 1988).

Por ejemplo, el porcentaje de hembras que ovulan después de la introducción de los machos es menor cuando éstos son separados de las hembras por un cerco de malla que cuando se encuentran en contacto directo (Ver Figura 5; Shelton, 1960; Pearce y Oldham, 1988). De manera similar, cuando se encuentra un pasillo de por medio, la estimulación se

vuelve más débil que cuando existe un contacto directo entre ellos (Chemineau, 1987). De igual manera, en las cabras Cashmere Australianas durante el anestro, la respuesta ovulatoria a la introducción del macho es muy baja o ausente bajo condiciones normales de pastoreo (Cameron y Batt, 1989; Restall, 1992), mientras que juntando los machos y las hembras en pequeños corrales, bajo condiciones experimentales que permiten un mayor grado de contacto entre ellos, se induce una mayor respuesta ovulatoria (Walken-Brawn *et al.*, 1993c). Por otro lado, los machos mantenidos a una distancia de 135 metros de las hembras pueden inducir una respuesta parcial (Shelton, 1980, Claus *et al.*, 1990; Walkden-Brown *et al.*, 1993b). La anosmia probablemente reduce la complejidad del estímulo recibido y eso podría explicar la menor respuesta ovulatoria de las hembras anósmicas después de la introducción del macho, lo cual es observado tanto en ovejas (Morgan *et al.*, 1972), como en cabras (Chemineau *et al.*, 1986b).

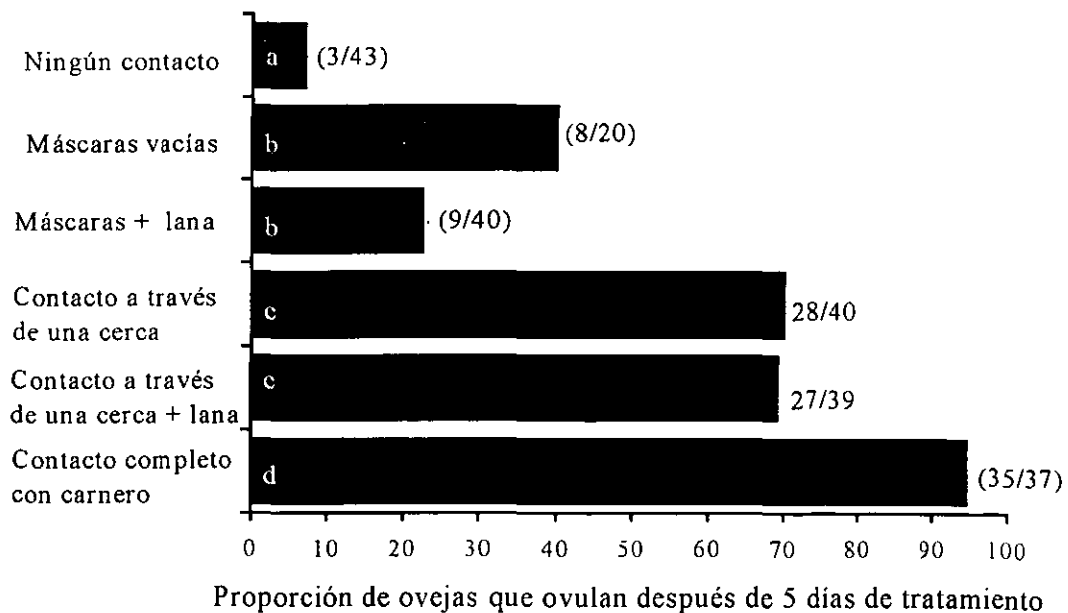


Figura 5. Importancia del contacto visual y olfatorio con el carnero en la inducción de la actividad ovulatoria en ovejas anovulatorias. Valores con letras diferentes son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ; Tomado de Pearce y Oldham, 1988).

Otros de los factores que influyen en la respuesta de las hembras a la introducción de los machos es la duración del estímulo por parte del macho. Este período de contacto entre machos y hembras tiene que ser prolongado para inducir una respuesta ovulatoria en las hembras. Por ejemplo, en las ovejas de las razas Il-de-France y Merino, se ha observado que la presencia de los machos durante 3 horas provoca en las hembras una secreción transitoria de LH, la cual no es capaz de desencadenar el mecanismo que induce la ovulación. Si el estímulo se prolonga por 24 horas, ovulan únicamente el 18 % de las ovejas en anestro, mientras que si el estímulo se mantiene durante 4 días, el porcentaje de ovejas que ovulan se incrementa al 50 % (Signoret *et al.*, 1982; Murtagh *et al.*, 1984; Cohen-Tannoudji y Signoret, 1987). Además, cuando los machos manifiestan un comportamiento sexual más intenso son capaces de inducir a un mayor número de hembras (Signoret y Lindsay, 1982; Perkins y Fitzgerald, 1994).

Por otro lado, desde los primeros trabajos de Underwood (1944) se reportó que es necesario un período de separación entre hembras y machos para que el efecto macho sea posible. Sin embargo, no se conoce exactamente el tiempo mínimo de aislamiento, pero algunos reportes sugieren que 4 semanas o aún 2 semanas de separación son suficientes para obtener una respuesta ovulatoria completa (Martin *et al.*, 1986). Sin embargo, recientemente Cushwa *et al.* (1992) reportaron que la separación de ovejas y carneros no es esencial para obtener una respuesta positiva al efecto macho. Ellos demostraron que un contacto directo entre las hembras y los machos o a través de una cerca, no disminuye la respuesta cuando nuevos carneros son introducidos.

### 5.7. Fotoperíodo y el efecto macho

El fotoperíodo es la causa de variación principal en el grado de respuesta al efecto macho. La respuesta de las hembras al estímulo del macho puede variar dependiendo de la profundidad del anestro (cabras: Chemineau, 1987; ovejas: Signoret, 1980). La profundidad del anestro puede estimarse por el porcentaje de hembras que están ovulando espontáneamente, antes de la introducción de los machos (Chemineau, 1987). Se considera un hato en anestro profundo cuando más del 50% de las hembras son anovulatorias, y anestro poco profundo cuando menos del 50% de las hembras son anovulatorias (Chemineau, 1983).

En las razas de ovinos y caprinos que exhiben una estacionalidad reproductiva moderada (anestro ligero o poco profundo) tales como la oveja Merino y la cabra Criolla de la Isla de Guadalupe, la introducción de machos induce actividad sexual en cualquier época del año (oveja: Lindsay y Signoret, 1980; cabra: Chemineau, 1983). Por el contrario, en las razas en las cuales el anestro estacional es más marcado (anestro profundo), la introducción de machos durante la fase más profunda del anestro no es efectiva para inducir la actividad sexual de las hembras. En estas condiciones, la respuesta de las hembras al estímulo del macho está limitado al final o al inicio de la estación sexual y, de esta manera, la introducción del macho puede adelantar solamente unas pocas semanas la estación sexual (oveja: Martin y Scaramuzzi, 1983; cabra: Chemineau, 1987). Esta falta de respuesta se debe en parte a una reducida sensibilidad de las hembras en dicha época (Chemineau, 1987). Sin embargo, otra parte del problema consiste en que los machos también reducen su capacidad inductora en esas épocas, disminuyendo la intensidad del estímulo. Dicha intensidad se refiere al grado de contacto e interacción entre hembras y machos, así como a la intensidad de sus respectivas

feromonas y al comportamiento sexual emitido por los machos (Walkden-Brown *et al.*, 1994; Delgadillo *et al.*, 1999). Por ejemplo, en la cabra Criolla del norte de México, la introducción durante el anestro de machos intactos o machos castrados y tratados con testosterona, estimula únicamente entre el 30 y 40 % de las hembras (Mellado y Hernández, 1996).

**PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

**OBJETIVOS**

**HIPOTESIS**

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La caprinocultura como proceso productivo es una de las actividades pecuarias más importantes en algunos países desarrollados y en la mayoría de las zonas áridas. Las cabras representan un recurso natural pecuario de gran importancia, por su gran habilidad para desarrollarse en zonas inhóspitas como son las zonas semiáridas y áridas. En México, estas zonas representan casi la mitad del territorio nacional. Los productores que explotan cabras obtienen gran variedad de productos para autoconsumo (carne, cuero, leche y sus derivados). Además, obtienen ingresos extras para mejorar su economía familiar con la venta de leche y cabrito (Hoyos *et al.*, 1991; Romero-Paredes, 1998). La existencia de una estacionalidad reproductiva en los caprinos provoca que tanto la producción de leche como la de cabrito se reduzca a ciertas épocas del año (Hoyos *et al.*, 1991). Lo anterior ha dado como consecuencia graves problemas a los productores, ya que la mayor parte de sus ingresos dependen exclusivamente de la venta de leche y cabrito, lo que provoca que en unas épocas del año sus ingresos se vean fuertemente reducidos, sea por la falta de productos para vender, o por precios muy bajos en momentos de picos de producción.

Como se mencionó anteriormente, es posible inducir actividad sexual fuera de la estación normal de reproducción mediante la introducción de machos, fenómeno conocido como "efecto macho". Sin embargo, la utilización del efecto macho en razas estacionales, como las explotadas en México, está limitada al inicio o final de la estación sexual. El fracaso del efecto macho fuera de este periodo puede ser debido a una incapacidad de las hembras a responder durante el anestro, resultado de una insensibilidad de las hembras al estímulo del macho. Además, el hecho que las hembras están por lo general lactando puede ser un factor



adicional de insensibilidad. Otra posibilidad es que exista una inadecuada estimulación de las hembras por parte del macho, el cual de manera natural también disminuye notablemente su actividad sexual en esa época. Por consiguiente, se propone investigar si es posible inducir la actividad sexual en las cabras lactantes en reposo sexual estacional mediante la introducción de machos sexualmente activos.

Por otro lado, está demostrado que la utilización de días largos y melatonina permite inducir actividad sexual en los machos cabríos durante la primavera. Sin embargo, el uso de la melatonina exógena después del tratamiento con días largos es una desventaja en países como México, tanto por el costo elevado como por la complejidad relativa de administración. Por ello, en la segunda fase experimental se pretende simplificar este tratamiento utilizando únicamente exposición de los machos cabríos a días largos.

## **OBJETIVOS**

Determinar si la introducción de machos inducidos previamente a un estado de intensa actividad sexual mediante un tratamiento con luz y melatonina permite inducir la actividad sexual en las cabras anovulatorias (Fase experimental I).

Determinar si la utilización de días largos únicamente permite inducir la actividad sexual de los machos cabríos durante la primavera (Fase experimental II).

## **HIPOTESIS**

Los machos sexualmente activos inducen una mejor respuesta en las hembras anovulatorias que los machos en reposo sexual.

La exposición de los machos cabríos a días largos artificiales es suficiente para inducir actividad sexual durante la primavera.

## **OBJETIVOS**

Determinar si la introducción de machos inducidos previamente a un estado de intensa actividad sexual mediante un tratamiento con luz y melatonina permite inducir la actividad sexual en las cabras anovulatorias (Fase experimental I).

Determinar si la utilización de días largos únicamente permite inducir la actividad sexual de los machos cabríos durante la primavera (Fase experimental II).

## **HIPOTESIS**

Los machos sexualmente activos inducen una mejor respuesta en las hembras anovulatorias que los machos en reposo sexual.

La exposición de los machos cabríos a días largos artificiales es suficiente para inducir actividad sexual durante la primavera.

# FASE EXPERIMENTAL I

## **A. Capacidad de los machos tratados con días largos y melatonina para inducir la actividad sexual en las cabras anovulatorias de dos rebaños diferentes**

### **MATERIALES Y METODOS**

#### **1. Localización del experimento**

La primer fase experimental se realizó de noviembre de 1997 a junio de 1998 en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", Unidad Laguna, localizada en Torreón Coahuila, y en los ejidos El Cambio y Ricardo Flores Magón, ambos municipio de Torreón Coahuila, México. Estas localidades forman parte de la Comarca Lagunera de Coahuila, la cual está situada a una latitud de 26° Norte y a una longitud de 103° Oeste. La altitud varía de 1100 a 1400 metros sobre el nivel del mar. Las temperaturas máximas y mínimas durante el estudio fueron, 46° C en abril y -7° C en diciembre, con una temperatura media de 19 ° C. El fotoperíodo en la región consiste en 13:41 horas durante el solsticio de verano y de 10:19 horas durante el solsticio de invierno.

## 2. Animales

### 2.1. Machos

Los machos utilizados en este estudio eran parte de un grupo homogéneo de machos adultos Criollos\*, pertenecientes al departamento de Ciencias Médico Veterinarias de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. Estos machos fueron encerrados en corrales al aire libre y durante todo el estudio estuvieron alimentados con heno de alfalfa a libre acceso y 300 gr de concentrado comercial (14 % de Proteína Cruda) por día y por animal. El agua y los minerales fueron proporcionados a libre acceso.

#### 2.1.1. Formación de grupos experimentales

Para este estudio se utilizaron 14 machos cuya edad variaba de 2 a 4 años al inicio del estudio. El 25 de octubre de 1997, los machos fueron repartidos en dos grupos homogéneos, un grupo control (Control; n=7) y un grupo experimental (DL+M; n=7), de acuerdo al peso corporal, peso testicular y motilidad espermática (Cuadro 1). Para determinar esta última variable, del día 17 al 20 de octubre de 1997, los machos fueron inducidos a eyacular en una vagina artificial y se obtuvo un eyaculado de cada macho. La motilidad espermática de cada eyaculado fue evaluada utilizando el microscopio óptico y utilizando una escala de 0 a 5 (0=menor motilidad, 5= mayor motilidad; Delgadillo *et al.*, 1992).

---

\*La población de animales llamados Criollos deriva de razas españolas como la Granadina, Murciana y Malageña, su fenotipo es variable debido a repetidas cruces con razas como la Alpina, Saanen y Anglo-Nubia (Deldadillo *et al.*, 1999).

Cuadro 1. Formación de grupos de acuerdo a su peso corporal, peso testicular y motilidad del semen (promedio  $\pm$  error estándar de la media).

Grupos	Peso corporal (promedio $\pm$ SEM)	Peso testicular (promedio $\pm$ SEM)	Motilidad
Control	61.0 $\pm$ 4.0	80.7 $\pm$ 6.7	2.7 $\pm$ 0.3
DL+M	60.7 $\pm$ 4.4	83.0 $\pm$ 4.1	2.6 $\pm$ 0.3

### 2.1.2. Tratamientos fotoperiódicos

Los machos del grupo Control fueron expuestos durante todo el estudio a las variaciones naturales del fotoperíodo de la región (13:14 h de luz en el solsticio de verano y 10:19 horas de luz en el solsticio de verano).

Los machos del grupo DL+M fueron sometidos del 1 de noviembre de 1997 al 15 de enero de 1998 a días largos artificiales (16 horas de luz por día; 8 horas de obscuridad) en instalaciones abiertas. Para ello, el corral fue equipado con tres lámparas fluorescentes que proporcionaron una intensidad luminosa superior a 300 lux al nivel de los ojos de los animales. El mecanismo de encendido y apagado de las lámparas se efectuó con relojes automáticos y programables (Interamic, Timerold, USA). El alba (encendido de la luz) fue fija y ocurrió diariamente a las 06: 00 horas. La luz fue apagada cuando ya existía suficiente luz natural (09: 00 horas). Después, ésta fue encendida antes del crepúsculo natural, es decir a las 17: 00 horas, para apagarse nuevamente a las 22:00 horas. Esto permitió que los animales percibieran días largos de 16:00 horas de luz por día. El 16 de enero de 1998, cada macho de este grupo recibió en la base de la oreja y vía subcutánea 2 implantes de melatonina de 18 mg

de melatonina cada uno (Regulin-Mélovine®, SANOFI SNA, Libourne, Francia), los cuales liberan constantemente la melatonina durante aproximadamente 10 semanas (Staples *et al.*, 1991). En ese momento el tratamiento fotoperiódico fue suspendido y los machos percibieron las variaciones naturales del fotoperíodo hasta el final del estudio. Se ha demostrado que con este tratamiento de días largos seguidos de melatonina se induce actividad sexual en los machos cabríos durante el periodo de inactividad sexual (Carrillo *et al.*, 1996).

## 2.2. Hembras

### 2.2.1. Formación de grupos experimentales

Para este estudio se seleccionaron 88 cabras Criollas múltiparas, que parieron en diciembre de 1997, y que pertenecían a dos rebaños típicos de la Comarca Lagunera situados en los ejidos El Cambio y Ricardo Flores Magón, Coahuila. La distancia entre los dos ejidos es de aproximadamente 4 kilómetros. Antes de iniciar el estudio, las hembras eran mantenidas en un sistema de manejo extensivo, en el cual los animales salían al campo de las 10:00 horas a las 18.00 horas sin recibir ningún alimento complementario.

Veinticinco días previos a la introducción de los machos, es decir el 20 de febrero de 1998, cada grupo de hembras fue alojado en su respectivo ejido, en 4 corrales contiguos de 7 X 10 m, en los cuales se alojaron al azar de 8 a 10 hembras por corral. A partir de ese momento las hembras fueron alimentadas con heno de alfalfa y 200 gr. de concentrado comercial (14 % de Proteína Cruda) por día y por hembra. Además tenían libre acceso a agua y minerales. Antes de la introducción de los machos, las hembras no tuvieron contacto con los



machos por 45 días, tiempo en que éstos fueron puestos en otro rebaño a varios kilómetros de distancia de tal manera que las hembras no tenían contacto visual, olfativo ni auditivo con los machos.

De las hembras seleccionadas en los dos rebaños, sólo se utilizaron para el estudio aquellas que estaban anovulatorias, lo cual se determinó mediante los niveles plasmáticos de progesterona. Para ello, se obtuvo una muestra sanguínea de cada cabra los días - 20 y -10 antes de la introducción de los machos. La determinación de progesterona se realizó mediante radioinmunoanálisis por la técnica cualitativa descrita por Terqui y Thimonier (1974). Este procedimiento permite distinguir entre las hembras cíclicas y anovulatorias. Las hembras que presentaron concentraciones plasmáticas de progesterona  $>1.0$  ng/ml en los dos muestreos se consideraron que tenían un cuerpo lúteo funcional, que estaban gestantes o con un cuerpo lúteo persistente. Las hembras que presentaron cualquier combinación de valores superiores e inferiores a  $1.0$  ng/ml de progesterona, se consideraron que estaban ciclando, y cuando las hembras tuvieron en sus dos muestreos niveles  $< 1$  ng/ml de progesterona, se consideraron que estaban anovulatorias. Así, en 11 y 3 cabras se observó actividad ovárica en el rebaño 1 y 2, respectivamente, y fueron eliminadas del experimento (Cuadro 2). Como consecuencia, 34 y 40 cabras fueron expuestas a los machos en el rebaño 1 y 2, respectivamente. El día de la introducción de los machos (día 1), otra muestra de sangre fue obtenida de cada hembra para comprobar que ninguna hembra tuviera actividad ovárica.

Cuadro 2. Número de cabras muestreadas y seleccionadas a través de los niveles plasmáticos de progesterona para ser puestas en contacto con los machos.

Rebaño	No. de hembras muestreadas n	Cabras cíclicas o gestantes n	Cabras anovulatorias n	Peso corporal(Kg) de cabras seleccionadas (promedio±SEM)
<u>Grupo 1</u> (Ejido el Cambio)	45	11	34	46.0 ± 1.5
<u>Grupo 2</u> (Ejido Ricardo Flores Magón)	43	3	40	44.2 ± 1.2

### 3. Introducción de los machos

De los machos del grupo DL+M se seleccionaron 4 animales, los cuales presentaban un intenso comportamiento sexual, basado en el comportamiento agresivo y aspecto del pelo (erizado, sucio etc; Walkden-Brown *et al.*, 1994). Del grupo Control se seleccionaron 4 animales al azar, debido a que el comportamiento sexual era bajo y similar entre los animales de ese grupo.

El 15 de marzo de 1998 a las 08:00 horas, los machos seleccionados fueron introducidos en cada grupo de hembras. En el Grupo 1 se introdujeron los machos Control (uno en cada corral). En el Grupo 2 se introdujeron los machos DL+M. En ambos grupos, los machos permanecieron con las hembras hasta el final del estudio (20 de abril).

## 4. Variables evaluadas

### 4.1. Machos

#### 4.1.1. Peso corporal

El peso corporal de los machos de los dos grupos fue determinado cada 15 días durante todo el periodo experimental. La determinación del peso corporal se realizó antes de la distribución del forraje y el concentrado. Para ello, se utilizó una báscula con una precisión de 200 g y una capacidad de 300 Kg.

#### 4.1.2. Peso testicular

El peso testicular, indicador de la actividad de espermatogénesis (Delgadillo *et al.*, 1991; Walkden-Brown *et al.*, 1994) fue determinado cada 15 días mediante la técnica de palpación comparativa propuesta por Oldham *et al.* (1978). Este método consiste en un orquidómetro, el cual consiste de un collar de piezas sintéticas que tienen formas similares a los testículos con diferentes medidas: 50, 75, 100, 125, 150, 180 y 210 ml (1 ml=1 g). Esta técnica consiste en palpar siempre el mismo testículo de cada macho y compararlo con las piezas del orquidómetro.

#### 4.1.3. Testosterona

Para determinar los niveles plasmáticos de testosterona se obtuvieron muestras sanguíneas cada semana durante todo el tiempo experimental. La obtención de muestras se

realizó de la vena yugular (5 ml por animal). La toma de muestras se realizó a las 8:00 horas, antes de proporcionar el alimento. Todas las muestras se obtuvieron en tubos al vacío que contenían 30  $\mu$ l de heparina como factor anticoagulante. Posteriormente, la sangre fue centrifugada durante 20 minutos a 3000 rpm y el plasma obtenido fue congelado a  $-15^{\circ}$ C, hasta la determinación de la testosterona, la cual se realizó mediante radioinmunolisis, según la técnica propuesta por Garnier *et al.*(1978). La sensibilidad del inter-ensayo fue de 0.1 ng/ml. Las determinaciones se hicieron en un solo ensayo y el coeficiente de variación fue de 8.0 %.

#### 4.1.4. Melatonina

Para determinar si los machos Control y los machos DL+M estaban percibiendo correctamente los días decrecientes y los días largos, respectivamente, se realizaron dos muestreos seriados para la determinación de los niveles plasmáticos de melatonina. Estas determinaciones se llevaron a cabo el día 21 de noviembre. Para ello se obtuvo una muestra sanguínea cada hora en los dos grupos de las 20:00 horas a la 1:00 horas, y de las 4:00 horas a las 9:00 horas. Durante la fase obscura, se utilizaron lámparas de luz roja con una intensidad menor a 3 lux. En cada muestreo sanguíneo se obtuvieron 5 ml de sangre de la vena yugular de cada macho. Las muestras se obtuvieron en tubos al vacío con anticoagulante (30  $\mu$ l de heparina). La sangre obtenida fue centrifugada a 3000 rpm durante 20 minutos, y el plasma obtenido se congeló a  $-15^{\circ}$ C, hasta la determinación de melatonina, la cual se realizó mediante la técnica de radioinmunoanálisis. Esta hormona fue determinada por duplicado en muestras de 100  $\mu$ l de plasma según la técnica descrita por Fraser *et al.* (1983), utilizando anticuerpos

desarrollados por Tillet *et al.* (1986). La sensibilidad del ensayo fue de 4 pg/ml y el coeficiente de variación fue de 8 %.

#### 4.1.5. Comportamiento sexual de los machos

Para comparar la actividad sexual de los machos en los dos grupos, estos fueron observados de manera individual durante los primeros 5 días, a partir de la introducción de los mismos. Dichas observaciones se realizaron por la mañana (8:00 horas-10:00 horas), antes de proporcionarles el alimento. Una persona observó cada macho y se registraron la inspección nasal, las aproximaciones, los intentos de montas y las montas.

Definiciones de cada uno de los comportamientos observados en los machos.

**Inspección nasal:** Se consideró como inspección nasal cuando el macho se aproximaba a la hembra a una distancia no mayor de 5 cm, por la parte posterior y olfateaba su vulva o el ano.

**Aproximaciones:** se consideró como aproximación, a cada uno de los acercamientos del macho hacia las hembras por la parte lateral o posterior de éstas, emitiendo una vocalización y/o levantando a la vez una de las patas anteriores.

**Intento de monta:** Se consideró un intento de monta a cada uno de los intentos realizados por el macho para montar a una hembra sin conseguir su objetivo. En todos los casos la hembra no aceptaba la monta.

**Monta:** Se consideró una monta cuando el macho conseguía montar a la hembra con penetración y eyaculación.

## 4.2. Hembras

### 4.2.1. Actividad estral

La actividad estral fue determinada por la aceptación de las hembras a ser montadas por el macho (Chemineau *et al.*, 1992), y la detección del estro fue realizada 2 veces por día (mañana y tarde). Para ello, los machos fueron manchados con grasa en el esternón, de tal manera que al montar a las hembras, éstas quedaban marcadas. Las hembras que eran manchadas por el macho eran limpiadas dos veces por día (AM:PM). Esta determinación se realizó a partir del día de la introducción de los machos (día 1) y hasta el día 35.

### 4.2.2. Actividad ovulatoria

Esta actividad fue determinada mediante los niveles plasmáticos de progesterona. Se consideró que una hembra tenía un cuerpo lúteo funcional cuando ésta presentó niveles plasmáticos de progesterona iguales o superiores a 0.5 ng/ml durante al menos dos muestreos (Gómez-Brunet *et al.*, 1995). Cuando una hembra presentó estos niveles por más de 17 días se consideró como un ciclo normal. Cuando una hembra presentó niveles superiores a 0.05 ng/ml durante menos de 16 días se clasificó como un ciclo ovárico corto (Chemineau *et al.*, 1992).

Del día 2 al 10 después de la introducción de los machos, se obtuvo una muestra sanguínea diariamente. Estos muestreos se realizaron con la finalidad de detectar los ciclos cortos que se presentan normalmente después de la introducción de los machos (Chemineau, 1987). Del día 11 al 35 el muestreo sanguíneo se realizó cada dos días.

#### **4.2.3. Obtención de muestras y determinaciones hormonales**

Todas las muestras sanguíneas fueron obtenidas de la vena yugular en tubos al vacío de 5 ml, los cuales contenían 0.01 ml de ácido etilendiaminotetra-acético (EDTA), como factor anticoagulante. Posteriormente la sangre fue centrifugada durante 25 minutos a 3000 rpm y el plasma obtenido fue congelado a  $-15^{\circ}$  C hasta la determinación de la progesterona, la cual se realizó mediante radioinmunoanálisis. Las determinaciones de progesterona en las muestras obtenidas del día de la introducción de los machos hasta el fin del estudio fueron realizadas por una técnica cuantitativa debido a que un gran porcentaje de hembras inducidas por el efecto macho presentan ciclos ováricos cortos en los cuales la producción de progesterona es menor a 1 ng/ml.

#### **4.2.4. Tasa de concepción a los 25 días, fertilidad al parto y prolificidad**

Se consideró que una hembra había concebido cuando los niveles plasmáticos de progesterona fueron  $>1.0$  ng/ml durante al menos 21 días después de la presentación del último estro. La fertilidad al parto se calculó considerando el número de hembras que parieron en relación con las hembras que se consideraron que habían concebido a los 25 días a través de sus niveles plasmáticos de progesterona. La prolificidad fue calculada por el número de cabritos nacidos entre el número de cabras que parieron.

## 5. Análisis estadísticos

### 5.1. Machos

#### 5.1.1. Peso corporal y peso testicular

El peso corporal y testicular de los machos de los dos grupos fueron evaluados mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) a dos factores (grupo x tiempo) con medidas repetidas. Los promedios quincenales de los dos grupos fueron comparados mediante una prueba *t* de Student.

#### 5.1.2. Testosterona

Las concentraciones plasmáticas de testosterona fueron analizadas mediante un ANOVA de 2 factores (grupo x tiempo) con medidas repetidas. Posteriormente, los promedios mensuales de los dos grupos fueron comparados mediante una prueba *t* de Student.

#### 5.1.3. Melatonina

Las concentraciones plasmáticas de melatonina fueron analizados mediante un ANOVA a dos factores (grupo x horas de muestro) con medidas repetidas. Posteriormente los datos se compararon dos a dos con una prueba *t* de Student.



#### **5.1.4. Comportamiento sexual de los machos**

Con los datos individuales de cada uno de los comportamientos emitidos por los machos se calculó el número total de cada comportamiento para los dos grupos y posteriormente se calculó el porcentaje de cada grupo. Las frecuencias fueron comparadas mediante la prueba de probabilidades exacta de Fisher.

### **5.2. Hembras**

#### **5.2.1. Actividad estral y ovulatoria**

Las proporciones de las hembras que manifestaron actividades estral y ovulatoria en los dos grupos fueron comparadas mediante la prueba de probabilidades exacta de Fisher. La duración del estro, el intervalo entre la introducción de los machos y el inicio del estro fueron comparados mediante la prueba *t* de Student.

#### **5.2.2. Fertilidad y prolificidad**

La fertilidad de los dos grupos se comparó mediante la prueba de probabilidades exacta de Fisher y la prolificidad se comparó mediante la prueba de *t* Student. En todos los parámetros expresados como medias se utilizó como medida de dispersión el error estándar de la media (E.E.M). Todos los análisis estadísticos fueron realizados mediante el paquete estadístico SYSTAT 7.0 (SPSS, Chicago, ILL. USA, 1997).

## **B. Capacidad de los machos tratados con días largos y melatonina para inducir la actividad sexual en las cabras anovulatorias de un mismo rebaño**

Para confirmar que la respuesta observada en las hembras en contacto con los machos DL+M no se debía a una diferencia entre los dos rebaños, el experimento se repitió el año siguiente, utilizando solamente el rebaño estimulado con machos controles el primer año. Al igual que en la fase experimental I, las hembras cíclicas, detectadas a través de los niveles plasmáticos de progesterona (n=12) fueron eliminadas antes de la introducción.

Para este estudio, se utilizaron 66 hembras anovulatorias que fueron divididas en dos grupos de 33 hembras cada uno. Las hembras de ambos grupos fueron encerradas en pequeños corrales con 1 macho por cada 11 hembras en cada corral (en total, 3 machos y 33 hembras por cada grupo). En este experimento se evaluó únicamente la actividad estral en las hembras, la cual fue registrada diariamente durante 35 días. Los tratamientos y las condiciones experimentales, así como las observaciones del comportamiento sexual de los machos fueron idénticos a las del primer experimento.

## RESULTADOS

### A. Capacidad de los machos tratados con días largos y melatonina para inducir la actividad sexual en las cabras anovulatorias de dos rebaños diferentes

#### 1. Machos

##### 1.1. Peso corporal

Al analizar las variaciones del peso corporal de los machos de los grupos Control y DL+M no se encontró diferencia significativa entre los dos grupos [F (1, 180)= 0.003;  $p < 0.955$ ]. Sin embargo, se encontró un efecto significativo del tiempo [F (14, 180)= 101.17;  $p < 0.001$ ] y una interacción grupo x tiempo [F (14, 180)= 14.39;  $p < 0.001$ ]. El 15 de marzo, día de la introducción de los machos en los dos grupos de hembras, el peso corporal de los machos fue de  $77.35 \pm 5.1$  en el grupo Control y de  $76.4 \pm 3.8$  kg en el grupo DL+M (Ver Figura 6). En las comparaciones dos a dos no se encontró diferencia significativa entre los dos grupos ( $t$  de Student;  $p > 0.05$ ).

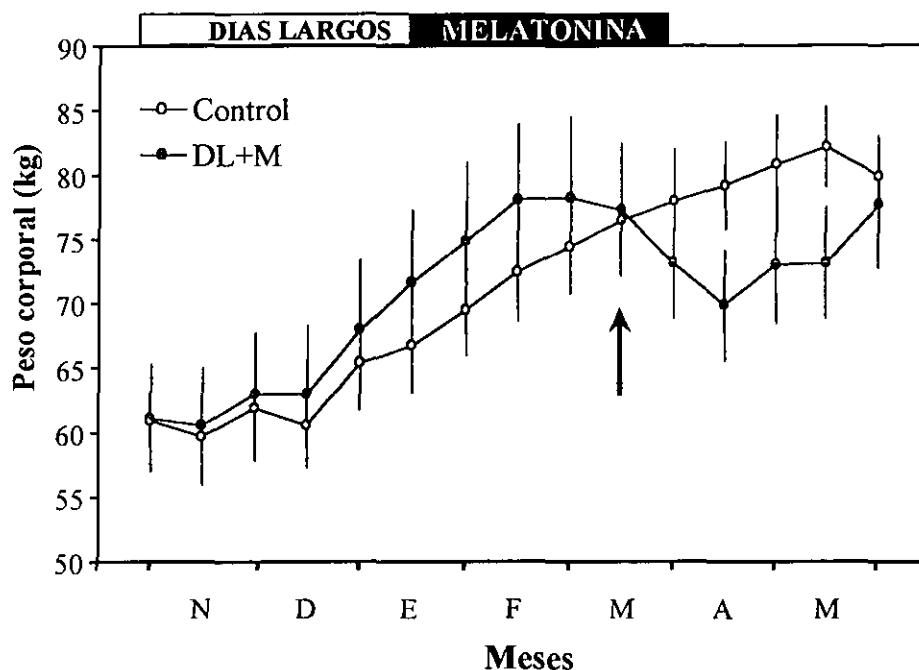


Figura 6. Evolución del peso corporal (promedio  $\pm$  E.E.M.) en los machos cabríos Criollos sometidos a las variaciones naturales del fotoperíodo (Grupo Control:  $n=7$ ) y de los machos sometidos a 2.5 meses de días largos seguidos de la implantación subcutánea de melatonina (Grupo DL+M;  $n=7$ ). La flecha indica la fecha cuando los machos fueron puestos en contacto con las hembras. No se encontró diferencia significativa en ninguna fecha entre los dos grupos ( $t$  de Student,  $p>0.05$ ).

## 1.2. Peso testicular

Las variaciones del peso testicular de los machos del grupo Control y del grupo DL+M son mostrados en la Figura 7. El ANOVA no mostró diferencia significativa entre los dos grupos [ $F(1, 180) = 0.009$ ;  $p < 0.928$ ]. Sin embargo, se encontró un efecto significativo del tiempo [ $F(14, 180) = 33.22$ ;  $p < 0.001$ ] y se observó una interacción grupo x tiempo del experimento [ $F(1, 180) = 8.33$ ;  $p < 0.001$ ]. En efecto, en el grupo DL+M, el peso testicular se incrementó desde el 30 de enero, para alcanzar su máximo valor el 15 de marzo. A partir de

esta fecha el peso testicular de este grupo inició una disminución progresiva hasta el final del estudio. En cambio, en el grupo Control, el peso de las gónadas presentó un crecimiento progresivo desde el 1 de febrero, alcanzando su máximo nivel en mayo. El 15 de marzo, el peso testicular de los machos fue de  $95.7 \pm 9.0$  gr en el grupo Control y de  $120.0 \pm 14.4$  en el grupo DL+M. En las comparaciones dos a dos no se encontró ninguna diferencia significativa entre los dos grupos (*t* de Student;  $p > 0.05$ ).

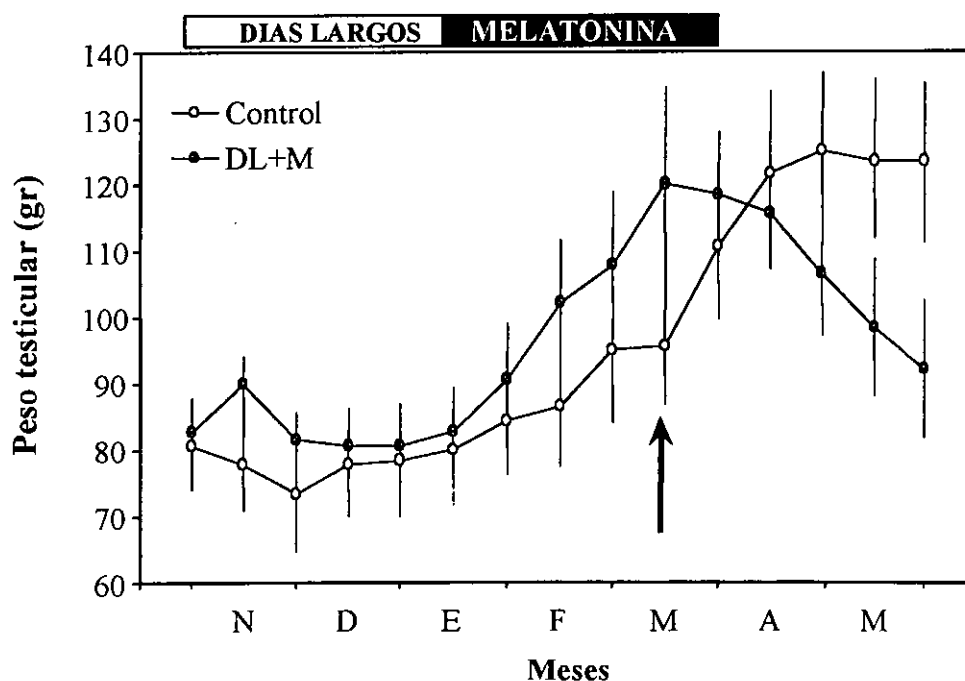


Figura 7. Evolución del peso testicular (promedio  $\pm$  E.E.M.) en los machos cabrios Criollos sometidos a las variaciones naturales del fotoperíodo (Grupo Control;  $n=7$ ) y de los machos sometidos a 2.5 meses de días largos seguidos de la implantación subcutánea de melatonina (Grupo DL+M;  $n=7$ ). La flecha indica la fecha cuando los machos fueron puestos en contacto con las hembras. No se encontró diferencia significativa en ninguna fecha entre los dos grupos (*t* de Student,  $p > 0.05$ ).

### 1.3. Testosterona

La evolución de la concentración plasmática de testosterona de los grupos Control y DL+M se puede apreciar en la Figura 8. El ANOVA reveló un efecto significativo del grupo [F (1, 350)=8.82;  $p<0.012$ ], así como un efecto significativo del tiempo [F (23, 350)=9.02;  $p<0.001$ ] y una interacción tiempo x grupo sobre la secreción de la testosterona [F (23, 350)=8.31;  $p<0.001$ ]. El 15 de marzo, día de la introducción de los machos en los dos grupos de hembras, la concentración de testosterona de los machos utilizados en el estudio, fue de  $1.6 \pm 0.3$  ng/ml en el grupo Control y de  $18.8 \pm$  ng/ml en el DL+M ( $P<0.05$ ). En las comparaciones dos a dos se encontró diferencia significativa entre los dos grupos el 20 de febrero, 06, 13, 20 y 27 de marzo y el 03 de abril ( $t$  de Student;  $p<0.05$ ).

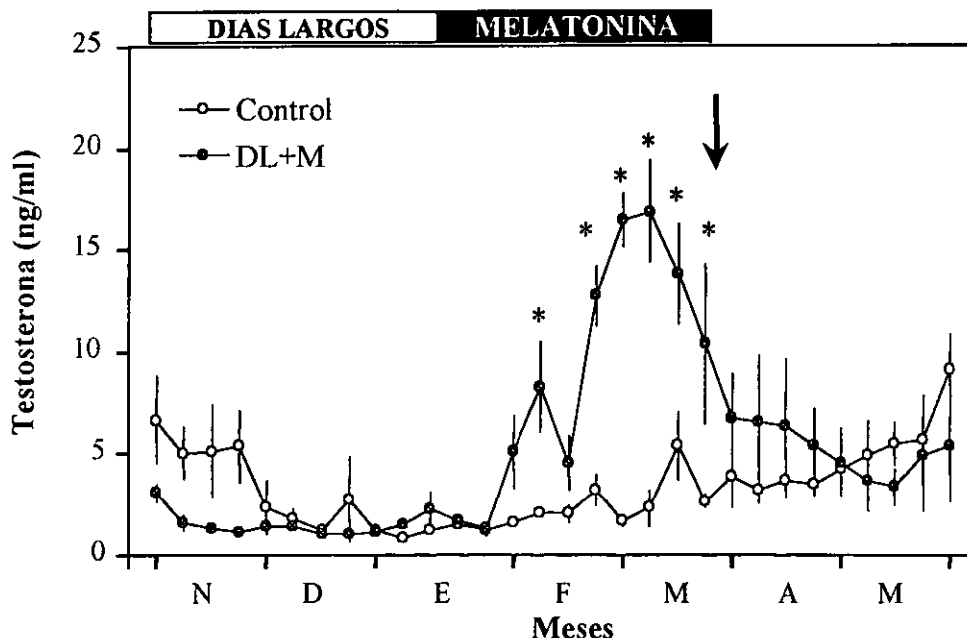


Figura 8. Evolución de las concentraciones plasmáticas de testosterona (promedio  $\pm$  E.E.M.) en los machos cabríos Criollos sometidos a las variaciones naturales del fotoperíodo (Grupo Control;  $n=7$ ) y de los machos sometidos a 2.5 meses de días largos seguidos de la implantación subcutánea de melatonina (Grupo DL+M;  $n=7$ ). La flecha indica la fecha cuando los machos fueron puestos en contacto con las hembras. \* Indica diferencias significativas entre los dos grupos ( $t$  de Student,  $p>0.05$ ).

### 1.4. Melatonina

Los niveles plasmáticos de la melatonina en los grupos Control y DL+M son mostrados en la Figuras 9. El ANOVA reveló un efecto significativo del tiempo (hora de muestreo) sobre la secreción de melatonina [ $F(11, 144)=4.35$ ;  $p<0.001$ ]. No se encontró diferencia significativa entre los dos grupos [ $F(1, 144)=0.373$ ;  $p<0.553$ ], así como tampoco se encontró diferencia significativa en la interacción entre grupo x tiempo del experimento [ $F(11, 144)=1.14$ ;  $p<0.333$ ].

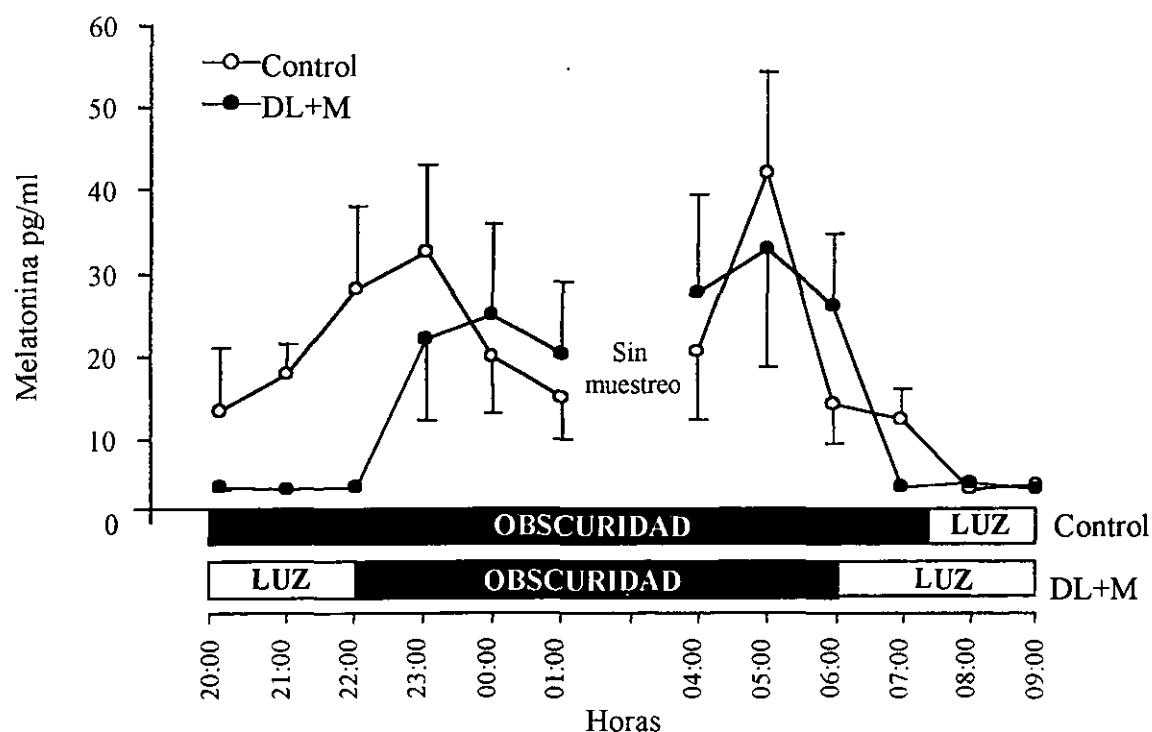


Figura 9. Concentración plasmática de melatonina (promedio  $\pm$  E.E.M.) de los machos que percibieron las variaciones naturales del fotoperíodo (Grupo Control;  $n=7$ ) y de los machos que fueron expuestos a 2.5 meses de días largos seguidos de la aplicación subcutánea de melatonina (Grupo DL+M;  $n=7$ ). Este muestreo se realizó el 21 de noviembre de 1997.

### 1.5. Comportamiento sexual de los machos

El comportamiento sexual de los machos cabríos observado durante los primeros 5 días de contacto con las hembras fue significativamente más intenso en los machos del grupo DL+M que en los machos Control (Figura 10). De 272 inspecciones nasales observadas en los machos de ambos grupos, 215 fueron realizadas por los machos del grupo DL+M ( $p < 0.001$ ; contra 136, en caso de la hipótesis nula de una repartición al azar). De 492 aproximaciones observadas, 485 fueron observadas en el grupo DL+M ( $p < 0.001$ ). De 27 intentos de monta, 26 fueron realizados por los machos del grupo DL+M ( $p < 0.001$ ). Finalmente, el total de las montas registradas (26) fueron realizadas por los machos del grupo DL+M ( $p < 0.001$ ).

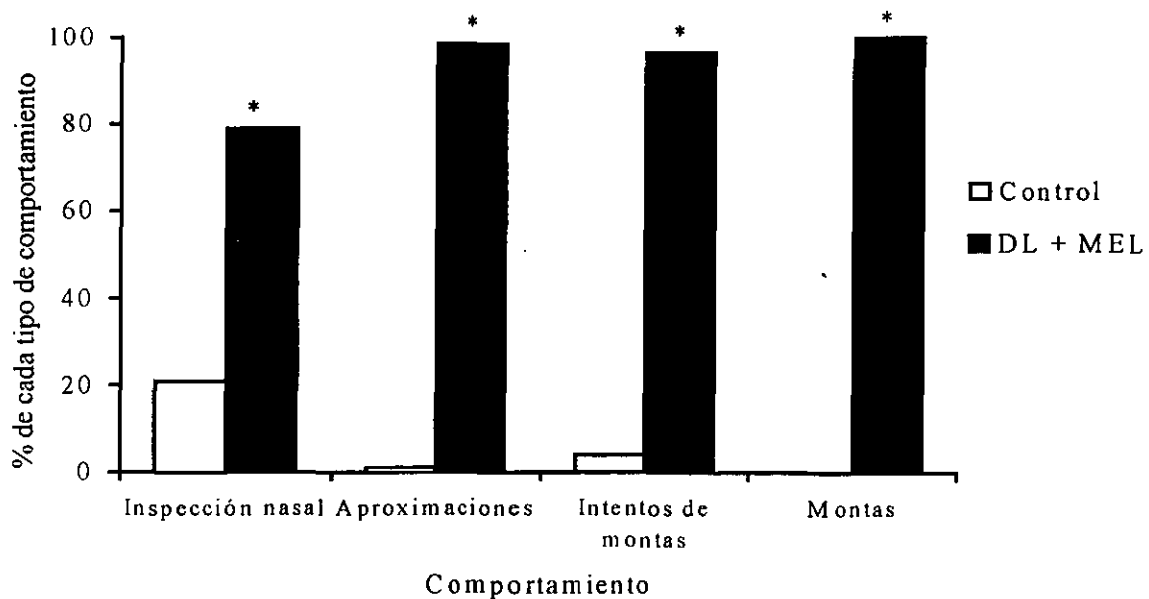


Figura 10. Distribución de cada tipo de comportamiento observado entre los dos grupos de machos, expresado como porcentaje del número total de comportamientos observados. El comportamiento sexual fue observado dos horas diarias por los primeros 5 días de contacto con las hembras. \*Indica diferencias entre los grupos Control y DL+M (prueba de probabilidades exacta de Fisher;  $p < 0.001$ ).



## 2. Hembras

### 2.1. Respuesta de las hembras al macho

#### 2.1.1. Actividad estral y ovárica

Durante el estudio, ninguna hembra puesta en contacto con los machos del grupo Control manifestó actividad estral durante el periodo de estudio. Sólo en el 5 % (2/34) de las hembras de este grupo se detectó una ovulación y un cuerpo lúteo de corta duración, el 95 % restante no manifestó actividad ovárica.

Contrariamente a la baja actividad estral y ovárica de las hembras que estuvieron en contacto con los machos Control, el 100 % (40/40) de las hembras que estuvieron en contacto con los machos DL+M manifestaron al menos 1 estro en los primeros 11 días después de la introducción de los mismos (prueba de probabilidades exacta de Fisher,  $p < 0.001$ ).

La respuesta de las hembras estuvo dividida en dos periodos con un alto porcentaje de hembras que mostraron dos estros y dos ovulaciones en un intervalo de  $5.0 \pm 0.2$  días en promedio. En el primer periodo de actividad (día 1 al 6), 26 cabras ovularon y presentaron comportamiento de estro, de las cuales 4 quedaron gestantes en esa ocasión, mientras que las otras 22 ovularon y presentaron comportamiento de estro nuevamente entre el día 7 y 11 (Ver Figura 11). De éstas, 20 quedaron gestantes, 1 no quedó gestante y otra manifestó nuevamente comportamiento de estro después de un ciclo estral normal y finalmente quedó gestante. Por otro lado, otras 6 hembras ovularon entre el día 1 y 6 sin manifestar comportamiento de estro. Sin embargo, en todas ellas esta ovulación fue seguida de un cuerpo lúteo de corta duración y ovularon nuevamente entre el día 7 y 11. En esta ocasión todas las ovulaciones fueron

acompañadas de comportamiento de estro. Algo similar sucedió con las 6 cabras que manifestaron únicamente comportamiento de estro entre el día 1 y 6. Todas ellas ovularon y presentaron un segundo estro entre el día 7 y 11 después de un ciclo corto, quedando todas ellas gestantes. Finalmente, 2 cabras ovularon y presentaron estro hasta el segundo periodo de actividad. De estas hembras, una quedó gestante en esa ocasión, mientras que la otra no.

En las hembras que presentaron una respuesta temprana (entre el día 1 y 6), el intervalo entre la introducción de los machos y el inicio del estro fue de  $3.5 \pm 0.2$  días. En las hembras que respondieron tarde (del día 7 al 11), ese intervalo fue de  $9.1 \pm 0.4$  días. Finalmente, 1 hembra ovuló y manifestó comportamiento de estro alrededor del día 26 después de la introducción de los machos. En la Figura 12 se puede observar la respuesta en la actividad estral de las hembras que estuvieron en contacto con los machos tratados con días largos y melatonina.

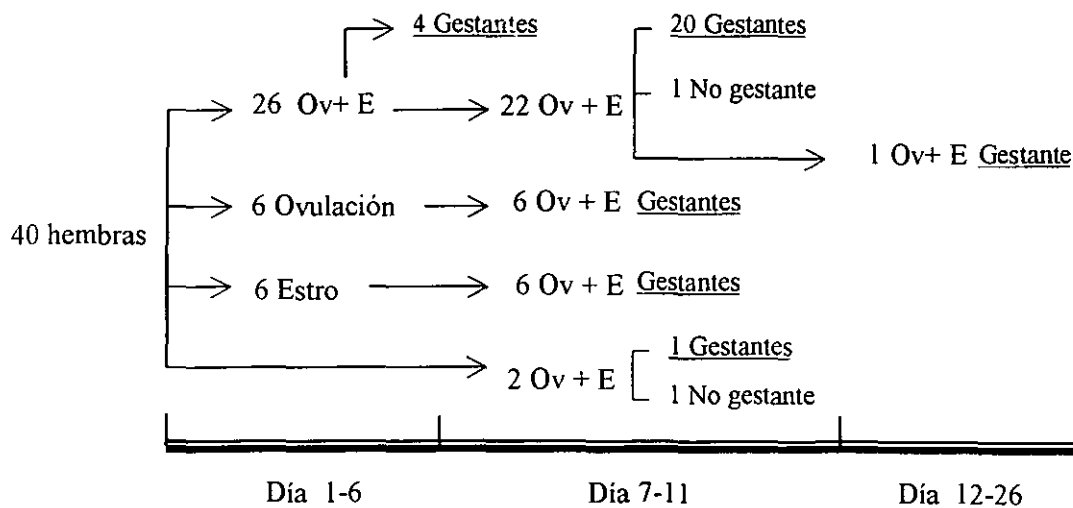


Figura 11. Respuesta estral y ovulatoria de las hembras que estuvieron en contacto con machos que fueron previamente expuestos a 2.5 meses de días largos seguidos de la administración de melatonina. Ov+E= ovulación y estro.

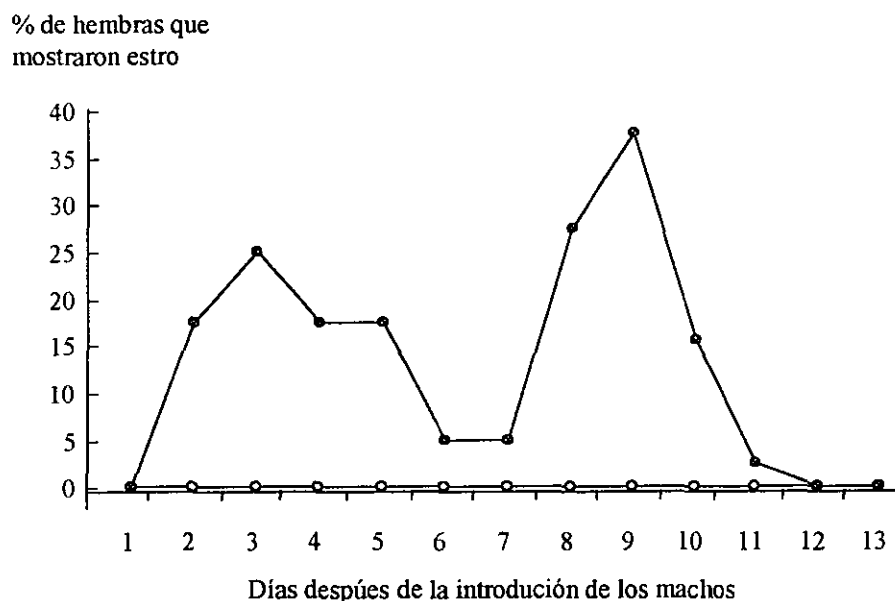


Figura 12. Porcentaje de hembras que manifestaron actividad estral después de haber sido puestas en contacto con 4 machos del grupo Control (-o-) o con 4 machos sexualmente activos (DL+M), los cuales fueron sometidos a 2.5 meses de días largos seguidos de la inserción subcutánea de 2 implantes de melatonina (-●-).

### 2.1.2. Diferentes evoluciones en la concentración plasmática de progesterona

La concentración plasmática de progesterona en las hembras que presentaron un cuerpo lúteo normal, se elevó de su nivel basal ( $<0.5$  ng/ml) hasta  $4.3 \pm 0.5$  ng/ml en los 7 días siguientes, manteniendo esta concentración por varios días. En cambio, en las hembras que tuvieron un primer ciclo ovulatorio con un cuerpo lúteo de corta duración (70%), los niveles plasmáticos de progesterona se elevaron, en algunos casos hasta 5.0 ng/ml, mientras que en los otros, los valores fueron 2.3 ng/ml, regresando rápidamente a su nivel basal. En la Figura 13 se pueden observar 4 ejemplos de evoluciones en la concentración plasmática de progesterona.

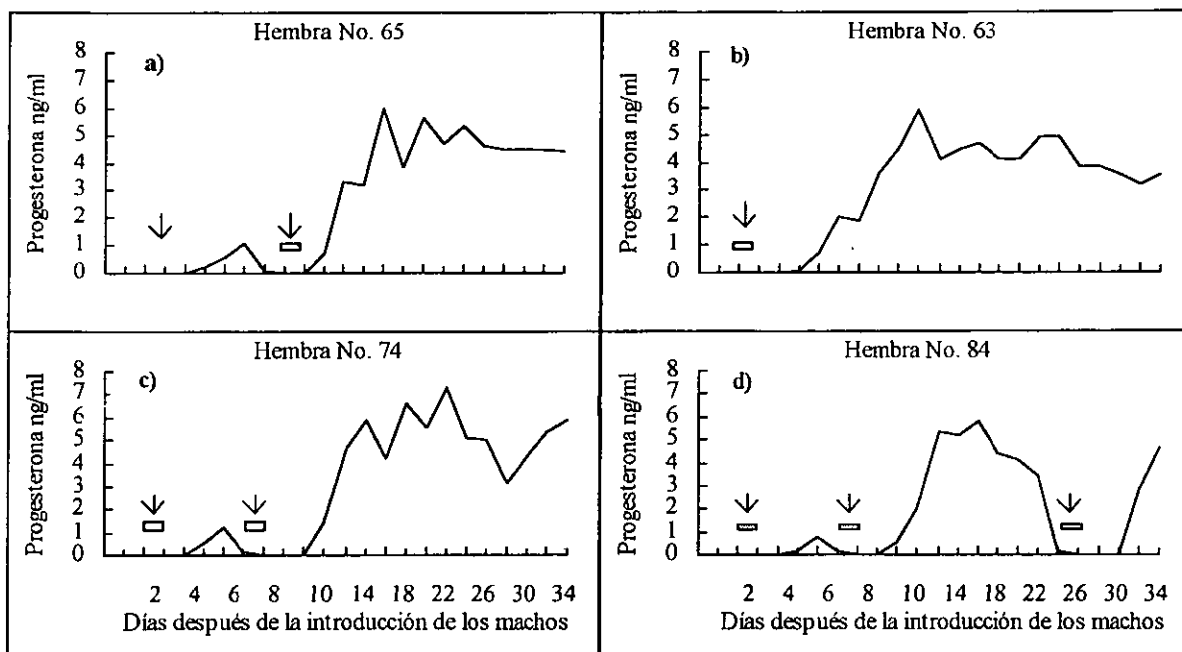


Figura 13. Ejemplos de la respuesta estral (▨) y los perfiles representativos del patrón de progesterona (—) secretada por 4 hembras que estuvieron en contacto con 4 machos tratados con 2.5 meses de días largos seguido la aplicación subcutánea de melatonina. La flecha indica la fecha probable en que ocurrió la ovulación.

### 2.1.3. Tasa de concepción a los 25 días, fertilidad al parto y prolificidad

La tasa de concepción a los 25 días en las hembras puestas en contacto con los machos DL+M fue de 95 % (38/40). De estas hembras, únicamente parieron el 63.2 % (24/38). La prolificidad en estas hembras fue de  $2.0 \pm 0.1$  crías por hembra (Cuadro 3). Por el contrario, la tasa de concepción de las hembras que estuvieron en contacto con los machos del grupo Control fue de 0 %. (prueba de probabilidades exacta de Fisher,  $P < 0.0001$ ).

Cuadro 3. Número de hembras que presentaron actividad estral y ovulatoria después de haber estado en contacto durante 35 días con machos Control y con machos expuestos a 2.5 meses de días largos y melatonina (DL+M).

No. de machos	Hembras n	Ovulaciones %	Estros %	Fertilidad al parto %	Prolificidad
Control (n=4)	34	2	0	0	0
DL+M (n=4)	40	100	100	63.2	$2 \pm 0.1$

## **B. Inducción de la actividad sexual de las cabras anovulatorias de un mismo rebaño mediante la introducción de machos sexualmente activos**

### **1. Machos**

#### **1.1. Comportamiento sexual de los machos**

Cuando el experimento fue realizado con hembras de un mismo rebaño, el comportamiento sexual de los machos fue similar al observado en el experimento I. Al igual que en el experimento anterior, los machos DL+M mostraron un mayor número de respuestas conductuales que los machos Control (Figura 14). Del total de 489 inspecciones nasales, 404 fueron realizadas por los machos DL+M (prueba de probabilidades exacta de Fisher;  $p < 0.001$ ). De 993 casos de aproximaciones realizadas por los machos de los dos grupos, 970 fueron observadas en el grupo DL+M (prueba de probabilidades exacta de Fisher;  $p < 0.001$ ). Asimismo, todos los intentos de monta y el total de las montas fueron realizados por los machos DL+M (65 y 58, respectivamente; prueba de probabilidades exacta de Fisher;  $p < 0.001$ ).

### **2. Hembras**

#### **2.2. Respuesta de las hembras al efecto macho**

De las hembras que estuvieron en contacto con los machos Control, únicamente una hembra presentó comportamiento de estro el día 10 después de la introducción de los machos. En contraste, 27 de las 33 hembras (81.1 %) que estuvieron en contacto con los machos DL+M mostraron comportamiento de estro entre el día 2 y 14 después la introducción de los machos (Figura 15). Del total de las hembras, 21 (63.6 %) mostraron comportamiento de estro entre el

día 2 y 6. De estas últimas, 19 de las 21 mostraron un ciclo estral corto y presentaron estro por segunda ocasión entre los días 7 y 14. Las otras dos hembras hicieron un ciclo normal y no presentaron nuevamente estro. En total, 26 de las 33 hembras mostraron estro entre los días 7 y 14. Después del día 14, ninguna hembra de este grupo manifestó comportamiento de estro. En las hembras que presentaron una respuesta temprana (entre el día 1 y 6; n=21), el intervalo entre la introducción de los machos y el inicio del estro fue de  $3.7 \pm 0.2$  días. En las hembras que respondieron tarde (del día 7 al 14; n=6), ese intervalo fue de  $8.7 \pm 0.3$  días.

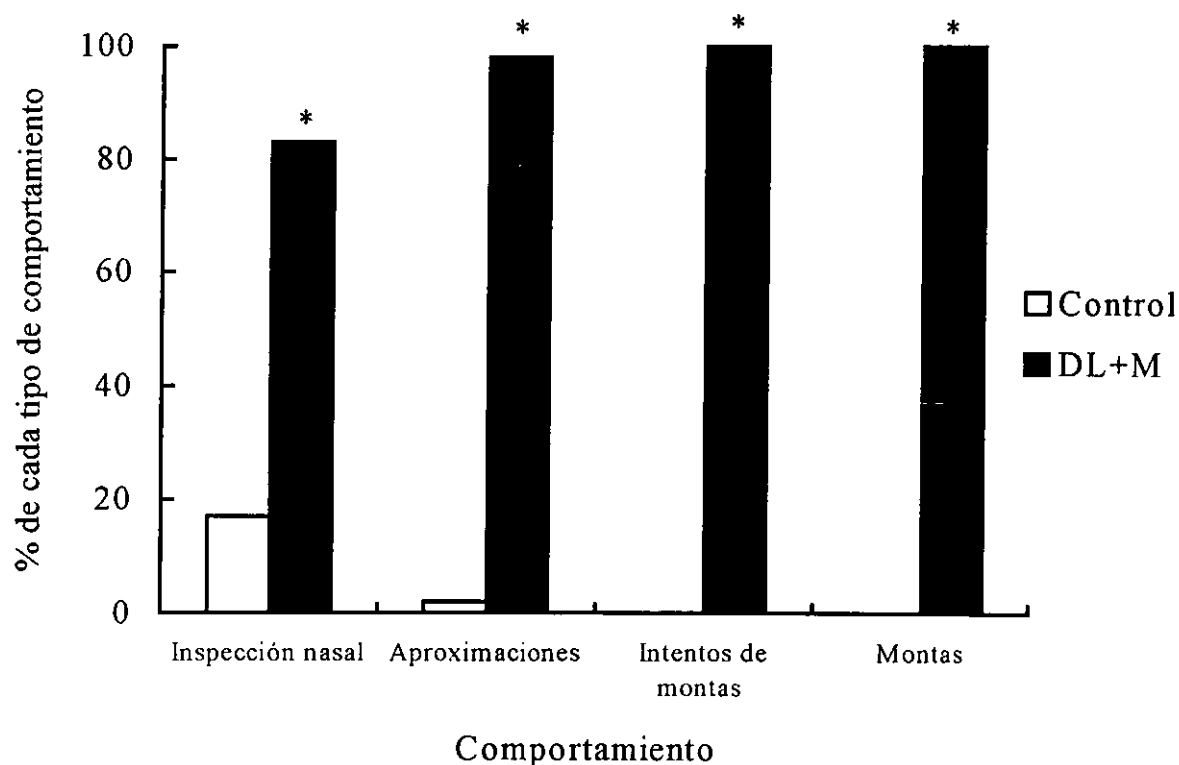


Figura 14. Distribución de cada tipo de comportamiento observado entre los dos grupos de machos, expresado como porcentaje del número total de comportamientos observados. El comportamiento sexual fue observado dos horas diarias durante los primeros 5 días de contacto con las hembras. \*Indica diferencias entre los grupos Control y DL+M (prueba de probabilidades exacta de Fisher;  $P < 0.001$ ).

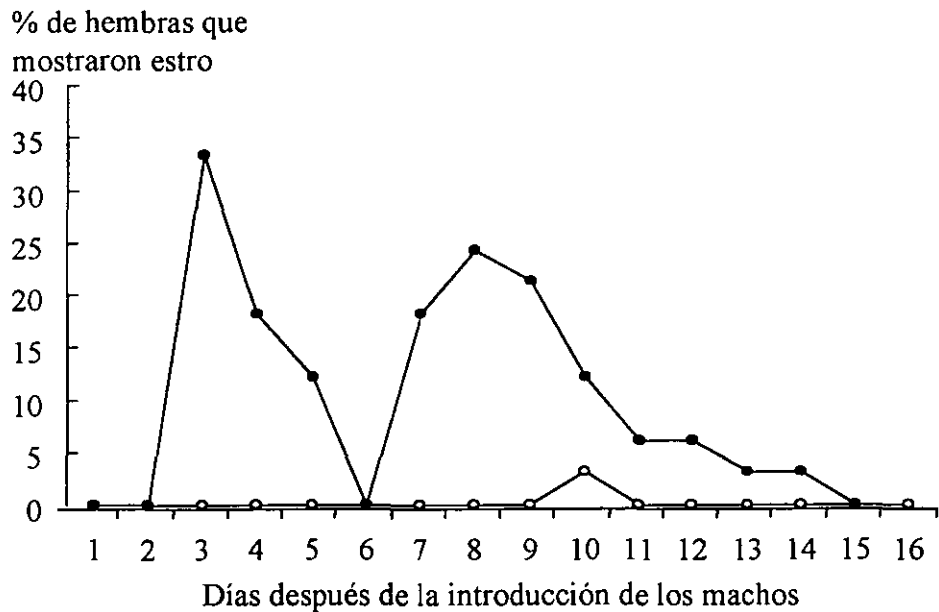


Figura 15. Porcentaje de hembras de un mismo rebaño que manifestaron actividad estral después de haber sido puestas en contacto con 3 machos del grupo Control (-o-) o con 3 machos sexualmente activos del grupo DL+M (-•-), los cuales fueron sometidos a 2.5 meses de días largos seguidos de la inserción subcutánea de 2 implantes de melatonina. La introducción del macho se realizó en el mes de marzo (anestro). Se constató que todas las hembras estuvieran en anestro (niveles de progesterona) previo a la introducción del macho.



# **FASE EXPERIMENTAL II**

## **Inducción de la actividad sexual de los machos cabríos mediante días largos artificiales**

### **MATERIALES Y METODOS**

#### **1. Localización del experimento**

La segunda fase experimental se realizó en la Unidad Ovina y Caprina del Centro de Neurobiología localizada en las instalaciones del Rancho Amazcala de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro. Dichas instalaciones se encuentran ubicadas en el km 27 de la carretera Querétaro-Chichimequillas, en la comunidad de Amazcala perteneciente al municipio del Marqués, Querétaro. Dicha localidad está situada a una latitud de  $20^{\circ} 42'$  y una longitud de  $100^{\circ} 16'$  oeste. La altitud es de 1850 metros sobre el nivel del mar. La temperatura media mensual máxima se registra en el mes de mayo con  $19.6^{\circ}$  C y la mínima en el mes de diciembre con  $12.7^{\circ}$  C. La precipitación media anual es de 450-630 mm, la mayor incidencia pluvial es de 114 mm en los meses de julio y agosto, y la mínima en el mes de Febrero con solo 5.7 mm. (INEGI, 1986).

#### **2. Animales y alimentación**

Para este estudio se utilizaron 24 machos cabríos Criollos que al inicio del experimento tenían 18 meses de edad. Estos machos fueron encerrados en corrales al aire libre con sombra y durante todo el estudio estuvieron alimentados con heno de alfalfa a libre acceso y 300 gr de concentrado comercial (14 % de Proteína Cruda) por día y por animal. El agua y los minerales

fueron proporcionados a libre acceso. El 15 de octubre de 1998, los machos fueron repartidos en tres grupos homogéneos de acuerdo al peso corporal y peso testicular.

### 3. Tratamientos

#### Grupo Control

Los machos del **Grupo Control** (n=8) fueron alojados en un corral de 6 x 6 metros y percibieron durante todo el estudio las variaciones naturales del fotoperíodo y la temperatura de la región.

#### Grupo Días largos + Melatonina (DL+M)

Los machos del **Grupo DL+M** (n=8) fueron alojados en un corral de 6 x 6 metros y fueron sometidos del 1 de noviembre de 1998 al 15 de enero de 1999 a días largos artificiales. El procedimiento para la aplicación de los días largos artificiales fue idéntico al utilizado en el experimento 1. El 16 de enero de 1999, cada macho de este grupo recibió en la base de la oreja dos implantes subcutáneos de melatonina (Regulin, Hoechst) de 18 mg cada uno. En ese momento se suspendió el tratamiento fotoperiódico y los machos percibieron las variaciones naturales del fotoperíodo.

#### Grupo Días Largos (DL)

Los machos del **Grupo DL** (n=8) fueron alojados en un corral de 6 x 6 metros y fueron sometidos a días largos (16 h de luz/ 8 h de oscuridad) del 1 de noviembre de 1998 al 15 de junio de 1999. El procedimiento para la aplicación de los días largos fue igual al descrito en el Grupo DL+M.

#### **4. Variables evaluadas**

##### **4.1. Peso corporal**

El peso corporal de los machos de los tres grupos fue determinado cada 15 días durante todo el periodo experimental. La determinación del peso se realizó antes de la distribución del forraje y el concentrado. Para ello, se utilizó una báscula electrónica con una precisión de 10 g y una capacidad de 300 Kg.

##### **4.2. Peso testicular**

El peso testicular, indicador de la actividad de espermatogénesis (Delgadillo *et al.*, 1991; Walkden-Brown *et al.*, 1994) fue determinado cada 15 días mediante la técnica de palpación comparativa propuesta por Oldham *et al.* (1978).

##### **4.3. Testosterona**

Para determinar los niveles plasmáticos de testosterona se obtuvieron muestras sanguíneas cada semana durante todo el tiempo experimental. La obtención de muestras se realizó de la vena yugular (5 ml por animal). La toma de muestras se realizó a las 8:00 horas, antes de proporcionar el alimento. Todas las muestras se obtuvieron en tubos al vacío que contenían 30 µl de heparina como factor anticoagulante. Posteriormente, la sangre fue centrifugada durante 20 minutos a 3000 rpm y el plasma obtenido fue congelado a  $-15^{\circ}$  C, hasta la determinación de testosterona, la cual se realizó mediante radioinmunoálisis, según la

técnica propuesta por Garnier *et al.* (1978). La sensibilidad del ensayo fue de 0.1 ng/ml. Las determinaciones de testosterona se realizaron en un solo ensayo y el coeficiente de variación inter-ensayo fue de 12 %.

#### **4.4. Prolactina**

Los niveles plasmáticos de prolactina fueron determinados semanalmente durante todo el estudio. Para ello se obtuvieron 5 ml de sangre de la vena yugular en tubos al vacío con 30  $\mu$ l de heparina como factor anticoagulante. La sangre fue centrifugada durante 25 minutos a 3000 rpm y el plasma obtenido fue congelado a  $-15^{\circ}$  C hasta la determinación de la prolactina mediante radioinmunoanálisis. La determinación de prolactina se realizó en un sólo ensayo utilizando el método de Kann (1971). La sensibilidad del ensayo fue de 8.9 %.

#### **4.5. Comportamiento sexual de los machos**

Para determinar la conducta sexual de los machos en respuesta al tratamiento, se realizaron 2 pruebas de comportamiento en los tres grupos. Para ello, de manera individual el 14 abril de 1999, los machos de los tres grupos fueron puestos en contacto durante 25 minutos con 3 hembras a las cuales se les aplicó una esponja intravaginal conteniendo 45 mg de Acetato de Flurogestona (FGA) 12 días antes de realizar la prueba, con la finalidad de simular una fase luteal y que de esta manera las hembras no mostraran comportamiento de estro.

Posteriormente, el 16 de abril de 1999, otra prueba fue realizada con los mismos machos. En esta ocasión las hembras fueron inducidas artificialmente al estro mediante la aplicación de una esponja intravaginal conteniendo FGA, y al momento de retirarlas (después de 21 días) se les aplicó intramuscularmente 50 µl de cipionato de estradiol (Billings y Katz, 1997). Con este tratamiento, las hembras mostraron comportamiento de estro al día siguiente de retirada la esponja. En las dos pruebas de comportamiento se registró el número de inspecciones nasales, aproximaciones, intentos de monta, montas sin penetración y montas con penetración y eyaculación.

## **5. Análisis estadísticos**

### **5.1. Peso corporal.**

El peso corporal y testicular de los machos de los tres grupos fueron sometidos a un ANOVA a dos factores (grupo x tiempo) con medidas repetidas. Posteriormente los promedios quincenales fueron comparados mediante la prueba post-hoc de Tukey

### **5.2. Testosterona y prolactina**

Las concentraciones plasmáticas de testosterona y prolactina fueron analizadas mediante un ANOVA a dos factores (grupo x tiempo) con medidas repetidas. Los datos quincenales fueron comparados mediante la prueba post-hoc de Tukey.

### **5.3. Pruebas de comportamiento**

En cada una de las pruebas de comportamiento, el número de conductas emitidas por los machos de los tres grupos fueron comparadas mediante la prueba de  $X^2$ .

## RESULTADOS

### 1. Respuesta fisiológica de los machos a los tratamientos

#### 1.1. Peso corporal

Las variaciones del peso corporal de los machos de los tres grupos son mostradas en la Figura 16. Al analizar las variaciones del peso corporal de los machos de los tres grupos no se encontró diferencia significativa en cuanto al factor grupo [ $F(2, 609) = 1.081$ ;  $p < 0.357$ ]. Sin embargo, se encontró un efecto significativo del tiempo [ $F(15, 609) = 218.82$ ;  $p < 0.001$ ] y una interacción grupo x tiempo [ $F(30, 609) = 4.23$ ;  $p < 0.001$ ], lo cual indica que el peso corporal de los grupos evolucionó de manera diferente. En efecto, desde el inicio del estudio los machos de los tres grupos mostraron un crecimiento corporal que se mantuvo hasta marzo, mes en el cual el peso corporal de los grupos DL+M y DL se mantuvo sin cambio. Al contrario, el peso corporal del grupo Control continuó en aumento hasta el final del estudio. En las pruebas post-hoc no se encontró diferencia significativa entre los dos grupos (Tukey,  $p > 0.05$ ).

#### 1.2. Peso testicular

Las variaciones del peso testicular de los machos del grupo Control y del grupo DL+M son mostrados en la Figura 17. El ANOVA no mostró diferencia significativa entre los tres grupos [ $F(2, 609) = 0.561$ ;  $p < 0.579$ ]. Sin embargo, se encontró un efecto significativo del tiempo [ $F(15, 609) = 59.38$ ;  $p < 0.001$ ] y se observó una interacción grupo x tiempo del experimento [ $F(30, 609) = 4.64$ ;  $p < 0.001$ ]. En el grupo Control, el peso testicular mantuvo un



crecimiento progresivo, hasta alcanzar su valor máximo en el mes de mayo. Al contrario, para los machos de los grupos DL+M y DL, el peso testicular inició su crecimiento a partir de febrero, para alcanzar su nivel máximo el 15 de marzo, fecha en la cual, el peso testicular del DL+M inició una disminución progresiva hasta el mes de mayo. En cambio en el grupo DL el peso testicular se mantuvo durante abril y mayo en sus niveles máximos. En las pruebas post-hoc se encontró diferencia significativa entre el grupo Control y DL el 25 de mayo, el 1 y 8 de junio (Tukey,  $p < 0.05$ ).

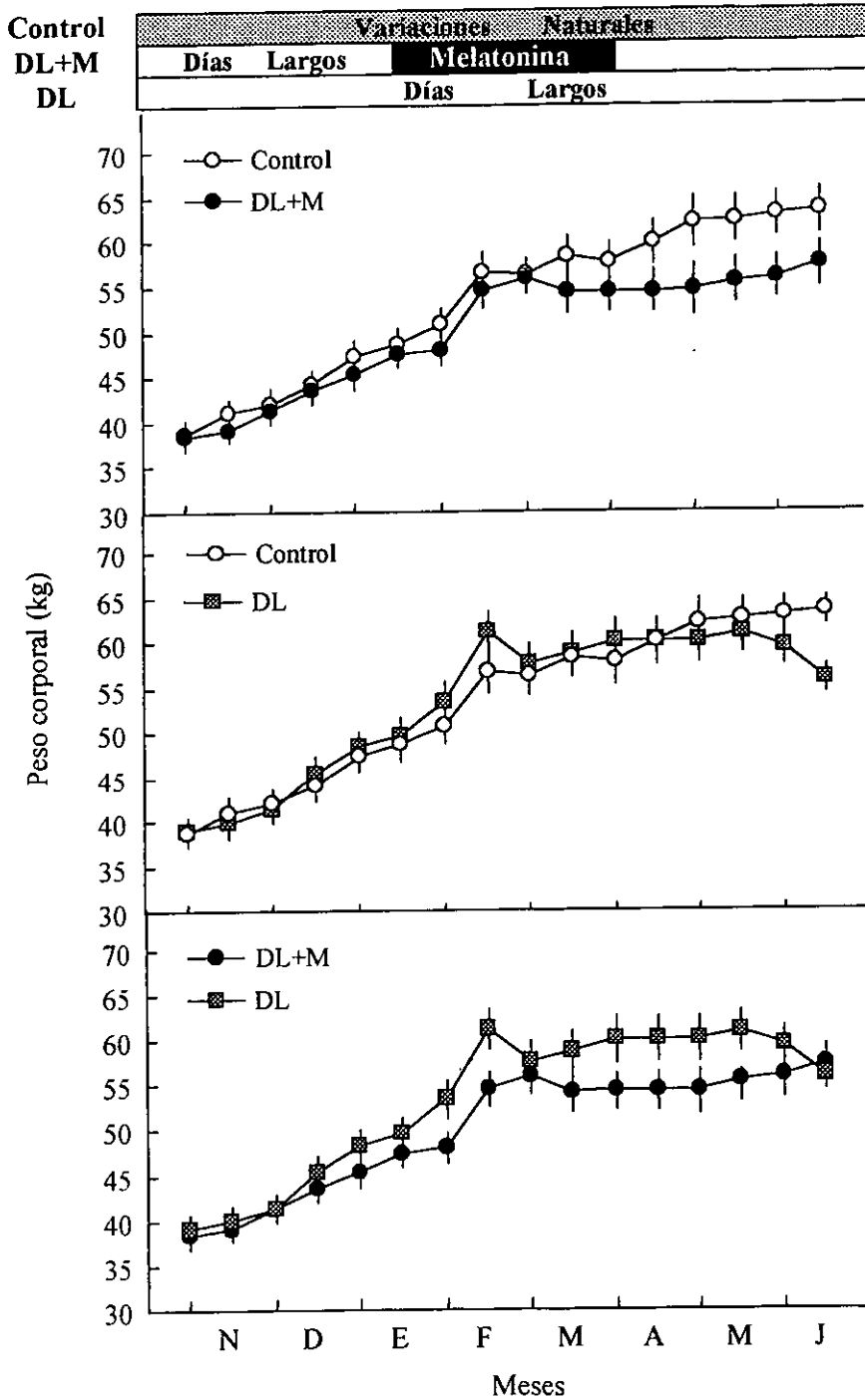


Figura 16. Evolución del peso corporal (promedio  $\pm$  E.E.M.) de los machos cabríos Criollos sometidos a las variaciones naturales del fotoperiodo (Control;  $n=8$ ), de los machos sometidos a 2.5 meses de días largos seguidos de la inserción subcutánea de melatonina (DL+M;  $n=8$ ) y de los machos sometidos a días largos del 1 de noviembre al 15 de junio (DL;  $n=8$ ).

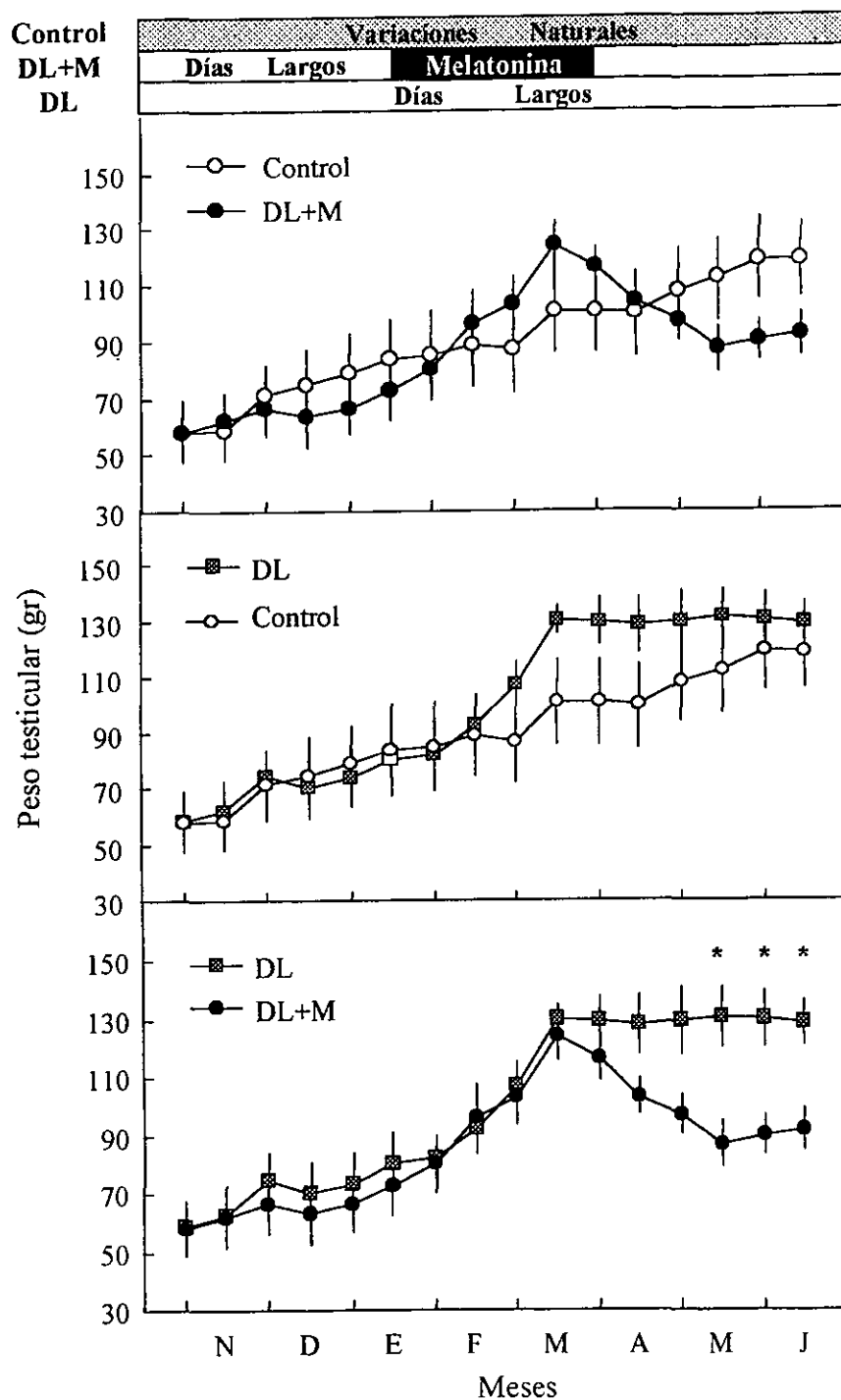


Figura 17. Evolución del peso testicular (promedio  $\pm$  E.E.M.) de los machos cabríos Criollos sometidos a las variaciones naturales del fotoperiodo (Control; n=8), de los machos sometidos a 2.5 meses de días largos seguidos de la inserción subcutánea de melatonina (DL+M; n=8) y de los machos sometidos a días largos del 1 de noviembre al 15 de junio (DL; n=8). \* Indica diferencias entre grupos (Tukey,  $p < 0.05$ ).

### 1.3. Testosterona

El ANOVA no reveló un efecto significativo del grupo [F (2, 696)=1.647;  $p<0.217$ ], pero se encontró un efecto significativo del tiempo [F (31, 696)=14.542;  $p<0.001$ ] y una interacción tiempo x grupo sobre la secreción de la testosterona [F (62, 696)=3.76;  $p<0.001$ ]. En efecto, en los tres grupos las concentraciones plasmáticas de testosterona se mantuvieron en sus niveles basales desde noviembre hasta finales de febrero. Posteriormente las concentraciones de testosterona de los grupos DL+M y DL aumentaron hasta alcanzar sus niveles más altos en marzo. En el grupo DL+M estas elevadas concentraciones se mantuvieron durante un mes para posteriormente disminuir progresivamente. En cambio, en el grupo DL, las concentraciones de testosterona se mantuvieron elevadas desde marzo y hasta el final del estudio. En el grupo Control, en cambio, se observó un incremento en las concentraciones de testosterona a finales de marzo para posteriormente disminuir y mantenerse en niveles de entre 5 y 14 ng/ml por el resto del estudio. En las pruebas post-hoc se encontró diferencia significativa entre el grupo Control y DL+M el 16 de febrero, así como el 2 y 9 de marzo. Además se encontró diferencia significativa entre los grupos Control y DL el 15 de mayo y el 1 de junio. Por otro lado, se registró también diferencia significativa entre los grupos DL+M y DL el 4, 18 y 25 de mayo, así como el 1 y 6 de junio (Tukey,  $p<0.05$ ; Figura 18).

### 1.4. Prolactina

El ANOVA reveló un efecto significativo del tiempo [F (31, 696)=3.78;  $p<0.001$ ] sobre la secreción plasmática de prolactina en los tres grupos (Ver Figura 19). También existió

una interacción entre grupo x tiempo del experimento [ $F(62, 696)=3.22; p<0.001$ ], indicando que la evolución de la prolactina plasmática fue diferente entre los 3 grupos. En las pruebas post-hoc se encontraron diferencias significativas entre el grupo Control y DL+M el 3 de noviembre, 8 de febrero, 1 y 8 de marzo. De igual manera, se encontraron diferencias significativas entre el grupo DL+M y DL el 1, 8 y 19 de febrero, así como el 1 de marzo (Tukey,  $p<0.05$ ).

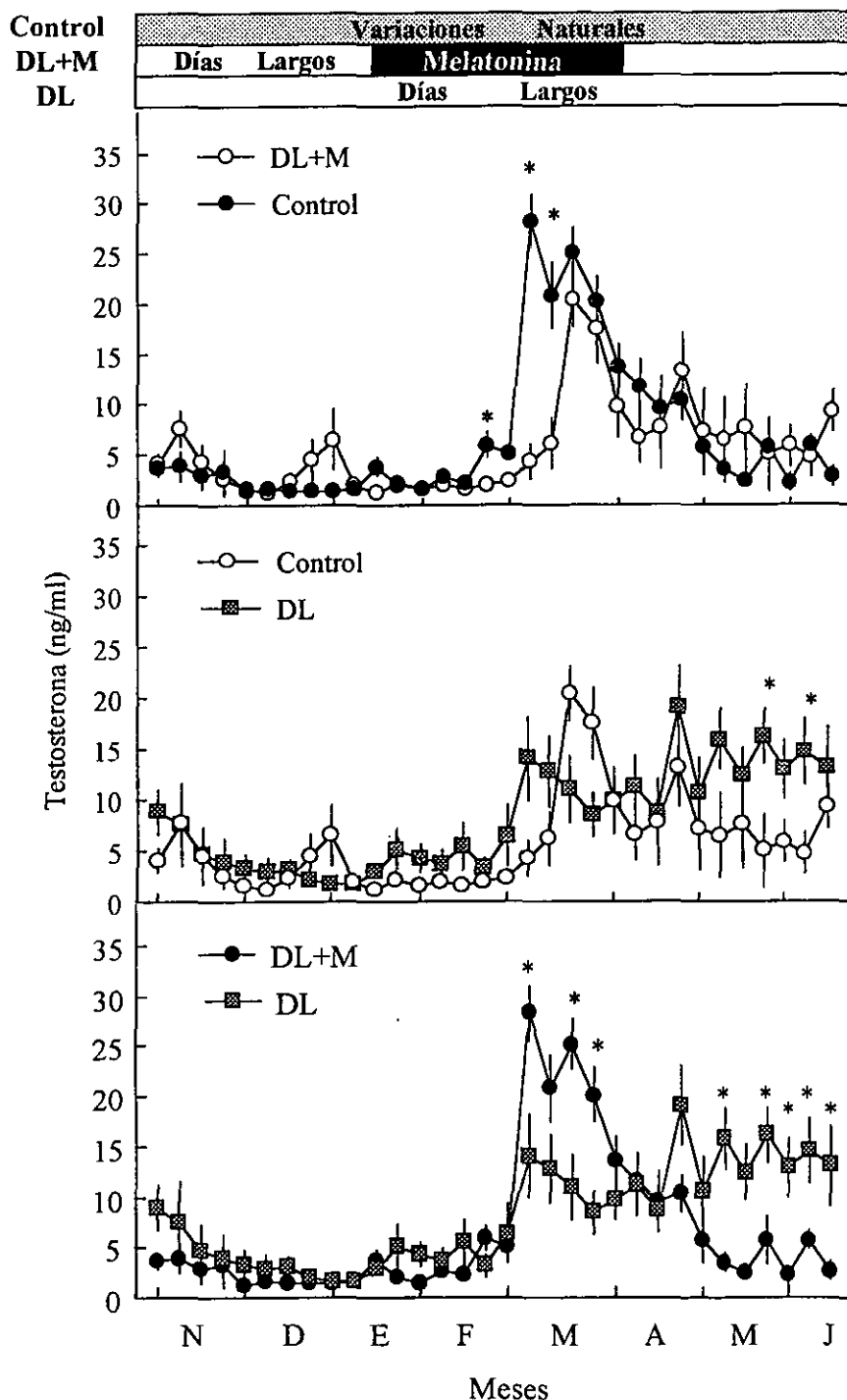


Figura 18. Evolución de las concentraciones plasmáticas de testosterona (promedio  $\pm$  E.E.M.) de los machos cabríos Criollos sometidos a las variaciones naturales del fotoperiodo (Control;  $n=8$ ), de los machos sometidos a 2.5 meses de días largos seguidos de la inserción subcutánea de melatonina (DL+M;  $n=8$ ) y de los machos sometidos a días largos del 1 de noviembre al 15 de junio (DL;  $n=8$ ). \* Indica diferencias entre grupos (Tukey,  $p<0.05$ ).

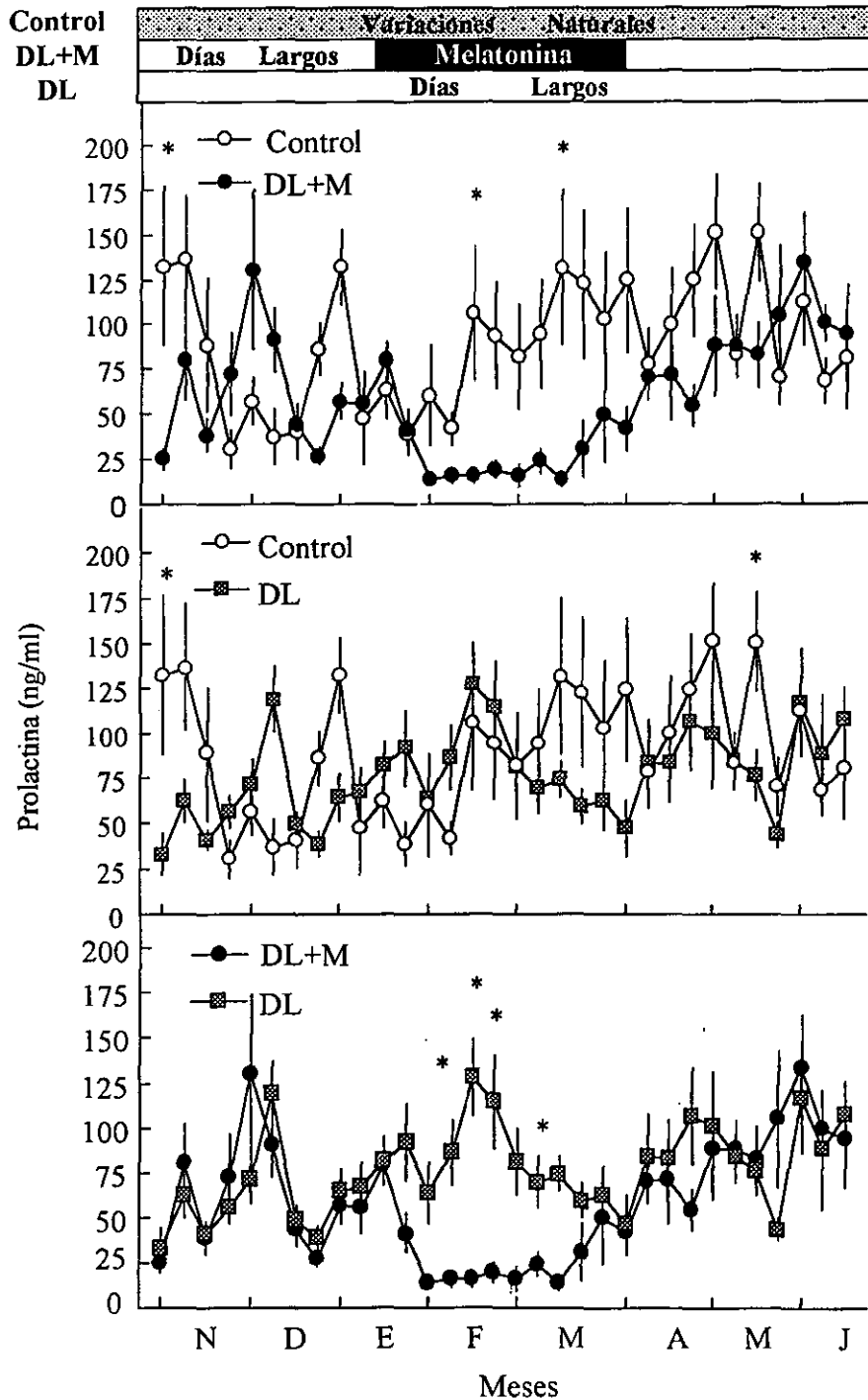


Figura 19. Evolución de las concentraciones plasmáticas de prolactina (promedio  $\pm$  E.E.M.) de los machos cabrios Criollos sometidos a las variaciones naturales del fotoperiodo (Control; n=8), de los machos sometidos a 2.5 meses de días largos seguidos de la inserción subcutánea de melatonina (DL+M; n=8) y de los machos sometidos a días largos del 1 de noviembre al 15 de junio (DL; n=8). \* Indica diferencias entre grupos (Tukey,  $p < 0.05$ ).

### 1.5. Comportamiento sexual de los machos

Cuando las pruebas de comportamiento de los machos cabríos se realizaron con hembras que no mostraban comportamiento de estro el 14 de abril de 1999, el grupo DL fue superior al grupo DL+M y al grupo Control (Ver Figura 20). En efecto, el número total de inspecciones nasales en el grupo DL (78) fue mayor a lo mostrado por los machos de los grupos DL+M (65) y Control (46;  $X^2$ ;  $p < 0.01$ ). De igual manera, el número de aproximaciones realizadas por los machos DL (310), fue superior al grupo DL+M y al grupo Control (95 y 58, respectivamente;  $X^2$ ;  $p < 0.01$ ). Igualmente, los machos del grupo DL realizaron significativamente más intentos de monta que los machos del grupo DL+M y Control (39 para el grupo DL, 6 y 2, para el grupo DL+M y Control respectivamente,  $X^2$ ;  $p < 0.01$ ). En número de montas sin penetración realizadas por los machos del grupo DL (16) fue significativamente superior a las realizadas por los grupos DL+M (1) y Control (2;  $X^2$ ;  $p < 0.01$ ). Finalmente, en el número de montas con eyaculación no se encontró diferencias significativas entre tres grupos ( $X^2$ ;  $p > 0.05$ ).

Cuando las pruebas de comportamiento sexual se realizaron nuevamente con hembras que fueron inducidas artificialmente al estro (receptivas) el 16 de abril de 1999, los machos de los grupos DL+M y DL mostraron un mayor número de conductas con respecto al grupo Control (Ver Figura 21). Así, el número de inspecciones nasales realizadas por los machos de los grupos DL+M (284) y DL (302) fue significativamente superior al grupo Control (54;  $X^2$ ;  $p < 0.01$ ). El número de aproximaciones del grupo DL+M (527) y del grupo DL (543) fue significativamente superior a los del grupo Control (219;  $X^2$ ;  $p < 0.01$ ). En los intentos de monta y las montas sin penetración no se encontró diferencia significativa entre los tres grupos



( $X^2$ ;  $p > 0.05$ ). El número de montas con eyacuación realizadas por los grupos DL+M (27) y DL (29) fue superior a las realizadas por los machos del grupo Control (13;  $X^2$ ;  $p < 0.05$ ). No se encontraron diferencias significativas entre los grupos DL+M y DL en ninguna de las conductas.

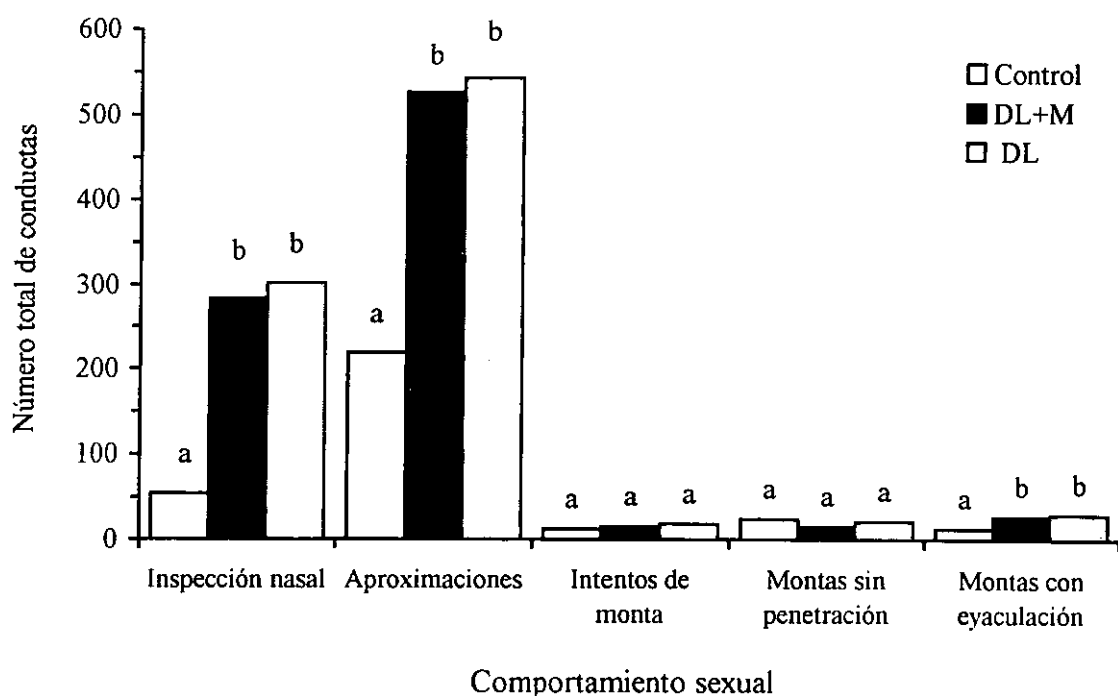


Figura 20. Comportamiento sexual de los machos cabrios Control ( $n=8$ ), de los machos tratados con días largos y melatonina (DL+M;  $n=8$ ) y machos tratados con días largos únicamente (DL;  $n=8$ ). Los machos de los tres grupos fueron expuestos individualmente y durante 25 minutos con 3 cabras a las cuales se les aplicó una esponja intravaginal (45 mg de Acetato de Flurogestona) 12 días antes de la prueba con la finalidad de simular una fase luteal y que de esta manera no mostraran comportamiento de estro. La prueba se realizó el 14 de abril de 1999. Literales diferentes indican diferencias entre grupos ( $X^2$ ;  $p < 0.05$ ).

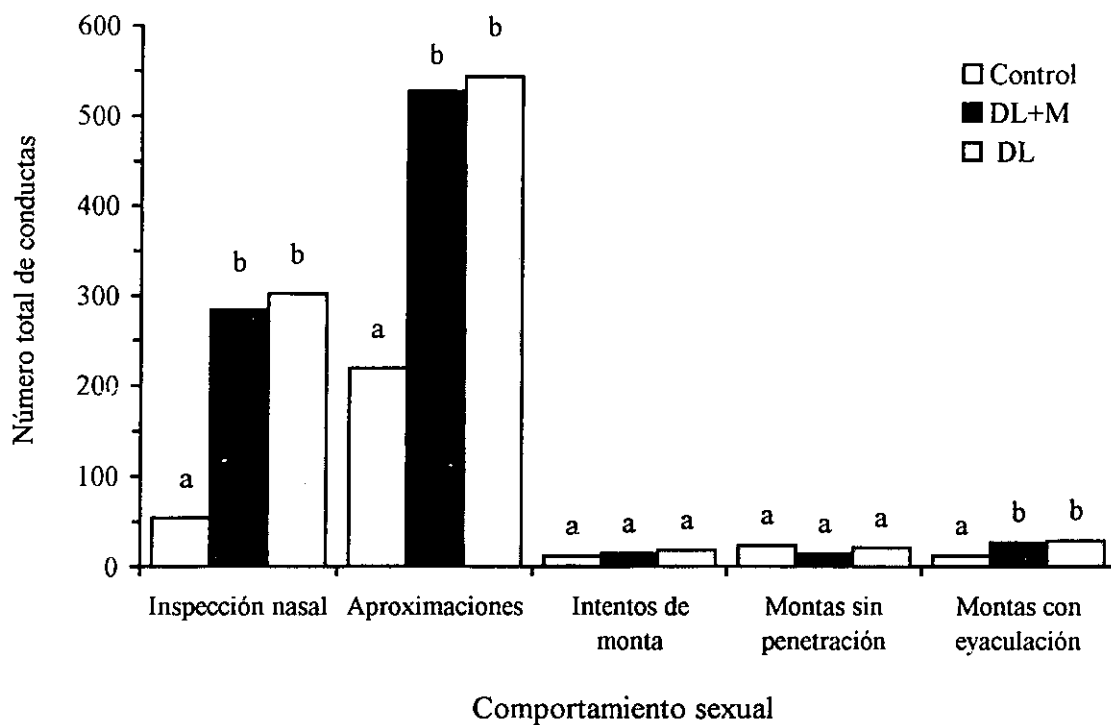


Figura 21. Comportamiento sexual de los machos Control (n=8), de los machos tratados con días largos y melatonina (DL+M; n=8) y de los machos tratados con días largos únicamente (DL; n=8). Los machos de los tres grupos fueron expuestos individualmente y durante 25 minutos con 3 hembras que fueron inducidas artificialmente al estro el 16 de abril de 1999. Literales diferentes indican diferencias entre grupos ( $X^2$ ;  $p < 0.05$ ).

## DISCUSSION

## DISCUSION

En la primer fase experimental se demuestra que la ausencia de respuesta por la introducción de los machos durante el anestro no es causada por una incapacidad de las hembras para responder al estímulo del macho. La inducción de actividad sexual en dichas hembras no ocurrió cuando se expusieron a machos sexualmente inactivos del grupo Control. En contraste, la actividad sexual fue exitosamente inducida en todas las hembras cuando éstas fueron expuestas a machos que presentaban un intenso comportamiento sexual, inducido a su vez por el tratamiento de éstos con la exposición a días largos y la administración de melatonina. Estos resultados sugieren fuertemente que el fracaso del efecto macho durante el anestro estacional es debido, muy probablemente, a una reducción en la intensidad del estímulo del macho, más que a una total incapacidad para responder por parte de la hembra.

De las hembras que estuvieron en contacto con los machos Control en la primer fase experimental, únicamente 2 hembras ovularon y ninguna presentó un comportamiento de estro durante el estudio. Esa ausencia de respuesta de las hembras al efecto macho puede parecer diferente de lo reportado anteriormente en ovejas (Martin, 1984) y cabras (Chemineau, 1987; Walkden-Brown *et al.*, 1993a). Estos autores reportaron que la introducción de machos en un grupo de hembras anovulatorias, después de al menos 3 semanas de completa separación, induce actividad sexual en la mayoría de las hembras, utilizando machos sin un tratamiento previo. Sin embargo, esos resultados fueron obtenidos justo antes del inicio de la estación natural de reproducción, cuando las hembras están por iniciar su actividad sexual de manera natural. Por el contrario, en el presente estudio el efecto macho fue realizado durante el periodo de anestro estacional, lo cual puede explicar por qué la introducción de machos

sexualmente inactivos del grupo Control no fue efectiva. Estos resultados son también similares a los obtenidos en un estudio realizado en la misma latitud en el norte de México, en el cual, la introducción de machos cabríos intactos o castrados y tratados con testosterona durante el anestro no fue efectiva para inducir actividad sexual en las cabras anovulatorias (Mellado y Hernandez, 1996).

Por otro lado, existen reportes que indican que la respuesta de las hembras al efecto macho depende de la profundidad del anestro, la cual está determinada por el número de hembras que ovulan espontáneamente antes de la introducción de los machos (Chemineau, 1987). En el primer estudio, 14 de las 88 hembras muestreadas inicialmente presentaron actividad ovárica antes de la introducción de los machos y fueron eliminadas del estudio antes de la exposición a los mismos. En el año siguiente, 15 hembras de 78 fueron cíclicas, lo cual demuestra que la mayoría de las hembras estaban anovulatorias. Tampoco se puede excluir que la capacidad de las hembras para responder al estímulo de los machos podría haber sido más baja en el grupo en contacto con los machos Control, debido a algunos factores que no fueron controlados en dicho rebaño, tal como las condiciones sanitarias o diferencias genéticas entre los animales. Sin embargo, esto es refutado por tres razones. Primero, las hembras estuvieron en un mismo plan alimentario desde un mes antes de la introducción de los machos y no hubo diferencias aparentes entre los dos grupos. Segundo, los machos Control fueron introducidos en el rebaño que tenía una mayor proporción de hembras cíclicas antes de la introducción de los machos, lo cual sugiere que la respuesta potencial en ese grupo pudiera haber sido más alta que en el grupo donde se introdujeron los machos sexualmente activos. Tercero, los resultados obtenidos en los dos diferentes rebaños en el primer experimento fueron confirmados al siguiente año, cuando los machos Controles y los machos DL+M fueron

introducidos con hembras de un mismo rebaño y fueron mantenidos en las mismas condiciones. En este caso, todas las hembras del mismo rebaño que no habían respondido en el año previo mostraron una respuesta completa con los machos DL+M, mientras que nuevamente las hembras que estuvieron en contacto con los machos Controles no respondieron.

En el primer estudio, todas las hembras en contacto con los machos tratados con días largos y melatonina presentaron actividad sexual en los primeros 11 días después de la introducción de los machos. Después de pocos días de contacto con los machos, todas las hembras ovularon y presentaron comportamiento de estro y estas actividades estuvieron divididas en dos períodos, con un alto porcentaje de hembras que mostraron dos ciclos estrales y ovulatorios. Cuando repetimos el experimento el año siguiente, en el cual se registró únicamente la actividad estral, el 81.8 % (27 de 33) de las hembras mostraron estro entre el día 2 y 14 después de la introducción de los machos. La respuesta fisiológica de las hembras inducidas con los machos tratados con días largos y melatonina fue similar a lo reportado anteriormente en cabras anovulatorias después de la introducción de machos sin tratamiento previo, pero en una época cuando se espera una máxima respuesta (Chemineau, 1987; Restall, 1988; Walkden-Brown *et al.*, 1993a).

Debido a que la introducción de los machos sexualmente inactivos del grupo Control fue inefectiva para inducir actividad sexual durante el anestro, se sugiere que las hembras responden al efecto macho en ésta época únicamente cuando se introducen machos sexualmente activos. En este experimento, los machos que fueron tratados previamente con 2.5 meses de días largos y melatonina presentaron un elevado peso testicular, así como

concentraciones de testosterona elevadas, lo cual es un indicativo de actividad sexual. El mayor peso testicular y los mayores niveles de testosterona de estos machos fueron observados en la segunda quincena de marzo, fechas en las cuales fueron puestos en contacto con las hembras. Además, cuando estos machos fueron puestos en contacto con las hembras, mostraron un mayor número de inspecciones nasales, aproximaciones, intentos de montas y montas que los machos Controles, al menos durante los primeros 5 días de contacto. Posteriormente, la presencia de hembras en estro pudo facilitar entonces algún reforzamiento en la estimulación entre los machos y las hembras (Walkden-Brown *et al.*, 1993c), o una estimulación de hembra a hembra (Restall *et al.*, 1995; Zarco *et al.*, 1995). Así, es muy probable que la intensa actividad sexual mostrada por los machos DL+M fue, al menos en parte, responsable de la elevada respuesta observada en las hembras, mientras que el comportamiento sexual emitido por los machos Control no fue suficiente para inducir una respuesta en las hembras que estuvieron en contacto con ellos. Esto es consistente con varios estudios realizados en cabras y ovejas que indican que el comportamiento de los machos puede ser suficiente para inducir actividad sexual en las hembras (Chemineau *et al.*, 1986; Perkins y Fitzgerald, 1994; Signoret, 1988). Al respecto, Perkins y Fitzgerald (1994) demostraron en un estudio realizado en ovinos que los machos que mostraban una intensa libido eran más efectivos para inducir actividad sexual en las hembras que los carneros con libido baja.

En este estudio, es probable que otros factores como la emisión de feromonas o vocalizaciones por parte de los machos también pudo influir en la respuesta de las hembras. Sin embargo, no fue posible distinguir entre el efecto del comportamiento sexual y el de la emisión de feromonas por parte de los machos. Está bien demostrado que las señales olfatorias

estimulan la actividad sexual en hembras anovulatorias (Shelton, 1980; Claus *et al.*, 1990). Sin embargo, son necesarios otros estudios para determinar la importancia de la actividad sexual, emisión de feromonas y vocalizaciones que causaron las diferencias en las respuestas entre las hembras de los dos grupos.

Por otro lado, en este estudio, el 65 % de las hembras que estuvieron en contacto con los machos DL+M mostraron un ciclo ovárico corto después de la primera ovulación. Esto es similar a estudios realizados anteriormente, en los cuales se observó una alta incidencia de fases luteales cortas debido a una baja y transitoria secreción de progesterona por el cuerpo lúteo (Thimonier *et al.*, 1983). La presencia de estos ciclos ovulatorios cortos es común en cabras al inicio de la estación reproductiva (Camp *et al.*, 1983; Claus *et al.*, 1985) y después de la introducción de un macho en un grupo de hembras anovulatorias (Chemineau, 1983; Claus *et al.*, 1990; Walkden-Brown *et al.*, 1993a).

En el grupo de hembras que respondieron a la presencia de los machos, más hembras acompañaron con estro a la segunda que a la primera ovulación. Esto es también consistente con reportes previos que muestran que un mayor número de hembras presentan comportamiento de estro en la segunda ovulación (Chemineau, 1987). En nuestro estudio, la tasa de concepción en el primer estro inducido por los machos, fue más baja que en el segundo estro (10% vs 95 %, respectivamente). Esta tasa de concepción baja es similar a lo reportado por Thimonier *et al.* (1983) en ovejas y probablemente es debido a un inapropiado balance hormonal que usualmente sigue a la primera ovulación inducida. Esa formación inadecuada del cuerpo lúteo probablemente no permita el establecimiento de la gestación, mientras que el



establecimiento de una función ovárica normal después de la segunda ovulación permite una tasa de concepción equivalente a la obtenida durante la estación natural de reproducción.

En este estudio se demostró que el efecto macho es un método efectivo para inducir actividad sexual sincronizada durante la estación de anestro, pero únicamente cuando se utilizan para ello machos sexualmente activos. Además, el fracaso del efecto macho durante el anestro en cabras, al menos en estas latitudes subtropicales, no es debido a la existencia de completa insensibilidad de la hembra a la estimulación del macho. Al parecer, la estimulación por parte del macho en esa época del año se encuentra disminuida. Es probable que eso sea aún más marcado en latitudes mayores y con razas de cabras que exhiben una mayor estacionalidad reproductiva y/o un potencial lechero más alto, sin embargo es necesario hacer estudios adicionales al respecto.

En la segunda fase experimental se demostró que la exposición de los machos cabríos a días largos únicamente permite inducir actividad sexual de los machos durante la primavera. Además abre nuevas perspectivas para la preparación de machos sin la utilización de melatonina exógena.

En el grupo Control, los machos mostraron un incremento progresivo del peso testicular para alcanzar sus niveles máximos a finales de mayo e inicio de junio, meses en los cuales inicia de manera natural, la actividad sexual en esta raza (Delgadillo *et al.*, 1999). Por otro lado, las concentraciones plasmáticas de testosterona se mantuvieron sin cambio significativo durante los primeros 4 meses del estudio. Sin embargo, a partir de la segunda quincena de marzo las concentraciones de esta hormona se incrementaron significativamente

manteniéndose elevadas por el resto del estudio. Ese incremento de las concentraciones de testosterona difiere de lo reportado por Delgadillo *et al.* (1999) en machos de la misma raza, pero en una latitud mayor (26°N). Estos autores encontraron que las concentraciones de testosterona de esos machos se incrementaron a partir de mayo, es decir 2 meses después de los encontrado en este estudio. Esa diferencia entre los dos estudios se debió, probablemente, a que los machos de nuestro estudio percibieron menores variaciones del fotoperíodo al ser mantenidos en una latitud menor que los machos del estudio antes mencionado, y por ello iniciaron antes su actividad sexual. Al respecto, desde hace tiempo se demostró en ovejas (Thwaites, 1965; Williams, 1974) y cabras (Gonzalez-Stagnaro, 1974; Sutherland, 1988; Chemineau *et al.*, 1992a), que los animales originarios de regiones templadas que son sometidos a un fotoperíodo tropical, continúan mostrando variaciones estacionales de la actividad sexual. Sin embargo, esas variaciones son menos marcadas y los animales por lo general inician su actividad sexual antes que los animales mantenidos en un fotoperíodo templado, donde las variaciones del fotoperíodo son mayores.

Por el contrario, los machos tratados con días largos y melatonina, iniciaron su crecimiento testicular a partir de febrero hasta alcanzar sus niveles máximos el 15 de marzo. Al igual que el peso testicular, las concentraciones plasmáticas de testosterona se incrementaron a partir de la última semana de febrero para alcanzar sus niveles más altos en marzo. Sin embargo, el peso testicular, así como las concentraciones de testosterona disminuyeron rápidamente hasta llegar a sus niveles mínimos en el mes de mayo. Lo anterior confirma lo reportado por Carrillo *et al.* (1996, 1997), en machos sometidos a un tratamiento similar, en el cual se demostró que los machos expuestos a 2.5 meses de días largos seguidos de la aplicación de melatonina, manifiestan una activación de su fisiología reproductiva. Sin

embargo, este periodo actividad sexual se mantiene por aproximadamente 2 meses y después de este tiempo los machos regresan a su estado de reposo sexual (Carrillo *et al.*, 1996; 1997).

En el grupo DL, el peso testicular se incrementó a partir de febrero y alcanzó sus valores máximos, al igual que en grupo DL+M, el 15 de marzo. Sin embargo, esta variable se mantuvo elevada hasta el final del estudio. De manera similar, las concentraciones de testosterona se incrementaron a partir de marzo y se mantuvieron en niveles de entre 10 y 15 ng/ml durante el resto del estudio. Es muy probable que en los machos del grupo DL después de estar percibiendo durante aproximadamente 3-4 meses de días largos, llegó un momento en el cual se hicieron insensibles a ese fotoperíodo que normalmente era inhibitorio e iniciaron su actividad sexual. Esa interpretación es apoyada por los resultados encontrados por Almeida y Lincoln (1984) en carneros de la raza Soay. Estos autores encontraron que después de percibir días largos durante aproximadamente 4 meses, los machos se hicieron refractarios e iniciaron un incremento en las concentraciones de testosterona, así como un aumento en el volumen testicular. Las concentraciones de testosterona y el peso testicular se mantuvieron elevados durante aproximadamente 28 semanas, al final de las cuales la actividad sexual de los machos terminó. El desarrollo de esta refractariedad ha sido demostrada en ovinos y al parecer es la expresión de un ritmo endógeno de reproducción, el cual es observado cuando los animales son expuestos a días largos o días cortos constantes durante varios años (Karsch *et al.*, 1984; Maploux *et al.*, 1989). Los animales tratados de esta manera continúan mostrando periodos alternos de reposo y de actividad sexual (Ducker *et al.*, 1973; Howles *et al.*, 1982; Karsch *et al.*, 1989). Este fenómeno de refractariedad no es inducido únicamente por fotoperíodos artificiales, sino que es de gran importancia fisiológica en condiciones naturales. Por ejemplo, está demostrado que el desarrollo de la refractariedad causa la transición entre la época

reproductiva y la del anestro estacional en ovejas, debido a una pérdida de respuesta a los efectos inhibitorios de los días largos de primavera y verano (Robinson y Karsch, 1984; Malpaux *et al.*, 1989).

Por otro lado, las concentraciones plasmáticas de testosterona en el grupo DL no se incrementaron mucho, lo cual probablemente evitó que la testosterona actuara por retroalimentación negativa sobre la LH y esto explicaría por qué la testosterona y del peso testicular se mantuvieron elevados hasta el final del estudio. Resultados similares fueron encontrados por Pelletier y Almeida, (1987), así como por Delgadillo y Chemineau, (1992) en machos ovinos y caprinos, respectivamente. En ambos estudios, se sometieron los machos a 1 mes de días largos alternados con un mes de días cortos. En los dos casos el cambio rápido de días largos a días cortos no estimuló fuertemente las concentraciones de testosterona evitando que esta actuara por retroalimentación negativa sobre la LH, lo cual permitió que los machos mantuvieran una actividad sexual durante 3 años (Pelletier y Almeida, 1987; Delgadillo y Chemineau, 1992).

El presente trabajo incluyó un estudio de las concentraciones plasmáticas de prolactina durante la exposición de los machos a los diferentes tratamientos. A pesar de que esta hormona que no está directamente relacionada con la reproducción, si es un buen indicador de cómo los animales perciben la duración del día (Malpaux *et al.*, 1993). En los tres grupos y de manera general, las concentraciones plasmáticas de prolactina reflejaron el fotoperíodo natural o artificial que prevalecía en ese momento. Así, en el grupo Control las concentraciones de prolactina disminuyeron durante los meses de diciembre y enero, lo cual coincidió con los días más cortos del año. Posteriormente, a partir del mes de febrero, las concentraciones de

prolactina en este grupo se incrementaron paulatinamente hasta alcanzar sus niveles más altos en el mes de mayo, coincidiendo en esta ocasión con los días más largos del año. Lo anterior es congruente con numerosos estudios realizados tanto en ovinos como en caprinos, en los cuales se demostró que las concentraciones más altas de prolactina son registradas durante los días largos de verano, mientras que los niveles más bajos son registrados durante los días cortos de invierno (Pelletier, 1973; Buttle *et al.*, 1974; Muduuli *et al.*, 1979; Jackson y Jansen, 1991; Curlewis, 1992). De igual manera, se registran cambios en la secreción de prolactina cuando los animales son sometidos a fotoperíodos artificiales que simulan días cortos o largos (Forbes *et al.*, 1975; Lincoln y Short, 1980) o bien a un tratamiento con melatonina (Chemineau *et al.*, 1992b).

En el grupo DL+M, la prolactina se mantuvo en concentraciones elevadas durante los primeros 2.5 meses del estudio, tiempo en el cual los machos de este grupo estuvieron expuestos a días largos artificiales. A partir del 15 de enero, fecha en la cual los machos fueron tratados con melatonina, la concentración de prolactina disminuyó drásticamente. Lo anterior es congruente con algunos estudios en los cuales se ha demostrado que durante los días cortos naturales o bien durante un tratamiento con melatonina, las concentraciones plasmáticas de esta hormona son bajas (Forbes *et al.*, 1975; Lincoln *et al.*, 1978; Delgadillo y Chemineau, 1992). Posteriormente, a partir de la última semana de marzo, las concentraciones de prolactina en este grupo se incrementaron nuevamente, debido a que la melatonina secretada por los implantes fue insuficiente para seguir simulando días cortos. Existen reportes que indican que la duración en la secreción del implante de melatonina es de 10 semanas (Staples *et al.*, 1991). En cuanto al grupo tratado únicamente con días largos, las concentraciones de prolactina se mantuvieron casi sin cambio durante todo el estudio, lo cual

podría esperarse debido a que los machos de este grupo estuvieron expuestos a días largos durante todo el estudio.

En cuanto al compartimento sexual de los machos cuando estos fueron expuestos a hembras no receptivas, los machos de los grupos DL+M y DL mostraron un mayor número de inspecciones nasales y aproximaciones que los machos Control. Sin embargo, no se registraron diferencias significativas entre los grupos en las demás conductas como son las montas con penetración y eyaculación. Lo anterior se debió a que las hembras utilizadas en esta prueba no estaban receptivas y por lo tanto no permitieron ser montadas por los machos.

En cambio, cuando las pruebas se realizaron con hembras inducidas artificialmente al estro, en los tres grupos se incrementó significativamente el número de conductas realizadas con respecto a la prueba anterior. En esta ocasión, los machos de los grupos DL+M y DL realizaron además de las conductas de inspecciones nasales y aproximaciones, un mayor número de montas con eyaculación que los machos del grupo Control. Lo anterior demuestra que los machos DL+M y DL estaban sexualmente más motivados y tenían además una mayor capacidad consumatoria que los machos Control. Sin embargo, en las dos pruebas el grupo DL fue claramente superior al grupo DL+M. Esa diferencia entre los dos grupos se debió, probablemente, a que en la fecha cuando se realizaron las pruebas, la actividad sexual de los machos DL+M ya estaba disminuyendo, mientras que en los machos DL la actividad sexual se mantuvo hasta el final del estudio. Lo anterior es confirmado también por las concentraciones de testosterona y el peso testicular de los machos de ese grupo, los cuales disminuyeron en esas fechas.

Los resultados anteriores demuestran que los machos de estos dos grupos estaban sexualmente activos al momento de realizar las pruebas debido a que independientemente que dichas hembras no estuvieran receptivas en la primer prueba, los machos de los grupos DL+M y DL mostraron una mayor motivación sexual y realizaron un mayor número de inspecciones nasales y aproximaciones que los machos del grupo Control. Estas dos conductas de búsqueda de la pareja (inspecciones nasales) y de cortejo (aproximaciones) son de gran importancia para la estimulación de las hembras cuando se realiza un efecto macho.

La obtención de machos sexualmente activos durante la primavera tiene excelentes ventajas para la producción animal. En primer lugar, los machos sexualmente activos pueden ser utilizados para inducir el efecto macho en cabras anovulatorias, ya que como se demostró en la fase experimental I, el factor limitante para realizar exitosamente el efecto macho durante el anestro, es la disminuida capacidad inductora del macho para estimular a las hembras. Además, los resultados anteriores demuestran que sometiendo los machos a días largos a partir de noviembre, resulta muy efectivo e incluso superior al tratamiento de días largos y melatonina para inducir actividad sexual en los machos cabríos durante el periodo de inactividad sexual. Este tratamiento tiene la ventaja adicional de que el periodo de actividad sexual de los machos se mantiene por más tiempo, lo cual le confiere una mayor flexibilidad para ser utilizado en el efecto macho. Por otro lado, este método puede ser fácilmente utilizado en zonas o países donde la asistencia técnica es limitada, además de la dificultad para adquirir la melatonina.

# CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS



## CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

1). En la primer fase experimental se demostró que la ausencia de respuesta al efecto macho durante el anestro no es causada por una completa incapacidad de las hembras para responder al estímulo del macho. Al parecer, la capacidad de estimulación por parte del macho a esa estación del año se encuentra disminuida.

2). Además, se demostró que el efecto macho es un método efectivo para inducir una actividad sexual sincronizada durante la estación de anestro, pero únicamente cuando se utilizan para ello machos sexualmente activos, lo cual se puede lograr mediante un tratamiento con días largos y melatonina.

3). No podemos descartar la participación de factores como la emisión de feromonas o vocalizaciones por parte de los machos en la inducción de la respuesta de las hembras, que pudiesen participar junto con el comportamiento sexual por parte de los machos. Para ello, son necesarios otros estudios para determinar la importancia relativa de la actividad sexual, la emisión de feromonas y de las vocalizaciones que en este estudio causaron las diferencias de respuesta entre las hembras de los dos grupos.

4). La tasa de concepción observada mediante la inducción de las hembras con machos tratados con luz y melatonina fue similar a la obtenida durante el periodo natural de reproducción, con la ventaja adicional de que mediante el efecto macho las hembras están reproductivamente sincronizadas.

5). En la segunda fase experimental se demostró que el tratamiento con días largos únicamente, es un método tan efectivo como el tratamiento en el cual se utilizan días largos y melatonina, para inducir actividad sexual en los machos cabríos Criollos durante el periodo de inactividad sexual.

6). Además, con este último método se cuenta con la ventaja de que el periodo de actividad sexual se prolonga por más tiempo que en los machos tratados con luz y melatonina. Asimismo, los machos tratados con días largos únicamente manifiestan una intensa actividad sexual, similar a la observada en los machos tratados con luz y melatonina.

7). Finalmente, desde el punto de vista pecuario, la obtención de machos sexualmente activos durante el periodo normal de reposo sexual presenta como vía interesante para inducir actividad sexual en hembras anovulatorias, que como se demostró en el primer estudio, únicamente responden en esa época del año cuando los machos introducidos están sexualmente activos.

## REFERENCIAS

## REFERENCIAS

- Advis, J.P., Kulgis, R.O., Dey, G.S. 1985. Distribution of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) content and total LHRH-degrading activity (LHRH-DA) in the hypothalamus of the ewe. *Endocrinology*. 116:2410-2418.
- Alvarez, R. L., Ducoing, W.A., Zarco, Q.L., Trujillo, G.A. 1999. Conducta estral, concentraciones de LH y función lútea en cabras en anestro estacional inducidas a ciclar mediante el contacto con cabras en estro. *Vet. Mex.* 30(1):25-31.
- Alberio, R. 1976. Rôle de la photopériode dans le développement de la fonction de reproduction chez l'agneau Ile-de-France de la naissance à 21 mois. Thèse Doctorat 3ème cycle. Université Paris, France. VI:57.
- Almeida, O.F.X., Lincoln, G.A. 1984. Reproductive photorefractoriness in ram and accompanying changes in the patterns of melatonin and prolactin secretion. *Biol. Reprod.* 30:143-158.
- Almeida, G. Pelletier, J. 1988. Abolition of seasonal testis changes in the Ile-de-France ram by short light cycles. Relationships with the LH and testosterone releases. *Theriogenology*. 24:681-685.
- Anderson, J. 1964. Reproduction in imported British breeds of sheep on a tropical plateau. 5th. *Int. Cong. Anim. Artif. Insem.* 5:465-469.
- Arendt, J. 1986. Role of the pineal gland and melatonin in seasonal reproductive functions in mammals. *Oxford. Rev. Reprod. Biol.* 8:266-320.
- Arendt, J. 1995. Melatonin and the mammalian pineal gland. Champan (Eds), London. 317 p.
- Arendt, J. 1998. Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. *Rev. Reprod.* 3:13-22.
- Arendt, J., Symons, A.M., Laud, C.A. 1981. Pineal function in the sheep: evidence for a possible mechanism mediating seasonal reproductive activity. *Experientia*, 37: 584-590.
- Arendt, J., Symons, A.M., Laud, C.A. 1983. Melatonin can induce the early onset of the breeding season in ewes. *J. Endocrinol.* 97:395-400.
- Bittman E.L., Karsch F.J. 1984. Nightly duration of pineal melatonin secretion determines the reproductive response to inhibitory day lengths in the ewe. *Biol. Reprod.* 30: 385-593.
- Billings, H.J., Katz, L.S. 1997. Progesterona facilitation and inhibition of estradiol-induced sexual behavior in the female goat. *Horm. Behav.* 31:47-53.
- Bittman, E.L. Weaver, D.R. 1990. The distribution of melatonin binding sites in neuroendocrine tissues of the ewe. *Biol. Reprod.* 43:986-993.

- Bittman E.L., Dampsey, R.J., Karsch F.J. 1983. Pineal melatonin secretion drives the reproductive response to daylength in the ewe. *Endocrinology*. 113:2276-2283.
- Bittman, E.L., Kaynard, A.H., Olster, D.H., Robinson, J.E., Yellon, S.M. 1985. Pineal melatonin mediates photoperiodic control of pulsatile luteinizing hormone secretion in the ewe. *Neuroendocrinology*. 40:409-418.
- Boissin, J. Jallageas, M., Assenmacher, I. Cycle annuel du fonctionnement testiculaire des oiseaux et des mammifères. Dans *Rythmes et Reproduction*. Ed. Masson, Paris. 141-155.
- Bronson, F.H., Heideman. P.D. 1994. Seasonal Regulation of Reproduction in Mammals. In: *The Physiology of Reproduction*. Ed. E. Knobil and J.D.Neill. 2th. Edition. Raven Press. New York. 541-583.
- Buttle, H.L. 1974. Seasonal variation of prolactin in plasma of male goats. *J. Reprod. Fertil.* 37:95-99.
- Caldani, M., Batallier, M., Thiéry, J.C., Dubois, M.P. 1988. LH-RH immunoreactive structures in the sheep brain. *Histochemistry*. 89:129-139.
- Cameron, A.W.N., Batt, P.A. 1989. The effect of continuous or sudden introduction of bucks on the onset of the breeding season in female goats. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.* 21:109 (Abstr).
- Camp, J.C., Wildt, D.E., Howard, P.K., Stuart, L.D., Chakraborty, P.K. 1983. Ovarian activity during normal and abnormal length estrus in the goat. *Biol. Reprod.* 28:673-681.
- Carrillo, E., Morán, J., Malpaux, B., Delgadillo, J.A. 1996. Inducción de la actividad sexual en los machos cabríos Criollos de la Comarca Lagunera durante el periodo de reposo sexual mediante la utilización de luz artificial y melatonina. En: *Memorias de XI la Reunión Nacional sobre Caprinocultura*, 16-18 de octubre. Chapingo Edo. de México, México. 53-59.
- Carrillo, E., Malpaux, B., Delgadillo, J.A. 1999. Estimulación de la secreción de la LH en los machos cabríos tratados con luz y melatonina durante el periodo de reposo sexual. En: *Memorias de la XIV Reunión Nacional sobre Caprinocultura*, 6, 7 y 8 de septiembre. Chapingo Edo. de México, México. 141-146.
- Carrillo, E., Morán, J., Yescas, C.A., Malpaux, B., Delgadillo, J.A. 1997. Mejoramiento de la calidad espermática de los machos cabríos Criollos de la Comarca Lagunera tratados con luz y melatonina durante el periodo de reposo sexual. En *Memorias de la XII Reunión Nacional sobre Caprinocultura*, 4-6 de noviembre. Torreón, Coahuila, México. 159-162.
- Cerna, C., Porras, A., Valencia, M.J., Perera, G., Zarco, L. 2000. Effect of an inverse subtropical 19° N photoperiod on ovarian activity, melatonin and prolactin secretion in Pelibuey ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 511-525.

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

Chemineau, P. 1983. Effect on oestrus and ovulation of exposing Creole goats to the male at three times of the year. *J. Reprod. Fertil.* 67:65-72.

Chemineau, P. 1986. Sexual behaviour and gonadal activity during the year in the tropical Creole meat goat. I. Female oestrous behaviour and ovarian activity. *Reprod. Nutr. Dev.* 26(2A):441-452.

Chemineau, P. 1987. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrus cycles in anovulatory goats. A Review. *Livest. Prod. Sci.* 17, 135-147.

Chemineau, P. 1993. Reproducción de las cabras originarias de las zonas tropicales. *Rev. Latamer. Peq. Ruminantes.* 1 (1): 2-14.

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

Chemineau, P., Levy, F., Thimonier, J. 1986b. Effects of anosmia on LH secretion, ovulation and oestrus behaviour induced by males in the anovulatory Creole goat. *Anim. Reprod. Sci.* 10: 125-132.

Chemineau, P., G. B. Martin., J. Saumande and E. Normant. 1988. Seasonal and hormonal control of pulsatile LH secretion in the dairy goat (*Capra hircus*). *J. Reprod. Fertil.* 83:91-98.

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

Chemineau, P., Malpoux, B., Delgadillo, J.A., Guerin, Y., Revault, J.P., Thimonier, J., Pelletier, J. 1992b. Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. *Anim. Reprod. Sci.* 30: 157-184.

Claus, R., Over, R., Dehnhard M. 1990. Effect of male odour on LH secretion and the induction of ovulation in seasonally anoestrous goats. *Anim. Reprod. Sci.* 22:27-38.

Claus, R., Schopper, D., Thume, O. 1985. Evidence for different types of seasonal anoestrus in the dairy goat as revealed by progesterone determination in milk fat. *Livest. Prod. Sci.* 13:71-77.

Cohen-Tannoudji, J., Locatelli, A., Signoret J.P. 1986. Non-pheromonal stimulation by the male on LH release in the anoestrous ewe. *Physiol. Behav.* 36:921-924.

Cohen-Tannoudji, J., Signoret, J.P. 1987. Effect of short exposure to the ram on later reactivity of anoestrous ewes to the male effect. *Anim. Reprod. Sci.* 13: 263-268.

Cohen-Tannoudji, J., Lavenet, C., Locatelli, A., Tillet, Y., Signoret, J.P. 1989. Non-involvement of the accessory olfactory system in the response of anoestrous ewes to male odour. *J. Reprod. Fertil.* 86(1):135-144.

Curlewis, J.D. 1992. Seasonal prolactin secretion and its role in seasonal reproduction. A Review. *J. Reprod. Fertil. Dev.* 4:1-23.

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

Cushwa, W.T., Bradford, G.E., Stabendeldt, G.H., Berger, Y.M., Dally, M.R. 1992. Ram influence on ovarian and sexual activity in anoestrous ewes; effects of isolation of ewes before joining and date of ram introduction. *J. Anim. Sci.* 70:1195-1200.

D'Occhio, M.J., Schanbacher, B.D., Kinder, J.E. 1982. Relationship between serum testosterone concentration and patterns of luteinizing hormone secretion in male sheep. *Endocrinology.* 110:1547-1554.

D'Occhio, M. J., Schanbacher, B.D., Kinder, J.E. 1984. Profiles of luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, testosterone and prolactin in rams of diverse breeds: effects of contrasting short (8L-16D) and long (16L-8D) photoperiods. *Biol. Reprod.* 30:1039-1054.

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

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

Delgadillo, J.A., Chemineau, P. 1992. Abolition of seasonal release of luteinizing hormone and testosterone in Alpine male goats (*Capra hircus*) by short photoperiodic cycles. *J. Reprod. Fertil.* 94: 45-55.

Delgadillo, J.A., Malpoux, B. 1996. Reproduction of Goats in the Tropics and Subtropics. VI Int. Conf. on Goats. May 5-11. Beijing, China. 2:785-793.

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

Delgadillo, J. A., Leboeuf, B., Chemineau, P. 1992. Abolition of seasonal variations in semen quality and maintenance of sperm fertilizing ability by photoperiodic cycles in goats bucks. *Small. Rumin. Res.* 9: 47-59.

- Delgadillo, J.A., Canedo, G.A., Espitia, O.H., Flores, M.J., Hernández, H., Flores, J.A. 1997. La estacionalidad del peso testicular de los machos cabríos Criollos de la Comarca Lagunera no es modificada por el sistema de explotación. En: Memorias de la XII Reunión Nacional sobre Caprinocultura, 4-6 de noviembre. Torreón, Coahuila, México. 153-157.
- Delgadillo, J.A., Canedo, G.A., Chemineau, P., Guillaume, D., Malpoux, B. 1999. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male Creole goats in subtropical Northern Mexico. *Theriogenology*. 52:727-737.
- Delgadillo, J.A., Cortes-López, M.E., Duarte, G., Malpoux, B. 2000. El fotoperiodo modifica la actividad sexual de los machos cabríos Criollos del subtrópico Mexicano. En: Memorias del XLIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. 3 al 7 de septiembre. Cancún, Q.R. México. C191.
- Devenson, S.L., Forsyth, I.A., Arendt, J. 1992. Induced out of season breeding in British Saanen dairy goats: use of artificial photoperiods and/or melatonin administration. *Anim. Reprod. Sci.*, 29:1-15.
- Domanski, E., Przekop, F., Polkowska, J. 1980. Hypothalamic centres involved in the control of gonadotropins secretions. *J. Reprod. Fertil.* 58:493-499.
- Ducker, M.J., Bowman, J.C., Temple, A. 1973. The effect of constant photoperiod on the expression of oestrus in the ewe. *J. Reprod. Fertil (Suppl)*. 19:143-150.
- Duarte, M.G. 1999. Estacionalidad reproductiva y efecto del fotoperiodo sobre la actividad ovulatoria de las hembras caprinas de la Comarca Lagunera. Tesis Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. 77 p.
- Duarte, G., Flores J.A., Nava, M.P., Delgadillo, J.A. 1999. Is photoperiod involved in timing seasonal reproduction on goats adapted to a subtropical environment? In: Proc. 8<sup>th</sup> Meeting of the European Pineal Society; Tours, France. 31 (Abs).
- Dunbar, R.I.M., Buckland, D., Miller, D. 1990. Mating strategies of male feral goat: a problem in optimal foraging. *Anim. Behav.* 40: 643-667.
- Ebling, F.J.P., Lincoln, G.A., Wollnik, F., Anderson, N. 1988. Effects of constant darkness and constant light on circadian organization and reproductive response in the ram. *J. Biol. Rhythm.* 3:365-384.
- English, J., Poulton, J., Symons, A.M. 1986. A comparison of the efficiency of melatonin treatments in advancing oestrus in ewes. *J. Reprod. Fertil.* 77:321-327.
- Folch, J., Cognié, Y., Signoret, J.P. 1985. Use of the male effect por manipulation of the timing of onset and establishment of regular cycles and pregnancy in the ewe. 36th Annu. Meet. European Association for Animal Production. Kallithea-Kassandra-Halkindiki-Greece; 30 sept- oct., Summaries. Giahoudi Bros-Giapouli Bros. Vol. 2: 122-123.



- Forbes, J.M., Driver, P.M., El Shahat, A.A., Boaz, T.G., Scanes, C.G. 1975. The effect of daylength and level of feeding on serum prolactin in sheep. *J. Endocrinol.* 64:549-554.
- Fraser, S., Cowen, P., Franklin, M., Franey, C., Arendt, J. 1983. Direct radioimmunoassay for melatonin in plasma. *Clin. Chem.* 20:396-397.
- Fulkerson, W.J., Adams, N.R., Gherardi, P.B. 1981. Ability of castrate male sheep treated with oestrogen or testosterone to induce and detect oestrus in ewes. *Appl. Anim. Ethol.* 7:57-66.
- Gallegos-Sánchez, J., Picard, S., Delaleu, B., Malpoux, B., Thiéry, J.C. 1996. Initiation of the oestradiol-induced inhibition of pulsatile secretion in ewes under long days; comparison of peripheral versus central treatment and neurochemical correlates. *J. Endocrinol.* 151:19-28.
- Garnier, D.H., Cotta, Y., Terqui, M. 1978. Androgen Radioimmunoassay in the ram: results of direct plasma testosterone and dehydroepiandrosterone measurement and physiological evaluation. *Ann. Biol. Anim. Biophys.* 18: 265-281.
- Geist, V. 1965. On the rutting behavior on the mountain goat. *J. Mamm.* 45: 551-568.
- Gómez-Brunet, A., López-Sebastián, A., Picazo, R.A., Cabellos, B., Goddard, S. 1995. Reproductive response and LH secretion in ewes treated with melatonin implants and induced to ovulate with the ram effect. *Anim. Reprod. Sci.* 39:23-34.
- González-Stagnaro, C., García, O., Castillo, J. 1974. Actividad sexual estacional y fertilidad en cabras de razas puras de una zona tropical de Venezuela (Seasonal sexual activity and fertility in purebred goats in a tropical zone in Venezuela). *Ciencias veterinarias, Maracaibo.* IV, 4 : 233-248.
- González-Stagnaro, C. 1983. Comportamiento reproductivo de las razas locales de rumiantes en el trópico Americano. In *Reproduction des Ruminants en Zone Tropicale*. INRA Pub. Versailles. p. 1-80.
- González-Stagnaro, C., Madrid-Burney, N. 1982. Sexual season and estrous cycle of native goats in a tropical zone of Venezuela. *Proc. Third. Int. Conf. on Goat. Prod. and Disease*, 10-15 Jan, Tucson, Arizona, USA, 311.
- Goodman, R.L., Bittman, E.L. 1982. Alterations in the control of luteinizing hormone pulse frequency under the seasonal variation in estradiol negative feedback in the ewe. *Biol. Reprod.* 27:580-589.
- Goodman, R.L., Meyer, S.L. 1984. Effect of pentobarbital anesthesia on tonic luteinizing hormone secretion in the ewe. Evidence for active inhibition of luteinizing hormone in anoestrus. *Biol. Reprod.* 30:374-381.
- Hafez, E.S.E. 1952. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. *J. Agric. Sci. Camb.* 42:189-265.

- Hasting, M.H., Walker, A.P., Powers, J.B. 1989. Differential effects of photoperiodic history on the responses of gonadotrophins and prolactin to intermediate daylengths in the male Syrian hamster. *J. Biol. Rhythms*. 4:335-350.
- Hebert, J., Stacey, P.M., Thorpe, P.H. 1978. Recurrent breeding seasons in pinealectomized or optic-nerve-sectioned ferrets. *J. Endocrinol.* 78:389-397.
- Hirata, F., Hasyaishi, O., Tokuyama, T., Senoh, S. 1974. In vitro and in vivo formation of two new metabolites of melatonin. *J. Biol. Chemist.* 249:1311-1313.
- Hoffman, R.A., Reiter, R.J. 1965. Pineal gland: influence on gonads of male hamsters. *Science*. 148:1609-1611.
- Hoyos, G., Sáenz, P., Salinas, G. 1991. Desarrollo de módulos caprinos en la Región Lagunera. En: "Evaluación de módulos caprinos en la Comarca Lagunera ". INIFAP-CIID. Matamoros, Coahuila, México. p.1-11.
- Howles, C.M., Craington J., Haynes, N.B. 1982. Long term rhythms of testicular volume and plasma prolactin concentrations in rams reared for three years in constant photoperiod. *J. Reprod. Fertil.* 65:439-446.
- INEGI. 1986. Síntesis geográfica, nomenclator y anexo cartográfico del Estado de Querétaro. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México. pp143.
- Jackson, G.L., Jansen, H.T. 1991. Persistence of a circannual rhythm of plasma prolactin concentration in ewes exposed to a constant equatorial photoperiod. *Biol. Reprod.* 44:469-475.
- Kann, G. 1971. Dosage radioimmunologique de la prolactine plasmatique chez les ovins. *C. r. her. Séanc. Acad. Sci. Paris. D.* 272: 2808-2811.
- Kanematsu, N., Mori, Y., Hayashi, S., Hoshino, K. 1989. Presence of a distinct 24-hour melatonin rhythm in the ventricular cerebrospinal fluid of the goat. *J. Pineal. Res.* 7:143-152.
- Kappers, J.A. 1960. Inervation of the epiphyses cerebri in the albino rat. *Ant. Rec.* 136:220-221.
- Karsch, F.J., Bittman, E.L., Foster, D.L., Goodman, R.L., Legan, S.L., Robinson, J.E. 1984. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent. Prog. Horm. Res.* 40: 185-232.
- Karsch, F.J., Bittman, E.L., Robinson, J.E., Yellon, S.M., Wayne, N.L., Olster, D.H., Kaynard, A.H. 1986. Melatonin and photorefractoriness: loss of response to the melatonin signal leads to seasonal reproductive transitions in the ewe. *Biol. Reprod.* 34:265-274.
- Karsch, F.J., Robinson, J., Wooldfill, C.J.I., Brown, M.B. 1989. Circannual cycles of luteinizing hormone and prolactin secretion in ewes during a prolonged exposure to a fixed photoperiod: evidence for an endogenous reproductive rhythm. *Biol. Reprod.* 41:1034-1046.
- Kennaway, D.J., Seemark, R.F. 1980. Circulating levels of melatonin following its oral

administration or subcutaneous injection in sheep and goats. *Aust. J. Biol. Sci.* 33:349-353.

Keenaway, D.J., Gilmore, T.A., Seemark, R.F. 1982/1983. Effect of melatonin feeding on serum prolactin and gonadotrophin levels and the onset of seasonal oestrus cyclicity in sheep. *Endocrinology*. 110:1766-1772.

Keenaway, D.J., Gilmore, T.A., Dunstan, E.A. 1985. Pinealectomy delays puberty in ewes lambs. *J. Reprod. Fertil.* 74:119-125.

Klein, D.C. 1985. Photoneuronal regulation of the mammalian pineal gland. *CIBA Foundation Symposia*. 117:38-56.

Klein, D.C., Smoot, R., Weller, J.L., Higa, S., Markley, S.P., Creed, G.J., Jacobowitz, D.M. 1983. Lesions of the paraventricular nucleus area of the hypothalamus disrupt the suprachiasmatic to spinal cord circuit in the melatonin rhythm generating system. *Brain. Res.* 10:647-652.

Klein, D.C., Coon, S.L., Roseboom, P.H., Weller, J.L., Bernard, M., Gastel, J.A., Zatz, M., Luvone, P.M., Rodrigez, I.R., Begay, V., Falcon, J., Cahill, G., Cassone, V.M., Baler, R. 1997. The melatonin rhythms generating enzyme: molecular regulation of serotonin N-acetyltransferase in the pineal gland. *Recent. Prog. Horm. Res.* 52:307-357.

Knight, T. W. 1985. Are rams necessary for the stimulation of anoestrus ewes with oestrus ewes? *Proc. New. Zea. Soc. Anim. Prod.* 45:49-50.

Knight, T. W., Lynch, P.R. 1980. Source of ram pheromone that stimulates ovulation in the ewe. *Anim. Reprod. Sci.* 3:133-136.

Koprowski, J.A., Truke, H.A. 1973. Serum prolactin during various physiological states and its relationship to milk production in the bovine. *Endocrinology*. 92:1480-1487.

Le Corre, S., Chemineau, P. 1993. Control of photoperiodic inhibition of luteinizing hormone secretion by dopaminergic and serotonergic system in ovariectomized Ile-de-France ewes supplemented with oestradiol. *J. Reprod. Fertil.* 97 :367-373.

Legan, S. J., Karsch, F.J. 1980. Photoperiodic control of seasonal breeding in ewe: Modulation of the negative feedback action of estradiol. *Biol. Reprod.* 23:1061-1068.

Legan, S. J., Winans, S. S. 1981. Photoneuroendocrine control of seasonal breeding in the ewe. *Gen. Comp. Endocrinol.* 45:317-328.

Legan, S.J., Karsch, F.J. 1983. Importance of retinal photoreceptors to the photoperiodic control of seasonal breeding in the ewe. *Biol. Reprod.* 29:316-326.

Legan, S.J., Karsch, F.J., Foster, D.L. 1977. The endocrine control of seasonal reproductive function in the ewe: A marked change in response to the negative feedback action of estradiol on luteinizing hormone secretion. *Endocrinology*. 3:818-822.

- Llewelyn, C.A., Oga, J.S., Obwolo, M.J. 1993. Plasma progesterone profiles and variation in cyclic ovarian activity throughout the year in indigenous goats in Zimbabwe. *Anim. Reprod. Sci.* 30 :301-311.
- Lincoln, G.A. 1979. Photoperiodic control of seasonal breeding in the ram: participation of the cranial sympathetic nervous system. *J. Endocrinol.* 82:135-147.
- Lincoln, G.A., Short, R.V. 1980. Seasonal breeding: nature's contraceptive. *Recent. Prog. Horm. Res.* 36:1-52.
- Lincoln, G.A., Ebling, F.J.P. 1985. Effects of constant release implants of melatonin on seasonal cycles of reproduction, prolactin secretion and moulting in rams. *J. Reprod. Fertil.* 73:241-253.
- Lincoln, G.A., Wu, F.C.W. 1991. Luteinizing hormone responses to N-methyl-D, L-aspartate during a photoperiodically-induced reproductive cycle in the ram. *J. Neuroendocrinology.* 3:309-317.
- Lincoln, G.A., Maeda, K.L. 1992. Effects of placing micro-implants of melatonin in the mediobasal hypothalamus and preoptic area on the secretion of prolactin and  $\beta$ -endorphin in ewes. *J. Endocrinol.* 134:437-448.
- Lincoln, G.A., McNeilly, A.S., Cameron, C.L. 1978. The effects of a sudden decrease or increase in daylength on prolactin secretion in the ram. *J. Reprod. Fertil.* 52:305-311.
- Lincoln, G.A., Almeida, O.F.X., Klandorf, H., Cunningham, R.A. 1982. Hourly fluctuations in the blood levels of melatonin, prolactin, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, testosterone, triiodothyronine and cortisol in rams under artificial photoperiods and effects of cranial sympathectomy. *J. Endocrinol.* 92:237-250.
- Lindsay, D.R., Signoret, J.P. 1980. Influence of behaviour on reproduction. *Proc. 9<sup>th</sup>. Int. Cong. Anim. Reprod. Ins. Art.* 1:80-92, Madrid.
- Lindsay, D.R., Pelletier, J., Pisselet, C., Courot, M. 1984. Changes in photoperiod and nutrition and their effect on testicular growth of rams. *J. Reprod. Fertil.* 71:315-356.
- Llewelyn, C.A., Oga, J.S., Obwolo, M.J. 1993. Plasma progesterone profiles and variation in cyclic ovarian activity throughout the year in indigenous goats in Zimbabwe. *Anim. Reprod. Sci.* 30:301-311.
- Mahieu, M.O.K., Geyo, T., Driancourt, M.A., Chemineau, P. 1989. Reproductive performances of Creole and Black-Belly ewes in the West Indies. A new major gene controlling ovulation rate? *Anim. Reprod. Sci.* 19:235-243.
- Malpoux, B., Karsch, F.J. 1990. A role for short days in sustaining seasonal reproductive activity in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 9:555-562.

- Malpaux, B., Robinson, J.E., Wayne, Karsch, F.J. 1989. Regulation of the onset of the breeding season of the ewe: importance of long days and of an endogenous reproductive rhythm. *J. Endocrinol.* 122: 269-278.
- Malpaux, B., Chemineau, P., Pelletier, P. 1993. Melatonin and reproduction in sheep and goats. In *Melatonin: biosynthesis physiological effect and clinical applications*, Yu H. S., Reiter R. S. (Eds), Boca Raton, F.L. CRC Pres. 253-287.
- Malpaux, B., Skinner, D.C., Maurice, F. 1995. The ovine pars tuberalis does not appear to be targeted by melatonin to modulate luteinizing hormone secretion, but may be important for prolactin release. *J. Neuroendocrinol.* 7:199-206.
- Malpaux, B., Robinson, J.E., Brown, M.B., Karsch, F.J. 1987. Reproductive refractoriness of the ewe to inductive photoperiod is not caused by inappropriate secretion of melatonin. *Biol. Reprod.* 36:1333-1341.
- Malpaux, B., Moenter, S.M., Wayne, N.L., Woodfill, C.J.I., Karsch, F.J. 1988. Reproductive refractoriness of the ewe to inductive photoperiod is not caused by an alteration of the circadian secretion of melatonin. *Neuroendocrinology.* 48:264-270.
- Malpaux, B., Viguié, C., Skinner, D.C., Thiéry, J.C., Chemineau, P. 1997. Control of the circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. *Brain. Res. Bull.* 4:431-438.
- Malpaux, B., Daveau, A., Maurice-Mandon, F., Duarte, G., Chemineau, P. 1998. Evidence that melatonin acts in the premammillary hypothalamic area to control reproduction in the ewe: presence of binding sites and stimulation of luteinizing hormone secretion by in situ microimplant delivery. *Endocrinology.* 139 (4) 1508-16.
- Malpaux, B., Viguié, C., Skinner, D.C., Thiéry, J.C., Pelletier, J., Chemineau, P. 1996. Seasonal breeding in sheep: Mechanism of action of melatonin. *Anim. Reprod. Sci.* 42:109-117.
- Marchlewska-Koj, A. 1984. Pheromones and mammalian reproduction. *Oxford. Rev. Reprod. Biol.* 6:266-302.
- Marshall, F.H.A. 1937. On the change over in the estrus cycle in animals after transference across the equator, with further observations on the incidence of the breeding seasons and the factors controlling sexual periodicity. *Proc. Roy. Soc. Lond. B.* 122: 413-428.
- Martin, G.B. 1984. Factors affecting the secretion of luteinizing hormone in the ewe. *Biol. Rev.* 59:1-87.
- Martin, G.B., Scaramuzzi, R.J., 1983. The induction of oestrus and ovulation in seasonally anovular ewes by exposure to rams. *J. Steroid. Biochem.* 19:869-875.
- Martin, G.B., Scaramuzzi, R.J., Henstridge, D. 1983. Effects of oestradiol, progesterone and androstenedione on the pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized ewes during the autumn. *J. Endocrinol.* 96:181-193.

- Martin, G.B., Oldham, C.M., Cognié, Y., Pearce, D.T. 1986. The Physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams. A review. *Livest. Prod. Sci.* 15:219-247.
- Mauléon, P., Reugeot, J. 1962. Regulation des saisons sexuelles chez des brebis de races différents au moyen de divers rythmes lumineux. *Ann. Biol. Anim. Biochim.* 2:209- 222.
- Mc Taggart, H.S. 1971. Observations o the behaviour of an island Community of feral goats. *Brit. Vet. J.* 127:399-400.
- Mellado, M., Hernández, J.R. 1996. Ability of androgenised goat wethers and does to induce estrus in goats under extensive conditions during anestrus and breeding seasons. *Small. Rumin. Res.* 23:34-42.
- Meyer, S.L., Goodman, R.L. 1985. Neurotransmitters involved in mediating the steroid-dependent suppression to tonic luteinizing hormone secretion in the anoestrus ewe: effects of receptors antagonists. *Endocrinology.* 116:2054-2061.
- Meyer, S.L., Goodman, R.L. 1986. Separate neural systems mediate the steroid-dependent and steroid-independent suppression of tonic luteinizing hormone secretion in the anoestrus ewe. *Biol. Reprod.* 35:562-571.
- Montgomery, G. W., Martin, G. B., Pelletier, J. 1985. Changes in pulsatile LH secretion after ovariectomy in Ile-de-France ewes in two seasons. *J. Reprod. Fertil.* 73:173-183.
- Monter, S.M., Woodfill, C.J.I., Karsch, F.J., 1991. Role of the thyroid gland in seasonal reproduction: thyroidectomy blocks seasonal suppression of reproductive neuroendocrine activity in ewes. *Endocrinology.* 128:1337-1344.
- Morgan, P. D., Arnold, G.W., Lindsay, D.R. 1972. A note on the mating behaviour of ewes with various senses imparied. *J. Reprod. Fertil.* 30:151-152.
- Morgan, P.J., Williams, L.M., Davinson, G., Lawson, W., Howell, H. 1989. Melatonin receptors on ovine pars tuberalis: characterization and autoradiographical localitation. *J. Neuroendocrinol.* 1:1-4.
- Mori, Y., Tanaka, M., Maeda, K., Hoshino, K., Kano., Y. 1987. Photoperiodic modification of negative and positive feedback effects of oestradiol on LH secretion in ovariectomized goats. *J. Reprod. Fertil.* 80:523-529.
- Muduuli, D.S., Sanford, L.M., Palmer, W.M., Howland, B.E. 1979. Secretory patterns and circadian and seasonal changes in luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, prolactin and testosterone in the male pygmy goat. *J. Anim. Sci.* 49:543-553.
- Murtagh, J.J., Gray, S.J., Lindsay, D.R., Oldham, C.M. 1984. The influence of the male effect in 10-11 month-old Merino ewes on their subsequent performance when introduced to rams again at 15 months of age. *Anim. Prod. Aust.* 15: 490-493.

- Oldham, C.M., Adams, N.R., Gherardi, P.B., Linsay, D.R., and Mckintosch, J.B. 1978. The influence of level of feed intake on sperm producing capacity of testicular tissue in the ram. *Aust. J. Agric. Res.* 29:173-179.
- Ortavant, R., Mauléon, P., Thibault, T. 1964. Photoperiodic control of gonadal and hypophyseal activity in domestic mammals. *Ann. NY. Acad. Sci.* 11:157-193.
- Ortavant, R., Pelletier, J., Ravault, J.P., Thimonier, J., and Volland-Nail, P. 1985. Photoperiod: main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm mammals. *Oxford. Rev. Reprod. Biol.* 7:305-345.
- Parkinson, T.J., Follet, B.K., 1994. Effect of thyriodectomy upon seasonality in rams. *J. Reprod. Fertil.* 101:51-58.
- Pearce, G.P., Oldham, C.M. 1988. Importance of non-olfactory rams stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 84:333-339.
- Pelletier, J. 1973. Evidence for photoperiodic control of prolactin release in rams. *J. Reprod. Fertil.* 35:143-147.
- Pelletier, J., Ortavant., R. 1967. Influence du photopériodisme sur les activités sexuelle, hipophysarie et hypothalamique de bétail, Ile-de France, en la photoregulation de la reproduction chez les oiseaux et les mammifères. *Coll. Int. CNRS Montpellier VII*, 383-392.
- Pelletier, J., Ortavant, R. 1975. Photoperiodic control of LH release in the ram. I. Light-androgens interaction. *Acta. Endocr. Copenhagen* : 78:442-450.
- Pelletier, J., Almeida, G. 1987. Short light cycles induce persistent reproductive activity in Ile-de-France rams. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 34 :215-226.
- Perkins, A., Fitzgerald, J.A. 1994. The behavioral component of the ram effect: The influence of ram sexual behavior on the induction of estrus in anovulatory ewes. *J. Anim. Sci.* 72:51-55.
- Poindron, P., Cognié, Y., Gayerie, F., Orgeur, P., Oldham, C.M., Revault, J.P. 1980. Changes in gonadotrophins and prolactin levels in isolated (seasonally or lactationally) anovular ewes associated with ovulation caused by the introduction of rams. *Physiol. Behav.* 25:227-237.
- Poulton, A.L., English, J., Symons, A.M., Arendt, J. 1987. Changes in plasma concentrations of LH, FSH, and prolactin in ewes receiving melatonin and short-photoperiod treatments to induce early onset of breeding activity. *J. Endocrinol.* 112:103-111.
- Ravault, J.P., Ortavant, R. 1977. Light control of prolactin secretion in sheep. Evidence for photoinducible phase during a diurnal rhythm. *Ann. Bioch. Biophys.* 17:459-473.
- Ravault, J.P., Thimonier, J. 1988. Melatonin patters in ewes maintained under skeleton or resonance photoperiodic regimes. *Reprod. Nutr. Dev.* 28:473-482.

- Reiter, R.J. 1980. The pineal and its hormones in the control of reproduction in mammals. *Endoc. Rev.* 1:109-131.
- Restall, B.J. 1988. Artificial insemination of Australian goats stimulated by the buck effect. *Proc. Austr. Soc. Anim. Prod.* 17:302-305.
- Restall, B.J. 1992. Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats. *Anim. Reprod. Sci.* 27 :305-318.
- Restall, B.J., Walkden-Brown, S.W., Henniawati-Restall. 1991. Reproduction research in Australian goats. Cashmere Research Seminar, Ballina. May 23-24. Compyled by T. J. May. 49-69.
- Restall, B.J., Restall, H., Walkden-Brown, S.W. 1995. The induction of ovulation in anovulatory goats by oestrous females. *Anim. Reprod. Sci.* 40 :299-303.
- Robinson, J.E., Karsch, F.J. 1984. Refractoriness to inductive day lengths terminates the breeding season of the Suffolk ewe. *Biol. Reprod.* 31:656-663.
- Robinson, J.E., Karsch, F.J. 1987. Photoperiodic history and changing melatonin patten determine the neuroendocrine response of the ewe to the daylenth. *J. Reprod. Fertil.* 80:159-165.
- Robinson, J. E., H. M. Badford and F. J. Karsch. 1985. Seasonal changes in pulsatil luteinizing hormone (LH) secretion in the ewe: Relationship of frequency of LH pulses to day length and reponse to estradiol negative feedback. *Biol. Reprod.* 33:324-334.
- Rollag, M.D., Niswender, G.D. 1976. Radioimmunoassay of serum concentrations of melatonin in sheep exposed to different lighting regimens. *Endocrinology.* 98:482-489.
- Rollag, M.D., O'Callaghan, P.L., Niswender, G.D., 1978. Serum melatonin concentrations during different stages of the annual reproductive cycle in ewes. *Biol. Reprod.* 18:279-285.
- Romero-Paredes, J. 1998. Utilización de forrajes nativos del desierto en la alimentación de la cabras. En: XII Reunión Nacional sobre Caprinocultura. 21-23 de Octubre, San Luis Potosí, S.L.P. Mexico. 74-84.
- Rouger, Y. 1974. Etude des interactions de l'environnement et des hormones sexuales dans la régulation du comportement sexuel des bovidae. Thèse de doctorat d'2tat de l'université de Rennes.
- Sáenz-Escárcega, P., Hoyos, F.G.L., Salinas, G.H., Martínez, D.M., Espinoza, A.J., Guerrero, A.J., Contreras, J.E. 1991. Establecimiento de módulos caprinos con productores cooperantes. En "Evaluación de módulos caprinos en la Comarca Lagunera". INIFAP-CIID. Matamoros, Coahuila, México. pp. 24-34.



Sanford, L.M., Ponzilius, K.H. 1989. The pattern of LH release in the adult ram influences the testicular steroidogenic response to individual LH pulses and is regulated by testosterone negative feedback. *J. Androl.* 10:1-10.

Santa María, A., Cox, J.E., Muñoz, R., Rodríguez, Caldera, L. 1988. Estudio del ciclo sexual, estacionalidad reproductiva y control del estro en la cabra criolla en Chile. Concepción, Chillán, Chile. 363-383.

Scalia, F., Winans, S.S. 1976. In 'Mammalian Olfaction, Reproduction Processes, and Behavior', Editor Doty, R.L. Acad. Press. N. York. p.8.

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

Schanbacher, B.D. 1980. Testosterone regulation of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone secretion in young male lamb. *J. Anim. Sci.* 51:679-684.

Sharp, D.C., Vernon, M.W., Savy, M.T. 1979. Alteration of seasonal reproductive patterns in mares following superior cervical ganglionectomy. *J. Reprod. Fertil (Suppl).* 27:87-93.

Shaw, P.F., Kennaway, D.J., Seamark, R.F. 1989. Evidence of high concentrations of melatonin in lateral ventricular cerebrospinal fluid of sheep. *J. Pineal. Res.* 6:201-208.

Shelton, M. 1960. The influence of the presence of the male goat in the initiation of oestrus and ovulation Goats: Influence of Various Exteroceptive Factors on Initiation of oestrus cycling and ovulation in Angora does. *J. Anim. Sci.* 19:368-375.

Shelton, M. 1980. Goats: influence of various exteroceptive factors on initiation of oestrus and ovulation. *Int. Goat. Sheep. Res.* 1:156-162.

Shelton, M., Morrow, J.T. 1965. A study of the mechanisms of the male stimulation in Angora goats. *Tex. Agric. Exp. Stat. Prog. Report.* 23-40.

Signoret, J.P. 1980. Effect de la présence du mâle sur les mécanismes de reproduction de la femelle des mammifères. *Reprod. Nutr. Dev.* 20:1457-1468.

Signoret, J.P., Lindsay, D.P. 1982. The male effect in domestic mammals: effect on LH secretion and ovulation-importance of olfactory cues. In: *Olfaction and Endocrine Regulation*, Ed. W. Breiphtol. IRL Press, London. 63-70.

Signoret, J.P., Balthazart, J. 1993. Sexual behaviour In: *Reproduction in mammals and man*. Thibault C., Levasseur, M.C., Hunter, R.H (Eds). Ellipses Press, Paris. 532-552.

Signoret, J.P., Fulkerson, W.J., Lindsay, D.R. 1982. Effectiveness of testosterone treated wethers and ewes as teasers. *Appl. Anim. Ethol.* 9:37-45.

Silva, E., Galina, M.A., Palma, J.M., Valencia, J. 1998. Reproductive performance of Alpine dairy goats in an semi-arid environment of Mexico under a continuous breeding system. *Small.*

Rumin. Res. 27:79-84.

Simplicio, A. A., Nunes, J.R. 1986. Oestrus cycle and period evaluation in an indefinid breed type (SRD) for goats in Northeast Brazil. Proc. 3er International Conference on goats production and disease. Tucson, Arizona, U.S.A. p. 310 (abstr).

Staples. L.D., Mc Phee, S., Reeve, J., Williams, A.H. 1991. Practical applications for controlled release melatonin implants in sheep. Advances in pineal research: Andrew Foldes and Russel J. Reiter Eds. 199-208.

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

Sutherland, R.S.D. 1988. Seasonal breeding and oestrus in the female goats. PhD. Thesis, University of Western Australia, Perth. 116 p.

Sutherland, R.S.D., Jainudeen, M.R. 1987. Absence of seasonal breeding in the local goats of Malasysia. Proc. 4th. Anim. Sci. Congr. Asian-Australasian. Assoc. Anim. Prod. Sci. 4:259.

Swanson, L.H., Kuypers, H.G.J.M. 1980. The paraventricular nucleus of the hypothalamus: cytoarchitectonic subdivisions and organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex, and spinal cord as demonstrated by retrograde florescence double-labeling methods. *J. Comp. Neurol.* 194:550-570.

Terqui, M. Thimonier, J. 1974. Nouvelle méthode radioimmunologique rapide pour l'estimation du niveau de progestérone plasmatique. Application pour le diagnostic précoce de la gestation chez la brebis et chez la chèvre. *Cr. Herb. Séanc. Acad. Sci. Paris, D.* 279:1109-1112.

Thiéry, J.C. 1991. Monoamine content of the stalk-median eminence and hypothalamus in adult female sheep as affected by daylength. *J. Neuroendocrinol.* 3:407-411.

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

Thiéry, J.C., Martin, G.B., Tillet, Y., Caldani, M., Quentin, M., Jamain, C., Ravault, J.P., 1989. Role of hypothalamic catecholamines in the regulation of LH and prolactin secretion in the ewe during seasonal anoestrus. *Neuroendocrinology.* 49:80-87.

Thiéry, J.C., Gayrard, V., Le Corre, S., Viguié, C., Martin G.B, Chemineau, P., Malpoux, B. 1995. Dopaminergic control of LH secretion by the A15 nucleus in the anestrus ewe. *J. Reprod. Fertil (Supp)* 49:285-296.

Thimonier, J. 1989. Contrôle photopériodique de l'activité ovulatoire chez la brebis. Existence de rythmes endogènes. Th. Doct. Sci. Vie, Tours. 112.

Thimonier, J., Mauléon, P. 1969. Variations saisonnières du comportement d'oestrus et des activités ovarienne et hypophysaire chez les ovins. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* 9:233-250.

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

Thimonier, J., Chemineau, P., Gauthier, D. 1983. Augmenter la fertilité des ruminants en zone tropicale: une réalité. Réunion Intern. Reproduction des Ruminants en zone tropicale (10-12 juin), Pointe-à-Pitre (Guadeloupe, F.W.I). Colloques del I.N.R.A., No. 20: 399-418.

Thorpe, P.A., Hebert, J. 1976. Studies on the duration of the breeding season and photorefractoriness in female ferrets pinealectomized or treated with melatonin. *J. Endocrinol* 70:255-262.

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

Tillet, Y., Ravault, J.P., Selve, C., Eving, G., Castro, B., Dubois, M.P. 1986. Conditions d'utilisation d'anticorps spécifiques pour la visualisation immuno histo chimique de la sérotonine et de la melatonine dans la gland pineale du mouton. July Sealed. *SCI. Paris. III*, 303: 77-82.

Turek, F.W., Campbell, C.S. 1979. Photoperiodic regulation of neuroendocrine gonadal activity. *Biol. Reprod.* 20:32-50.

Underwood, E.J., Shier, F.L. and Davenport, N. 1944. Studies in Sheep husbandry in Western Australia. V. The Breeding season of Merino Crossbred and British Breed ewes in the Agricultural districts. *J. Dep. Agric. West. Aust.* 11 (2):135-143.

Valencia, J., Zarco, L., Ducoing, A. 1990. Breeding season of Criollo and Granadina goats under constant nutritional level in the Mexican highlands. In : *Livestock Reproduction in Latin America*. Vienna, Austria : Int. Atom. Ene. Agency, FAO. 321-333.

Van Camp, G., Ravault, J.P., Falcon, J., Collin, J.P., Voisin, P. 1991. Regulation of melatonin release and N-acetyltransferase activity in ovine pineal cells. *J. Neuroendocrinol.* 3:477-481.

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

Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Henniawati, R. 1993a. The male effect in Australian cashmere goats 1. Ovarian and behavioural response of seasonally anovulatory does following the introduction of bucks. *Anim. Reprod. Sci.* 32:41-53.

Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Henniawati, R. 1993b. The male effect in Australian Cashmere goats 2. Role of olfactory cues from the male. *Anim. Reprod. Sci.* 32:55-67.

- Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Henniawati, R. 1993c. The male effect in the Australian Cashmere goat. 3. Enhancement whit buck nutrition and use of oestrus females. *Anim. Reprod. Sci.* 32: 69-84.
- Walkden-Brown, S.W., Restall, B.J., Norton, B.W., Scaramuzzi, R.J., Martin, G.B. 1994. Effect of nutrition on seasonal patterns of LH, FSH and concentration, testicular mass, sebaceous gland volume and odour in Australian cashmere goats. *J. Reprod. Fertil* 102:351-360.
- Walton, J.S., McNeilly, J.R., McNeilly, A.S., Cunningham, F.J. 1977. Changes in concentrations of follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin and progesteron in the plasma of ewes during the transition from anoestrus to breeding activity. *J. Endocrinol.* 75:127-136.
- Watson, R.H., Radford, H.M. 1960. The influence of rams on the onset of oestrus in Merino ewes in the spring. *Austr. J. Agric. Res.* 11:67-71.
- Wayne, N.L., Malpaux, B., Karsch, F.J. 1989. Social cues can play a role in timing onset of the breeding season of the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 87:707-713.
- Wayne, N.L., Malpaux, B., Karsch, F.J. 1990. Photoperiodic requirements for timing onset and duration of the breeding season of the ewe: Synchronization of an endogenous rhythm of reproduction. *J. Comp. Physiol.* 166:835-842.
- Webster, G.M., Haresing, W. 1983. Seasonal changes in LH on prolactin concentrations in ewes of two breeds. *J. Reprod. Fertil.* 67:465-471.
- Webster, R.J., Moenter, S.M., Woodfill, C.J.I., Karsch, F.J. 1991. Role of the thyroid gland in seasonal reproduction. II. Thiroxine allows a season-specific supression of gonadotrophin in secretion in sheep. *Endocrinology.* 129:176-183.
- Williams, H.L. 1974. The reproductive performance of two British breeds of sheep in constrasting photoperiodic environments. *J. Agric. Camb.* 82: 377-381.
- Wishnant, C.S., Goodman, R.L., 1990. Further evidence that serotonin mediates the steroid-independent inhibition of luteinzing hormone secretion in anoestrus ewes. *Biol. Reprod.* 42:656-661.
- Woodfil, C.J.I. Robinson, J.E., Malpaux, B., Karsch, F.J. 1991. Synchronization of the circannual reproductive rhythm of the ewe by discrete photoperiodic signals. *Biol. Reprod.* 45:110-121.
- Worthy, K., Haresign, W. 1983. Evidence that the onset of seasonal anoestrus in the ewe may be independent of increasing prolactin concentrations and daylength. *J. Reprod. Fertil.* 69:41-48.

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

Yeates, N.T.M. 1949. The breeding season of the sheep with particular reference to its modification by artificial light. *J. Agric. Sci. Camb.* 39:1-43.

Yellon, S.M., Foster, D.L. 1986. Melatonin rhythms time photoperiod-induced puberty in the females lamb. *Endocrinology.* 119:44-49.

Yu, H.S., Tsin, A.T.C., Reiter, R.J. 1993. Melatonin: history, biosynthesis and assay methodology. In: *Melatonin: Biosynthesis, Physiological effects and Clinical Applications.* Yu, H.S., Reiter, R.J. (Eds), CRC Press, Boca Raton, Florida. 21:226-252.

Zarco, Q.L., Rodriguez, E.F., Angulo, M.R.B., Valencia, M.J. 1995. Female to female stimulation of ovarian activity in the ewe. *Anim. Reprod. Sci.* 39:251-258.

# ANEXO

## Male Reproductive Condition Is the Limiting Factor of Efficiency in the Male Effect During Seasonal Anestrus in Female Goats<sup>1</sup>

J.A. Flores,<sup>3</sup> F.G. Véliz,<sup>4</sup> J.A. Pérez-Villanueva,<sup>4</sup> G. Martínez de la Escalera,<sup>3</sup> P. Chemineau,<sup>5</sup> P. Poindron,<sup>3</sup> B. Malpoux,<sup>5</sup> and J.A. Delgadillo<sup>2,4</sup>

*Centro de Neurobiología,<sup>3</sup> Universidad Nacional Autónoma de México, AP 1-1141, Juriquilla, Querétaro, México*  
*Departamento de Ciencias Médico Veterinarias,<sup>4</sup> Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Carretera a Santa Fe y Periférico, Torreón, Coahuila, México*  
*INRA,<sup>5</sup> Neuroendocrinologie Sexuelle, PRMD, 37380 Nouzilly, France*

### ABSTRACT

Two experiments were conducted to determine whether the failure of males to induce sexual activity in goats during seasonal anestrus is due to unresponsiveness of females to male stimulus or insufficient stimulation from males. In the first study, one group of males (sexually inactive, SI;  $n = 4$ ) was kept under natural photoperiod while the other (sexually active, SA;  $n = 4$ ) was subjected to 2.5 mo of long days (16L:8D) and received 2 s.c. implants of melatonin. Two mo later, 2 different flocks of anovulatory goats previously separated from bucks were exposed to either SI ( $n = 34$ ) or SA ( $n = 40$ ) bucks. Progesterone assays and estrous behavior were used to determine ovarian and behavioral responses of the females to teasing. Of the goats exposed to SI males, only 2 ovulated, and none showed estrous behavior during the 35 days of the study. In contrast, all females (40 of 40) in contact with SA males ovulated and showed at least one estrous behavior during the first 11 days following male introduction ( $P < 0.001$ ). Overall, 38 of 40 females stimulated with SA bucks were diagnosed pregnant at Day 35, according to progesterone assay (versus 0 in SI-treated group;  $P < 0.001$ ). To control for a possible difference of responsiveness between flocks, the experiment was repeated 1 yr later using a single flock of goats divided into 2 groups. Again, over the first 14 days, 1 of 33 goats showed estrous behavior in the SI-treated group versus 27 of 33 in the SA-treated group ( $P < 0.001$ ). Therefore, treating bucks with long days and melatonin increased their teasing capacity to induce sexual activity in females during anestrus. These results indicate that the absence of response to teasing at this time of the year is not due to female unresponsiveness, but to insufficient stimulation from the male.

### INTRODUCTION

In seasonal ruminants, such as sheep and goats, the introduction of a male to anovulatory females previously separated from any males may induce sexual activity within a few days. This phenomenon, known as the male effect or

teasing, has been extensively studied in ewes [1–4] and goats [5–8]. Male contact with females induces a rapid increase in the frequency of plasma LH pulses, culminating in a preovulatory LH surge and ovulation [4, 9, 10]. In goats, this induced ovulation is associated with estrus in about 60% of does, and is followed in 75% of cases by a short ovarian cycle of 5–7 days of duration on average. This short cycle is always followed by a second ovulation, which is associated with estrus and a normal luteal phase in 90% of females [10].

A major limitation of the male effect to induce reproductive activity in the female is that this effect is weak when teasing is performed during seasonal anestrus, especially in breeds of sheep or goats that are strongly seasonal. Thus, in breeds exhibiting only a moderate seasonality such as the Merino sheep or Creole goats of Guadeloupe Island, male introduction induces an ovulatory response throughout the year [7, 11]. However, in more seasonal breeds, the male effect is limited to the onset of the normal breeding season [10, 12]. The failure of teasing outside this limited period may be due to the inability of the female to respond during anestrus, resulting from refractoriness of the female to the male stimulus. Alternatively, it may be due to inadequate stimulation from the male. Indeed, male behavioral and physiological activity tends to decrease during the period of female anestrus in both sheep [13, 14] and goats [15–17]. It is well established in these species that physical contact and/or high sexual activity in males enhances the female response to teasing [8, 18–22]. Also, the emission of olfactory cues from the male may be reduced during sexual rest. The present study was performed to test the hypothesis that the inefficiency of the male effect during seasonal anestrus in goats is due to poor stimulating ability of the male. We studied whether sexual activity can be induced in seasonally breeding Mexican Creole goats [23] during seasonal anestrus by exposing them to bucks previously brought into reproductive activity by a treatment with long days and melatonin implants.

### MATERIALS AND METHODS

#### *Animals and Treatments*

Two experiments were carried out in 2 consecutive years. In the first year, the experiment was on two farms 4 km apart to avoid any risk of interaction between the experimental and control groups. In the second year, the experiment was repeated using a single flock divided into two groups to verify that the difference of response between the control and the experimental group observed during the first year was not due to some unknown difference in the responsiveness of the two flocks. The males used in this

<sup>1</sup>This work was supported by CONACyT-SIREYES (Grant 970401020) and the International Foundation of Science (Grant B/2071-3F). J.A.F. was supported by a CONACyT scholarship for doctoral studies. Collaboration between French and Mexican scientists was made possible by the French-Mexican exchange program SEP-CONACyT-ANUIES-ECOS (Grant M95-B05).

<sup>2</sup>Correspondence: J.A. Delgadillo, Departamento de Ciencias Médico Veterinarias, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Carretera a Santa Fe y Periférico, Apartado Postal 940, Torreón, Coahuila, México. FAX: 52 17 33 12 10; e-mail: delgadil@ul.uaaan.mx

Received: 17 September 1999.

First decision: 21 October 1999.

Accepted: 31 December 1999.

© 2000 by the Society for the Study of Reproduction, Inc.  
ISSN: 0006-3363. <http://www.biolreprod.org>

study were part of a homogeneous group of Creole adult males of the Laguna region in the State of Coahuila, Mexico (26°N) [17]. They were kept outdoors, and fed alfalfa ad libitum and 300 g of commercial concentrate food with 14% protein (Generaleche; Ralston-Purina, St. Louis, MO), with free access to mineral blocks and water. The females were maintained under an extensive management system before the beginning of the study. All females had given birth in December 1997 and December 1998, and were milked manually once daily during the study. One month before the introduction of males, the females were kept in 7 × 10-m shaded pens with 8–10 females in each, and fed alfalfa ad libitum and 200 g of concentrate food with 14% protein (Generaleche, Purina). They had free access to mineral blocks and water.

### Experiment 1

**Males.** Four males (sexually inactive-SI;  $n = 4$ ) were exposed to natural photoperiodic variations (13 h 41 min of light at the summer solstice and 10 h 19 min of light at the winter solstice) throughout the study. The other group of males (sexually active-SA;  $n = 4$ ) was subjected to a treatment of long days (16L:8D) from 1 November 1997 to 15 January 1998. On 16 January 1998, each male received 2 s.c. implants containing 18 mg of melatonin each (Regulin-Mélovine, Sanofi SNA, Libourne, France). At this time, the light treatment was stopped, and the males were exposed to the natural day length until the end of the study. This treatment has been shown previously to induce sexual activity in males during the period of sexual rest [24].

**Females.** Multiparous Mexican Creole goats ( $n = 88$ ) belonging to 2 different flocks (flock 1 and 2) located 4 km apart and with similar characteristics of husbandry were involved in the experiment. On 25 February 1998 and 5 March 1998, plasma progesterone concentrations in blood samples were measured by RIA, a procedure that allows cyclic females to be distinguished from anovulatory ones [25]. Eleven does in flock 1 and 3 does in flock 2 showed ovarian activity, and therefore were removed from the experiment. As a consequence, 34 and 40 females were exposed to males in flocks 1 and 2, respectively. On the day of teasing (Day 1), another blood sample was collected from each doe to check that no other females had initiated ovarian activity.

**Male effect.** Before teasing, females were not allowed contact with males for 45 days, and bucks were kept on another experimental farm 15 km from both flocks. Males were exposed to females on 15 March 1998 at 0800 h. In flock 1, females were allocated to 1 of 4 pens (8 or 9/pen), and 4 SI males were introduced (1 in each pen); this constituted the SI-treated group. In flock 2, females were allocated to 1 of 4 pens (10/pen), and 4 SA males were introduced; this constituted the SA-treated group. In both groups, the males remained with the females until the end of the study (20 April 1998). The SA males were introduced into flock 2, which had shown the lower spontaneous ovulatory activity (percentage of cyclic females on 25 February 1998 and 5 March 1998), i.e., where the response potential of the females was lower.

### Experiment 2

The difference between groups observed in the first experiment could have been caused by a difference of responsiveness between flocks. Therefore, the following year, the study was performed at the same time of year with only

the females of flock 1. As in experiment 1, cyclic females ( $n = 12$ ), as determined by plasma progesterone concentrations, were eliminated before the introduction of males. For this study, 66 anovular multiparous Creole goats were divided in 2 groups of 33 females each. The animals of both groups were penned in small yards with 1 male per 11 does in each yard (in total, 3 males for 33 females in each group). In this second experiment, only estrous behavior was recorded during 35 days to assess the response to teasing. Otherwise, photoperiodic and melatonin treatment of the males, recording of behavior, and other procedures were identical to those of experiment 1.

### Measurements

**Males.** In both experiments, during the first 5 days following the introduction of the males, sexual behavior of the bucks was observed for 2 h, from 0800 to 1000 h. The same person observed each buck and recorded the following characteristics; ano-genital sniffing, nudging, mount intention movements, and mounts (with and without ejaculation).

**Females.** Blood samples were obtained daily from Day 2 to Day 10 and every 2 days from Day 11 to Day 35 after introduction of the males to assess ovarian activity by measuring the plasma concentrations of progesterone. Concentrations of progesterone were measured by a quantitative assay slightly modified from that described by Saumande et al. [26]. Sensitivity of the assay was 0.1 ng/ml of plasma, and intra- and interassay coefficients of variation were 9.5% and 14.8%, respectively. This assay allowed the assessment of the quality of luteal phases induced by the male introduction (i.e., short cycles). All blood samples were collected by jugular venipuncture in tubes containing EDTA, and centrifuged immediately at 2500 ×  $g$  for 20 min; plasma was stored at -15°C. Females with progesterone levels above 0.5 ng/ml were considered to have ovulated [27]. Goats were considered pregnant when they displayed a continuous elevation of progesterone levels in blood samples obtained between Days 11 and 35. Fertility was measured as the percentage of pregnant females.

In both experiments, estrous behavior was monitored using bucks painted on the chest with colored grease that was replaced twice daily (0800 and 1800 h) from 15 March to 20 April of 1998 and 1999.

### Statistical Analyses

Between-group differences in male sexual behavior were analyzed by comparing the frequencies of the behaviors observed in each group with a random repartition, using Fisher's exact probability tests. In the females, the proportions showing estrous and ovarian activity were compared by Fisher's exact probability test.

## RESULTS

### Experiment 1

**Sexual behavior of bucks.** The sexual behavior observed during the first 5 days after the males were introduced differed significantly between the 2 groups of 4 males joined with females (Fig. 1). The males treated with long days and melatonin were more active. Of 272 instances of ano-genital sniffing observed in the males of both groups, 215 were performed by SA males (versus 136, in the case of a random repartition;  $P < 0.001$ ). Of 492 instances of nudging observed, 485 were observed in the SA group ( $P < 0.001$ ).



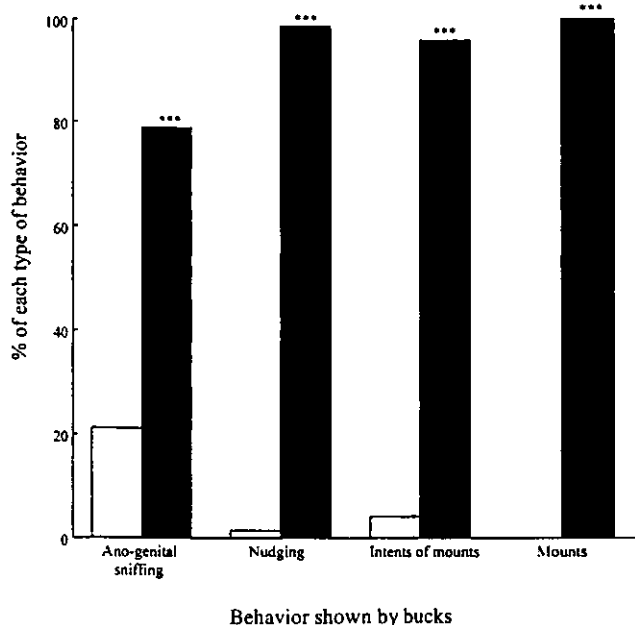


FIG. 1. Distribution of each observed type of behavior between the 2 groups of males, expressed as a percentage of the total number of observed behavior characteristics. Sexual behavior was observed for 2 h daily for the first 5 days of teasing in SI males exposed to the natural variations of photoperiod (open bars;  $n = 4$ ) and in SA males treated with 2.5 mo of long days and 2 implants of melatonin (solid bars;  $n = 4$ ). \*\*\*Differences between 2 groups ( $P < 0.001$ ).

Of 27 mount intention movements, 26 were performed by SA bucks ( $P < 0.001$ ). Finally, all observed mounts (26) were performed by SA males ( $P < 0.001$ ).

**Response of females to male effect: ovarian and estrous activity.** During the study, only 2 does in contact with SI males showed an ovulation, without associated estrous behavior, between Days 5 and 7 after male introduction, as detected by progesterone assay. No further ovarian or behavioral activity was observed during the remainder of the study. In contrast, all females (40 of 40) exposed to SA males ovulated and showed at least one estrous behavior during the first 11 days following male introduction ( $P < 0.001$  versus SI-treated). Between Days 1 and 6, 26 SA-exposed goats ovulated and displayed estrus, and 6 other goats ovulated without estrus. Among these 32 females, 4 did not show any other ovulation or estrus and became pregnant; the first cycle of the 28 others was of short duration, and therefore they showed another ovulation accompanied with estrus between Days 7 and 11. The 8 goats that had not ovulated between Days 1 and 6 did so between Days 7 and 11, and these ovulations were associated with estrous behavior. After Day 12, no ovulation or estrous behavior was recorded (Fig. 2). In does that showed an early response (Days 1–6), the interval between introduction of the males and onset of estrous behavior was  $3.5 \pm 0.2$  days. In does that responded later (Days 7–11), this interval was  $9.1 \pm 0.4$  days. Overall, 38 of 40 females stimulated with treated bucks were diagnosed as pregnant at 35 days, according to progesterone assay (versus 0 in the SI-treated group;  $P < 0.001$ ).

#### Experiment 2

**Sexual behavior of bucks.** When the study was performed with females of a single flock, the sexual behavior

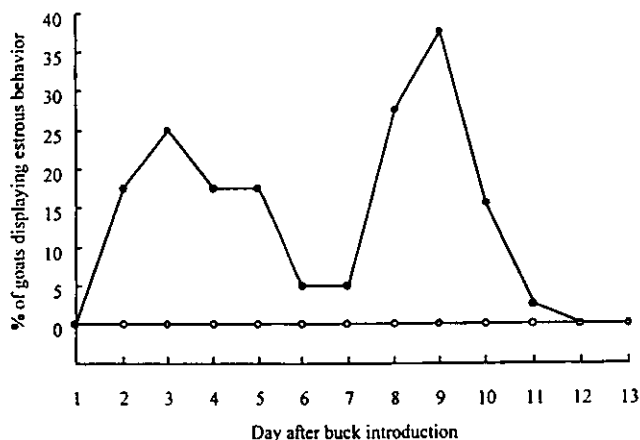


FIG. 2. Proportion of females in a group of seasonally anovular females displaying estrous activity after introduction of SA bucks treated with 2.5 mo of long days followed by melatonin implants (solid circles;  $n = 40$ ). Overall, no estrus was observed in a group of females teased with SI bucks during the same period (open circles;  $n = 34$ ;  $P < 0.0001$ ). Day 1 is day of teasing.

displayed by the males was similar to that observed in experiment 1. The sexual behavior of SA males was higher than that of SI males (Fig. 3). Of 489 instances of ano-genital sniffing observed, 404 were performed by SA bucks ( $P < 0.001$ ). Of 993 cases of nudging recorded for males of both groups, 970 were observed in the SA group ( $P < 0.0001$ ). All mount intention movements and mounts were performed by SA males (65 and 58, respectively;  $P < 0.001$ ).

**Response of females to male effect.** One doe in contact with SI males showed estrous behavior on Day 10 after the

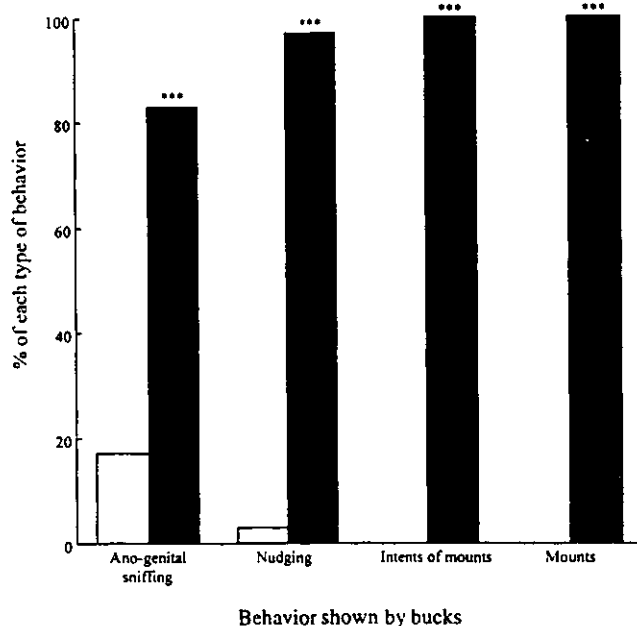


FIG. 3. Distribution of each observed type of behavior between the 2 groups of males, expressed as a percentage of the total number of observed behavior characteristics. Sexual behavior was observed for 2 h daily for the first 5 days of teasing with does of experiment 2. The SI bucks were exposed to the natural variation of photoperiod (open bars;  $n = 4$ ), while SA bucks had been treated previously with 2.5 mo of long days and implants of melatonin (solid bars;  $n = 4$ ). \*\*\*Differences between SI and SA groups ( $P < 0.001$ ).

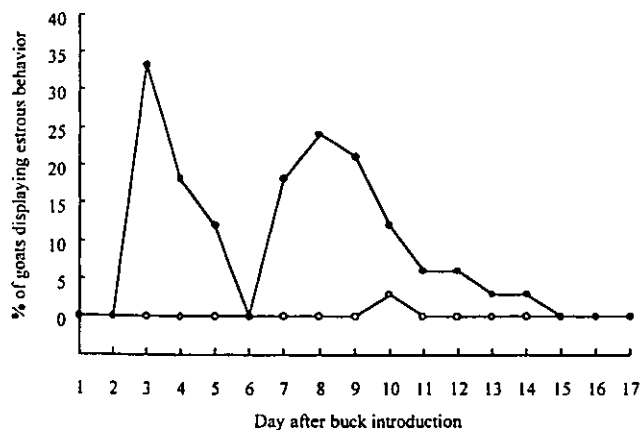


FIG. 4. Proportion of females in a group of seasonally anovular females displaying estrous activity after introduction of SA bucks treated with 2.5 mo of long days followed by melatonin implants (solid circles;  $n = 40$ ). Estrus was observed in only 1 goat from a group of females from the same flock teased with SA bucks during the same period (open circles;  $n = 34$ ;  $P < 0.0001$ ). Day 1 is day of teasing.

males were introduced. In contrast, 81.8% (27 of 33) of the does in contact with SA males showed estrous behavior between Day 3 and Day 14 after the beginning of teasing (Fig. 4). Twenty-one of 33 females (63.6%) showed estrous behavior between Days 2 and 6. Nineteen of these 21 does showed a short estrous cycle and displayed estrus a second time between Day 7 and Day 14. The other 2 does showed a normal cycle. Twenty-six of 33 females showed estrous behavior between Days 7 and 14. After Day 14, no estrous behavior was recorded. The interval between the introduction of the males and the onset of estrus was  $3.7 \pm 0.2$  days for the does that showed an early response ( $< 6$  days) and  $8.7 \pm 0.3$  days for the others.

## DISCUSSION

This is the first study to show that the absence of induction of reproductive activity by the male effect in goats is not caused by an inability of the female to respond to the stimulus. Indeed, induction of sexual activity was inefficient when SI males kept under natural photoperiod were used. In contrast, sexual activity was induced in all females when they were exposed to males presenting sexual behavior characteristic of the breeding season induced by treatment with long days and melatonin. These data, therefore, suggest strongly that the failure of the male effect during the anestrus season is the consequence of a reduced male stimulus, rather than unresponsiveness of the females.

Of the females in contact with SI males, only 2 does ovulated, and none showed estrous behavior during the whole study in experiment 1; only one doe displayed estrous behavior in experiment 2. This absence of response of the females to teasing could appear different from results previously reported in ewes [4] and goats [10]. According to these reports, the introduction of males without previous treatment into a group of anovulatory females after at least 3 wk of complete separation induced sexual activity in anovulatory females. However, these results were obtained just before the spontaneous onset of the sexual season, when the females are about to initiate breeding activity. In our case, the study was performed during the period of seasonal anestrus, which could explain why teasing with control males was not effective. Indeed, previous reports

indicate that the response of does to male introduction depends on the depth of anestrus, as assessed by the number of females that ovulate spontaneously before male introduction [10]. In experiment 1, 14 of the 88 does sampled showed ovarian activity and were eliminated from the study before male introduction. In experiment 2, 15 of 78 were cyclic, which indicates that in both experiments, the majority of the females were anovulatory.

One could speculate that the ability to respond to males in experiment 1 may have been lower in the SI-treated group because of some uncontrolled variation in that flock, such as health condition, or differences in genetic background between flocks. However, this seems unlikely for at least three reasons. First, animals were on the same feeding plan for 1 mo before teasing, and there was no apparent difference between these groups. Second, the SI males were introduced to the flock with the larger proportion of cycling goats before male introduction, suggesting that, if anything, the response potential of this flock may have been higher than in the goats exposed to SA males. Third, and most importantly, the results obtained in two different flocks in the first study were confirmed in the second study, in which both SI-treated and SA-treated groups came from the same flock and were maintained under the same conditions. In this latter case, females of the same flock that had not responded the previous year showed a full response with SA bucks, and again no response with control bucks.

Our results are consistent with other reports of studies conducted at the same latitude as northern Mexico, that the introduction of males, either intact or castrated and treated with testosterone during anestrus, was not effective in inducing sexual activity in anovulatory goats [28]. In our study, in experiment 1, the females in contact with SA males showed sexual activity within 11 days after teasing. After a few days in contact with males, all does showed ovarian activity and estrous behavior. The ovarian and estrous activities were divided in two periods, with a high percentage of does showing two ovulatory and estrous cycles. In the second study, in which only estrous behavior was recorded, 81.8% (27 of 33) of does showed such behavior between Day 2 and Day 14. The physiological response of the females teased with SA males was similar to that reported in anovulatory females goats after male introduction without previous treatment, but at times when the maximum response to teasing can be expected [8, 10, 29].

The ineffectiveness of SI males in inducing sexual activity during anestrus suggests that females respond to teasing during anestrus only when sexually active males are introduced. In the two experiments, the males treated with 2.5 mo of long days and melatonin showed an intense behavioral activity. Moreover, when put in contact with females, these males showed a dramatically greater number of instances of ano-genital sniffing and nudging, mount intention movements, and mounting than the control bucks, at least during the first 5 days of teasing. The presence of estrous females may then have elicited some self-reinforcing of stimulation between males and does [30] and/or female-to-female stimulation [31]. On the other hand, it must be noted that in the SI-treated group of experiment 2, no significant response to teasing was observed, despite the fact that 1 goat displayed estrous behavior. This suggests that the social reinforcement of the response due to the presence of 1 estrous female or to a female effect can hardly account for the major effects observed in the SA-treated group. Therefore, the high level of sexual behavior of SA males was probably at least partly responsible in itself for

the high response of the females to teasing, whereas the low level of sexual behavior of the SI bucks was not sufficient to induce a response in the females. This is consistent with the various studies in goats and in sheep indicating that behavioral activity can be sufficient to elicit some response to teasing [21–32]. On the other hand, it is clear that cues not assessed in our study, such as the emission of pheromones or vocalizations of the bucks, were also likely to be stronger in the SA males than in the controls. It is well established that olfactory cues also stimulate ovulation in anovular goats [18, 20, 33], and it cannot be ruled out at this stage that a more intense production of pheromones in response to the photoperiodic and melatonin treatment was partly responsible for the good response to teasing in the SA group. Further studies, for instance with anosmic females, will be necessary to determine the relative importance of sexual activity, emission of pheromones, and vocalizations in causing the different responses to SA and SI males.

In the first experiment, 65% of the females in contact with SA males showed a short ovarian cycle after the first induced ovulation. This is similar to the case in previous studies [7, 8], in which a high incidence of short luteal phases due to low and transient progesterone plasma secretion by the corpus luteum was reported [10]. The presence of short ovulatory cycles in goats at the beginning of the breeding season [34, 35], or after the introduction of a buck into a group of anestrus does is well known [7, 20]. In females that responded to the presence of males, more does exhibited estrus at the second ovulation. This is consistent with a previous report showing that a large number of females show estrous behavior at the second ovulation [10]. In our study, the conception rate at the first buck-induced estrus was lower than at the second induced estrus (10% versus 95%, respectively). This very low conception rate is similar to that reported by Thimonier et al. [36], and probably was due to the altered hormonal balance that usually follows the first buck-induced ovulation. The luteal failure probably did not allow the establishment of pregnancy, whereas the establishment of normal ovarian function at the second ovulation supported a conception rate equivalent to that obtained during the natural breeding season.

Our study provides unequivocal evidence that the male effect is an effective method for inducing synchronous cyclic reproductive activity during seasonal anestrus, but only if fully sexually active bucks are used. The failure of the male effect during anestrus in goats, at least under subtropical latitudes, is not due to the existence of some total physiological or sensory refractoriness by the female to the stimulation of the male. Rather, it appears that the stimulus provided by the male at this time of year is insufficient. Whether this is also true under higher latitudes with more seasonal breeds of sheep and goats remains to be investigated. Taken together with the fact that in other situations the response also depends on the depth of anestrus in the female, our results indicate that the efficiency of teasing depends on an interaction between the response threshold of the female at a given time and the stimulating capacity of the male. While our results point to a likely role of male sexual behavior as the triggering cue of female response, more studies are needed to investigate the possible role of other sensory cues, especially pheromone synthesis and emission, given the multisensory nature of the male effect.

#### ACKNOWLEDGMENTS

We thank Mr. A. Sandoval and D. Merlin for providing the female goats for this study; Ms. S. Rojas, G. Perera, G. Duarte, C. Faya, and P.

Vanbecelaene for their technical assistance during the study; Ms. D. López for secretarial assistance; and Dr. D.C. Skinner for comments on the manuscript.

#### REFERENCES

- Underwood EJ, Shier FL, Davenport N. Studies in sheep husbandry in Western Australia. V. The breeding season of Merino crossbred and British breed ewes in the agricultural districts. *J Dep Agric West Aust* 1944; 11:135–143.
- Signoret JP. Effet de la présence du mâle sur les mécanismes de reproduction de la femelle des mammifères. *Reprod Nutr Dev* 1980; 20:1457–1468.
- Folch J, Cognié Y, Signoret JP. Use of the male effect for manipulation of the timing of onset and establishment of regular cycles and pregnancy in the ewe. In: Program of the 36th annual meeting of the European Association for Animal Production; 1985; Kallithea-Kassandria-Halkidiki-Greece. Summaries. Giahoudi Bros-Giapouli Bros. Vol 2:122–123.
- Martin GB, Oldham CM, Cognié Y, Pearce DT. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams. A review. *Livest Prod Sci* 1986; 15:219–247.
- Shelton M. The influence of the presence of the male goat on the initiation of oestrous and ovulation in Angora does. *J Anim Sci* 1960; 19:368–375.
- Ott RS, Nelson DR, Hixon JE. Effect of presence of the male on initiation of oestrous cycle activity of goats. *Theriogenology* 1980; 13:183–190.
- Chemineau P. Effect on oestrus and ovulation of exposing Creole goats to the male at three times of the year. *J Reprod Fertil* 1983; 67:65–72.
- Walkden-Brown SW, Restall BJ, Henniawati. The male effect in Australian cashmere goats 1. Ovarian and behavioural response of seasonally anovulatory does following the introduction of bucks. *Anim Reprod Sci* 1993; 32:41–53.
- Poindrion P, Cognié Y, Gayerie F, Orgeur P, Oldham CM, Ravault JP. Changes in gonadotrophins and prolactin levels in isolated (seasonally or lactationally) anovular ewes associated with ovulation caused by the introduction of rams. *Physiol Behav* 1980; 25:227–237.
- Chemineau P. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats. A review. *Livest Prod Sci* 1987; 17:135–147.
- Lindsay DR, Signoret JP. Influence of behaviour on reproduction. Proceedings of the 9th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination; 1980; Madrid 1:83–92.
- Martin GB, Scaramuzzi R. The induction of oestrous and ovulation in seasonally anovular ewes by exposure to rams. *J Steroid Biochem* 1983; 19:869–875.
- Lincoln GA, Short RV. Seasonal breeding: nature's contraceptive. *Recent Prog Horm Res* 1980; 36:1–52.
- Pelletier J, Garnier DH, de Reviers MM, Terqui M, Ortavant R. Seasonal variation in LH and testosterone release in rams of two breeds. *J Reprod Fertil* 1982; 64:341–346.
- Delgadillo JA, Leboeuf B, Chemineau P. Decrease in the seasonality of sexual behavior and sperm production in bucks by exposure to short photoperiodic cycles. *Theriogenology* 1991; 36:755–770.
- Delgadillo JA, Hochereau-de Reviers MT, Daveau A, Chemineau P. Effect of short photoperiodic cycles on male genital tract and testicular parameters in male goats (*Capra hircus*). *Reprod Nutr Dev* 1995; 35:549–558.
- Delgadillo JA, Canedo GA, Chemineau P, Guillaume D, Malpoux B. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male goats in subtropical Northern Mexico. *Theriogenology* 1999; 52:727–737.
- Shelton M. Goats: influence of various exteroceptive factors on initiation of oestrus and ovulation. *Int Goat Sheep Res* 1980; 1:156–162.
- Pearce G P, Oldham DM. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *J Reprod Fertil* 1988; 84:333–339.
- Claus R, Over R, Dehnhard M. Effect of male odour on LH secretion and the induction of ovulation in seasonally anoestrous goats. *Anim Reprod Sci* 1990; 22:27–38.
- Perkins A, Fitzgerald JA. The behavioural component of the ram effect: the influence of ram sexual behavior on the induction of estrus in anovulatory ewes. *J Anim Sci* 1994; 72:51–55.
- Cohen-Tannoudji J, Locatelli A, Signoret JP. Non pheromonal stim-

- ulation by the male on LH release in the anoestrous ewe. *Physiol Behav* 1986; 36:921-924.
23. Duarte G, Flores JA, Nava MP, Delgadillo JA. Is photoperiod involved in timing seasonal reproduction on goats adapted to a subtropical environment? In: *Proc 8th Meeting of the European Pineal Society*; 1999; Tours Fr. 31 Abs.
  24. Delgadillo JA, Carillo E, Chemineau P, Malpoux B. Estimulación de la LH y la testosterona de los machos cabríos Criollos utilizando luz artificial y melatonina. In: *XLII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas*; 1999; Zacatacas Zac, México, 92 Abs.
  25. Terqui M, Thimonier J. Nouvelle méthode radioimmunologique rapide pour l'estimation du niveau de progestérone plasmatique. Application pour le diagnostique précoce de la gestation chez la brebis et chez la chèvre. *C R Hebd Seances Acad Sci Paris* 1974; D279:1109-1112.
  26. Saumade J, Tamboura D, Chupin D. Changes in milk and plasma concentrations of progesterone in cows after treatment to induce superovulation and their relationships with number of ovulations and embryos collected. *Theriogenology* 1985; 23:719-731.
  27. Gómez-Brunet A, López-Sebastián A, Picazo RA, Cabellos B, Godard S. Reproductive response and LH secretion in ewes treated with melatonin implants and induced to ovulate with the ram effect. *Anim Reprod Sci* 1995; 39:23-34.
  28. Mellado M, Hernandez JR. Ability of androgenised goat wethers and does to induce estrus in goats under extensive conditions during anoestrus and breeding seasons. *Small Ruminant Res* 1996; 23:34-42.
  29. Restall BJ. Artificial insemination of Australian goats stimulated by the buck effect. *Proc Austr Soc Anim Prod* 1988; 17:302-305.
  30. Walkden-Brown SW, Restall BJ, Henniawati. The male effect in Australian cashmere goats 3. Enhancement whit buck nutrition and use of oestrous females. *Anim Reprod Sci* 1993; 32:69-84.
  31. Restall BJ, Restall H, Walkden-Brown SW. The induction of ovulation in anovulatory goats by oestrous females. *Anim Reprod Sci* 1995; 40:299-303.
  32. Chemineau P, Levy F, Thimonier J. Effects of anosmia on LH secretion, ovulation and oestrous behaviour induced by males in the anovular Creole goat. *Anim Reprod Sci* 1986; 10:125-132.
  33. Walkden-Brown SW, Restall BJ, Henniawati. The male effect in Australian Cashmere goats 2. Role of olfactory cues from the male. *Anim Reprod Sci* 1993; 32:55-67.
  34. Camp JC, Wildt DE, Howard PK, Stuart LD, Chakraborty PK. Ovarian activity during normal and abnormal length estrous cycles in the goat. *Biol Reprod* 1983; 28:673-681.
  35. Claus R, Schopper D, Thume. Evidence for different types of seasonal anoestrus in the dairy goat as revealed by progesterone determination in milk fat. *Livest Prod Sci* 1985; 13:71-77.
  36. Thimonier J, Chemineau P, Gauthier D. Augmenter la fertilité des ruminants en Zone Tropicale: une réalité. Réunion Intern Reproduction des Ruminants en Zone Tropicale (10-12 juin). Pointe-à-Pitre (Guadeloupe, FWI). *Colloq INRA* 1983; 20:399-418.